

P. 99

N° 3—4 B II

MARS—AVRIL

1930

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE POLONAISE
DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (II)

CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1930



rcin.org.pl

Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction de
M. S. Maziarski. (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

Kiszki slepe dropia. — Le trajet des caecums de la grande Outarde (Otis tarda).

Mémoire

de M. K. KOSTANECKI, m. t.,

présenté dans la séance du 3 Mars 1930.

(Planche 6).

Dans mon travail sur le caecum des Vertébrés ¹⁾, nous avons vu que les caecums doubles des Oiseaux sont fixés à la paroi de l'intestin grêle par des membranes séreuses que j'ai appelées replis iléo-caeaux ou *vincula ileocaecalia*.

Lorsqu'on examine l'issue des deux caecums et la ligne d'attache des replis iléo-caeaux sur la paroi de l'iléon, on observe une asymétrie manifeste. L'embouchure du caecum droit est située à la paroi dorso-latérale du gros intestin, à proximité immédiate du mésentère dorsal, tandis que celle du caecum gauche est placée à la paroi ventrale, antimésentérique. Le repli iléo-caecal droit adhère à la paroi droite de l'intestin, parfois il est appliqué directement au feuillet droit du mésentère, chez quelques Oiseaux il peut même disparaître comme pli indépendant et le caecum droit est alors situé tout entier entre les deux feuillets du mésentère dorsal et ne fait que pousser devant lui le feuillet droit du mésentère (*caecum dorso-laterale intramesenteriale*). Le repli iléo-caecal gauche est cependant toujours fixé à la face ventrale de l'iléon et dépasse même souvent la ligne médiane à droite. Nous pouvons constater par conséquent que le caecum droit des Oiseaux présente le type d'un *caecum dorso-laterale*, tandis que celui de

¹⁾ Bulletin International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres. Classe des sciences mathém. et naturelles. N° Supplémentaire 1926.

gauche correspond à celui d'un *caecum latero-ventrale*. Tenant compte de la position des issues des deux caecums et surtout du trajet de leurs replis iléo-caecaux, je suis arrivé à la conclusion que ces organes doubles chez les Oiseaux se sont développés de la bifurcation du caecum dorso-latéral droit des Reptiles.

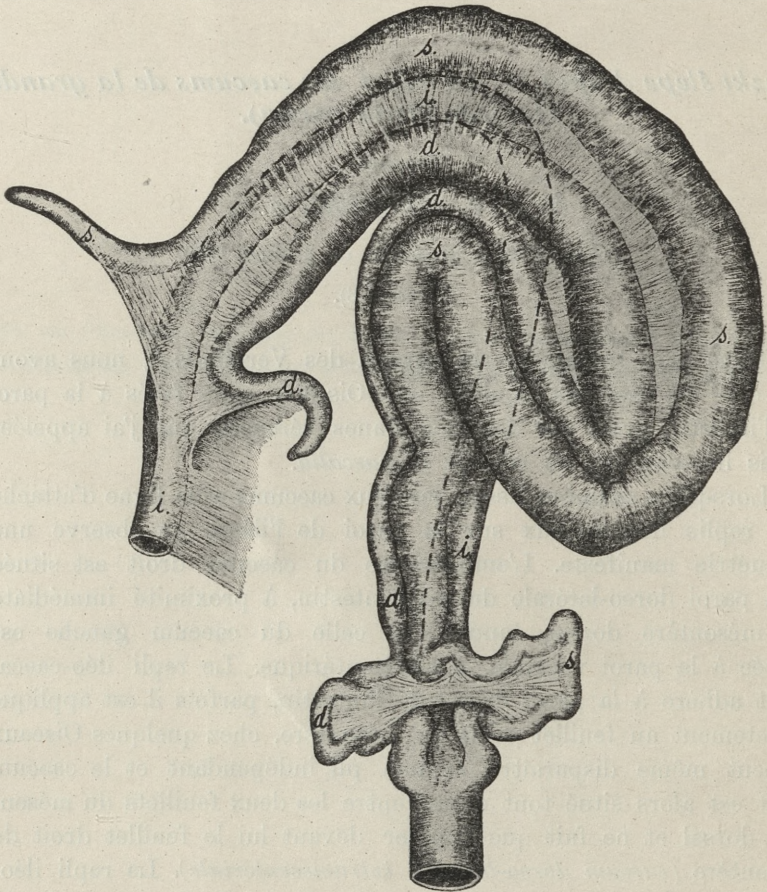


Fig. 1. Les caecums du Coq de bruyère. i = ileum, s = caecum sinistrum, d = caecum dextrum.

En étudiant les caecums des différents Oiseaux, nous pouvions constater, qu'en ce qui concerne leur trajet, les caecums, respectivement leurs replis iléo-caecaux, correspondaient chez la plupart

soit entièrement, soit à peu près, à la partie de l'iléon à laquelle ils étaient fixés (*ansa intercaecalis*). Lorsque, comme c'est le cas chez certains Oiseaux, la longueur des caecums dépasse la partie correspondante de l'iléon qu'ils accompagnent, ils suivent alors une ligne légèrement ondulée, en esquissant même de petites sinuosités (p. ex. chez la Chouette, chez le Canard, chez la Poule e. a.).

Chez certains Oiseaux cependant, j'ai signalé une disproportion éclatante entre la longueur des caecums et les dimensions du secteur de l'iléon auquel ils sont rattachés. J'ai décrit deux exemples très frappants où cette disproportion se manifeste d'une manière opposée. Notamment chez le Coq de bruyère de même que chez le Coq des bois qui possèdent les caecums les plus fortement développés de tous les oiseaux, ces organes sont soudés à l'anse intercaecale de l'iléon par leurs replis iléo-caecaux, mais comme ils sont plusieurs fois plus longs que celle-ci, ils forment eux-mêmes plusieurs anses très caractéristiques autour de l'iléon. En s'éloignant de la paroi de l'iléon ils entraînent avec eux leurs replis iléo-caecaux en forme de larges membranes et ce n'est qu'à la partie terminale que les caecums et leurs replis iléo-caecaux reprennent leur trajet ordinaire en accompagnant immédiatement l'iléon; le repli iléo-caecal gauche et son prolongement que j'ai appelé bandelette iléale (*stria iliaca*) cheminent sur la face ventrale de l'iléon, pour dépasser ensuite la ligne médiane vers la droite, tandis que le repli iléo-caecal droit se perd dans le feuillet droit du mésentère.

Nous nous trouvons en présence de conditions diamétralement opposées chez la Grue. Les caecums, dont celui de droite prend naissance plus vers l'arrière, tout près du mésentère, tandis que l'issue de celui de gauche se trouve vers l'avant sur la face ventrale de l'intestin, suivent un trajet presque rectiligne. Cependant la partie de l'intestin grêle située entre les deux caecums (*ansa intercaecalis*) se développe infiniment plus en longueur, aussi doit-elle décrire des sinuosités en entraînant les replis iléo-caecaux, tantôt le gauche, tantôt le droit; il en résulte la formation de fossettes entre le caecum et l'iléon, recouvertes par les replis iléo-caecaux étendus en largeur. Les bandelettes iléales dans lesquelles se prolongent les replis iléo-caecaux, rétablissent le tableau typique chez les Oiseaux, celle de gauche en aboutissant à la paroi ventrale de

l'intestin, celle de droite en se perdant dans le feuillet droit du mésentère.

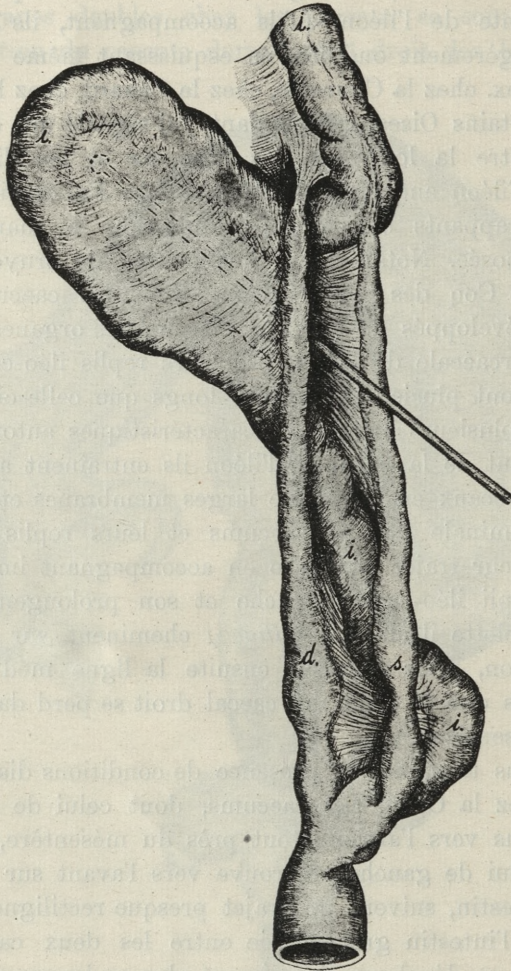


Fig. 2. Les caecums de la Grue. i = ileum, s = caecum sinistrum, d = caecum dextrum.

J'ai eu l'occasion d'examiner ces temps derniers deux échantillons de Grande Outarde (*Otis tarda*) et j'ai trouvé chez cet oiseau des caecums dont le parcours présentait un tableau insolite.

La grande Outarde appartient à la catégorie d'Oiseaux pourvus de caecums énormes ¹⁾. Pendant que je préparais mon travail sur le caecum des Vertébrés, je ne connaissais ces caecums que d'après la description et les tableaux qu'en avaient donnés *Maumus* et *Mitchell*. Quoique j'ai pu admettre que leur trajet est en principe conforme à la règle que suivent les caecums d'autres oiseaux, j'ai soupçonné pourtant en considérant leur grosseur qu'ils pourraient offrir sur leur parcours certaines particularités et certains écarts du type ordinaire.

Cette supposition fut en effet confirmée dans la suite. La disproportion entre la longueur des volumineux caecums et la longueur de l'anse intercaecale de l'iléon n'y est, il est vrai, pas aussi prononcée que chez le Coq de bruyère et chez le Coq des bois, mais elle a pourtant produit des conditions singulières dans le rapport entre les caecums et le péritoine de l'anse intercaecale.

Le gros intestin, très long et en conséquent flexueux, occupe chez la grande Outarde tout le secteur inférieur du mésentère dorsal, fixé le long de la ligne sagittale à la paroi abdominale postérieure; les deux caecums énormes partent ainsi tout près de la racine du mésentère de l'intestin grêle. Ils accompagnent en dépassant son sommet, l'anse terminale de l'iléon, (*ansa intercaecalis*, »the supraduodenal loop« de *Mitchell*), dont les deux branches sont reliées entre elles par le mésentère qu'elle a entraîné avec elle.

Cette anse terminale de l'iléon est située, comme chez tous les oiseaux, du côté droit dans la cavité abdominale, resp. dans la cavité pelvienne dont elle occupe la partie dorsale; elle est recouverte du côté ventral par l'anse duodénale qui est très longue chez les Oiseaux et enserme dans le mésentère le pancréas entre

¹⁾ *Maumus* dit que les caecums de la grande Outarde sont »nettement sacculés comme chez la plupart des Coureurs«, tandis qu'ils ont une forme cylindrique chez l'Outarde canepetière. Chez les deux exemplaires de grande Outarde que j'ai examinés, j'ai trouvé des caecums cylindriques sur tout leur parcours, surtout chez l'un de ces exemplaires où ils étaient remplis d'une quantité de contenu liquide; chez l'autre exemplaire, les caecums contenaient très peu de substances alimentaires, leur couche musculaire était tantôt plus, tantôt moins contractée, ce qui pouvait donner l'apparence de boursouflures, toutefois les sillons qui séparent ces boursouflures ne sont que temporaires, car ils s'expliquent par la contraction des fibres musculaires circulaires et non par des plis permanents.

ses deux branches; chez l'Oiseau se tenant debout, l'anse terminale de l'iléon accompagnée des caecums, se trouve, par conséquent, au-dessus du duodénum, d'où nom de »supraduodenal loop«.

Mitchell a montré que par suite de ce rapprochement, il se produit une soudure entre le péritoine de l'anse duodénale et celui de l'anse intercaecale; l'accolement commence à partir de la racine du mésentère et s'étend en sens caudal sur une longueur variable. A cause de la position qu'il occupe, le caecum gauche et le feuillet gauche du mésentère de l'anse intercaecale sont toujours plus exposés à ces accolements. Par suite de ces soudures de la séreuse, on voit se former des anastomoses entre les vaisseaux sanguins et s'établir en particulier des communications interveineuses, de sorte que le sang venant des caecums et de l'anse intercaecale se déverse dans les veines de l'anse duodénale (ramifications de la veine mésentérique antérieure). Mitchell appelle ces veines anastomotiques »bridging veins«; suivant l'étendue des surfaces accolées on en rencontre parfois une seule, mais il peut y en avoir deux ou trois d'un assez fort calibre.

Nous trouvons aussi chez *Otis tarda* cette soudure de l'anse duodénale avec l'anse intercaecale, en particulier avec le caecum gauche et le feuillet gauche du mésentère de l'anse intercaecale; elle s'étend de la racine du mésentère vers la moitié de la longueur de cette anse et nous voyons en dehors de petites anastomoses artérielles et veineuses, surtout deux »bridging veins« d'un très gros calibre. Dans le dessin (fig. 2), la soudure de ces deux anses est tranchée et l'anse duodénale y est relevée, pour pouvoir mieux se rendre compte du parcours des caecums.

Le caecum gauche prend naissance à la paroi ventrale, antimésentérique du gros intestin; il longe la paroi libre de la partie distale de l'anse intercaecale de l'iléon et contourne la convexité du sommet de celle-ci pour envahir encore une petite partie de la branche proximale où il finit par un bout arrondi. Il dépasse la longueur de la partie de l'iléon qu'il accompagne, mais il s'adapte à la paroi convexe de cette anse et devient seulement légèrement flexueux, en s'écartant en même temps de la paroi de l'iléon. Sur tout son trajet, il est lié à la paroi de l'iléon par le repli iléo-caecal; en s'éloignant, il entraîne ce repli et l'étale en une large membrane. La ligne d'attache de ce repli se rapproche d'abord du mésentère, cependant sur son parcours ultérieur elle

passer sur la face ventrale antimésentérique de l'iléon et la suit désormais tout le temps; vers le bout du caecum elle dépasse même la ligne médiane vers la droite et s'y continue dans la séreuse viscérale de l'iléon par une bandelette (*stria iliaca*) à peine visible¹).

Nous pouvons constater que chez la grande Outarde, en dehors du trajet ondulé, le caecum gauche ainsi que le repli iléo-caecal, en dehors de sa largeur, ont conservé le caractère fondamental du caecum ventral que présente le caecum gauche chez tous les oiseaux (v. Pl. 6, fig. 1 et 2).

Le caecum droit prend naissance à la paroi droite du gros intestin, tout près du feuillet droit du mésentère dorsal. Il est d'abord attaché sur son parcours par un large repli iléo-caecal à la paroi droite de la branche distale de l'anse intercaecale de l'iléon, à quelque distance de l'insertion du mésentère; son repli iléo-caecal le rapproche ensuite du feuillet droit du mésentère, mais soudain il disparaît à nos yeux (v. Pl. 6, fig. 1). Ce n'est qu'en examinant la face opposée c'est à dire la face gauche de l'anse intercaecale et de son mésentère (v. Pl. 6, fig. 2), que nous pouvons suivre son parcours ultérieur. Il y forme une anse volumineuse qui longé la courbure de l'anse intercaecale, mais avant d'arriver au niveau auquel il émergerait du mésentère à côté de la branche distale de l'anse intercaecale, il quitte la branche proximale de celle-ci et se perd en s'enfonçant dans le mésentère; nous retrouvons derechef sa partie terminale liée au feuillet droit du mésentère de l'anse intercaecale (v. Pl. 6, fig. 1). Il descend en accompagnant la branche proximale de cette anse beaucoup plus loin que ne le faisait le caecum gauche; en effet son bout a poussé au delà de l'endroit où aboutissait le caecum gauche.

Nous ne nous sommes trouvés en présence d'un parcours semblable du caecum droit chez aucun Oiseau, même pas chez les espèces à caecums énormes (p. ex. chez l'autruche); il s'explique

¹) Chez la plupart des Oiseaux nous trouvons une bandelette iléale (*stria iliaca*) très prononcée. Comme nous le savons par mon travail déjà cité, la bandelette iléale représente le vestige de l'ébauche mésodermique primitive qui prépare l'évolution du caecum, mais que celui-ci n'utilise pas toujours entièrement pour se développer d'une façon définitive. Nous ne sommes pas surpris de voir que chez la grande Outarde le caecum énorme a profité de tout le matériel mésodermique disponible.

par le développement du volume et de la longueur de ce caecum qui n'est pas en proportion avec le plan disponible. La partie initiale et la partie terminale qui elles aussi dépassent en longueur le segment de l'iléon auquel elles sont rattachées, ne subissent qu'une modification insignifiante en suivant un trajet flexueux, la partie initiale en entraînant et en étalant en surplus son repli iléo-caecal; cependant le développement démesuré de la partie moyenne s'est manifesté d'une manière beaucoup plus frappante. Cette partie recourbée se trouve dans des conditions différentes de celles dans lesquelles était le caecum gauche. Tandis que celui-ci contournait en forme de crochet le côté convexe du sommet de l'anse intercaecale, l'anse du caecum droit qui a passé sur le feuillet droit du mésentère devrait se loger dans sa concavité dans laquelle il a à sa disposition un espace beaucoup plus restreint.

Pour que l'anse du caecum droit pût s'adapter à la concavité de l'anse intercaecale en gardant le même rapport avec le feuillet droit du mésentère que chez les autres Oiseaux, elle aurait dû reproduire le trajet de l'anse intercaecale de l'iléon en proportions réduites et les deux branches de l'anse caecale devraient être plus rapprochées l'une de l'autre. Cependant cette partie du caecum a pris un développement démesuré, surtout en ce qui concerne sa longueur. Comprise d'abord entre les deux feuillets du mésentère, au lieu de soulever, comme fait le caecum droit d'autres oiseaux, le feuillet droit, elle s'est avancée vers le côté opposé en poussant devant elle le feuillet gauche du mésentère, tandis que le feuillet droit du mésentère de l'anse intercaecale présente à l'endroit qui répond à cette partie du caecum, une surface tout à fait lisse. En s'émancipant du mésentère et en s'écartant ensuite de son feuillet gauche, le caecum a entraîné celui-ci et s'en est servi pour former un large repli iléo-caecal: le parcours de la ligne d'implantation de ce repli sur le feuillet gauche du mésentère correspond exactement à la courbure de l'anse caecale elle-même. Au commencement et à la fin, c'est à dire jusqu'à l'endroit où le caecum abandonne, respectivement depuis où il reprend sa position intramésentérique, le repli iléo-caecal s'aplatit et se confond avec le mésentère.

Certes, l'anse de la partie moyenne du caecum droit, qui, comme le prouvent sa partie initiale et sa partie terminale, se développait primitivement sous le feuillet droit du mésentère, aurait aussi bien

pu soulever et pousser devant elle en s'accroissant le feuillet droit du mésentère et elle aurait été en état d'entraîner avec elle en s'en détachant, un repli iléo-caecal qui lui aurait assuré également un plus haut degré de mobilité; le caecum droit se serait alors moins écarté des conditions dans lesquelles on le trouve chez les autres Oiseaux. Le fait que cette anse n'a pas pris ce chemin, mais qu'elle s'est épanouie vers le côté du feuillet gauche s'explique par la situation topographique de l'anse intercaecale; celle-ci se dirige dès l'embouchure des caecums vers la région caudale et occupe la partie droite de la cavité abdominale, en refoulant le gros intestin vers la gauche. Elle y est nichée en s'adaptant par sa face droite et celle de son méso à la paroi abdominale postérieure ou plutôt à la paroi postérieure enfoncée du bassin formé par la grande fosse iliaque interne. La fermeté de cette paroi osseuse empêche le caecum de s'émanciper de son rapport intime avec le mésentère et de faire pousser une anse saillante, tandis que la surface gauche de l'anse intercaecale et de son méso qui regarde vers la cavité abdominale offre des conditions plus favorables et laisse une voie libre à l'accroissement et à l'épanouissement de l'éminence de l'anse caecale droite. Notons que cette anse ne commence à s'avancer hors de la surface gauche du mésentère que depuis l'endroit où cette surface est réellement tout à fait libre, c'est à dire exactement au-dessous du lieu jusqu'auquel s'étendait l'accolement de l'anse duodénale au feuillet mésentérique gauche, que j'ai signalé plus haut.

J'ai cru devoir signaler la façon particulière dont se comporte le caecum droit de la grande Outarde, car il pourrait paraître à première vue qu'elle déroge à la règle que nous avons établie pour le parcours du caecum droit des Oiseaux en général et à laquelle nous avons attribué une importance fondamentale pour les conclusions concernant la phylogenèse des caecums dans cette classe des Vertébrés. Une analyse détaillée nous permet de constater qu'en principe il s'agit là d'un *caecum dorso-laterale intramesenteriale* et que l'écart par rapport au type général est donné seulement par le fait que la partie moyenne recourbée du caecum se développant très considérablement et n'ayant pas de place libre pour son accroissement dans la concavité restreinte de l'anse intercaecale, s'est portée à gauche en poussant devant elle le feuillet gauche du mésentère, tandis que la partie initiale et la

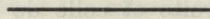
partie terminale restent attachées à la paroi droite de l'iléon resp. au feuillet droit du mésentère conformément à la règle générale.

Pl a n c h e 6.

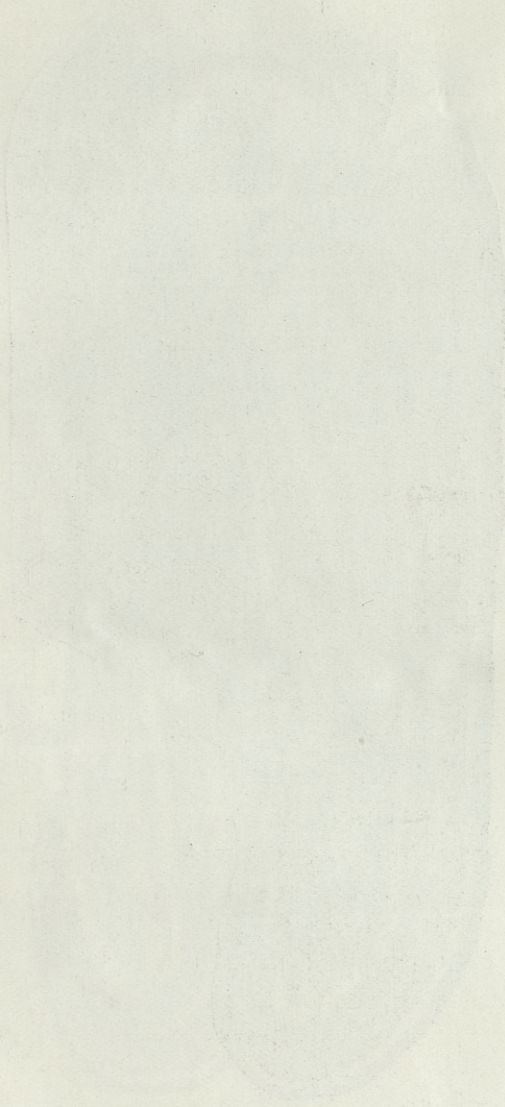
Fig. 1. Les caecums de la grande Outarde vus du côté postérieur.

Fig. 2. Les mêmes caecums vus du côté antérieur.

i = ileum, s = caecum sinistrum, d = caecum dextrum, x = limite de l'étendue de la surface d'accolement de l'anse duodénale.



Illegible text at the top of the page, possibly a header or title.



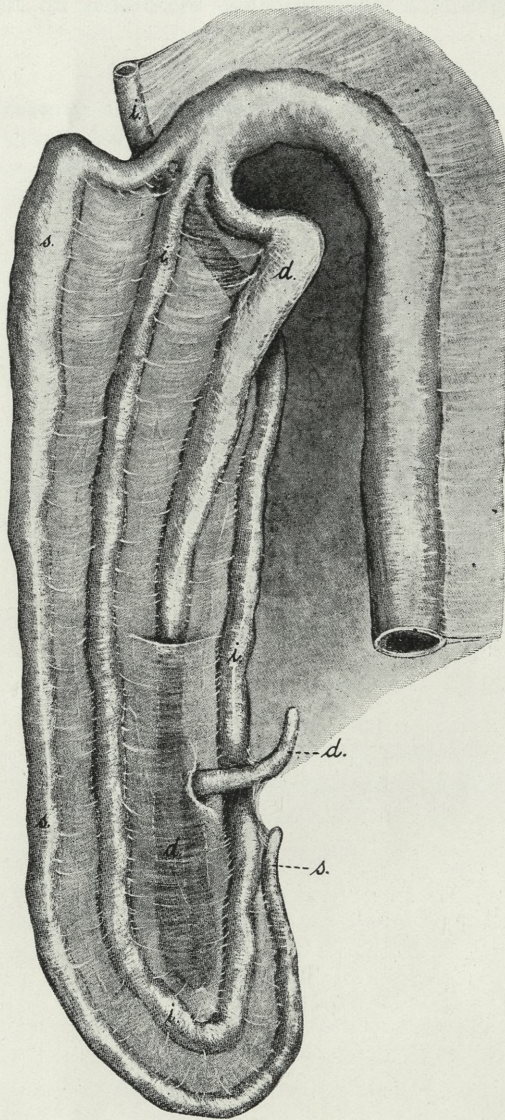


Fig. 1.

K. Kostanecki.

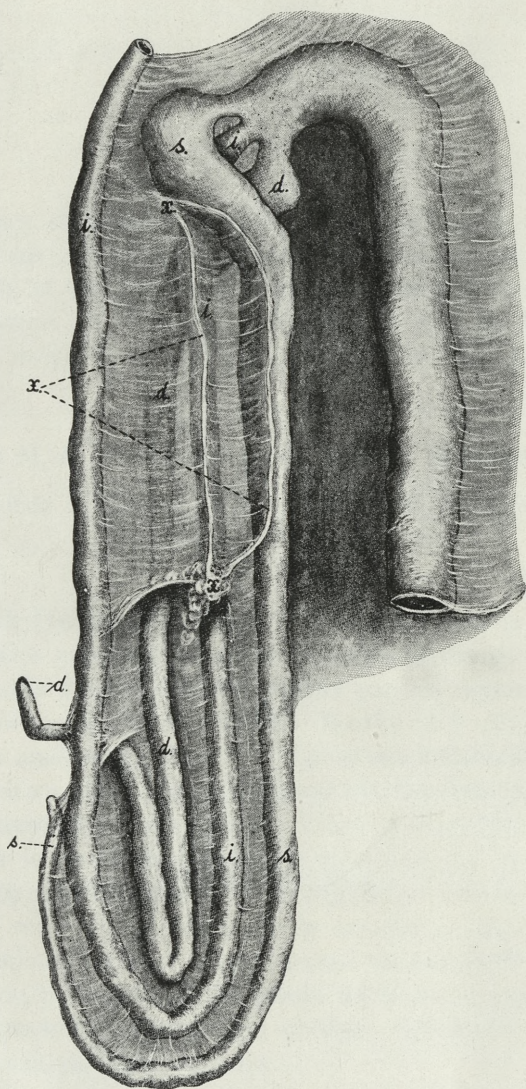


Fig. 2.

O krzywicy doświadczalnej. 1. Wpływ promieni ultrafioletowych na wymianę składników mineralnych i na ich zawartość w kościach. — Sur le rachitisme expérimental. 1. L'influence des rayons ultraviolets sur le métabolisme minéral et sur la composition des os.

Mémoire

de M. **F. ROGOZIŃSKI** et de Mlle **M. STARZEWSKA**,

présenté dans la séance du 3. mars 1930 par M. F. Rogoziński m. c.

(Planche 7).

En 1919 Huld schinsky (1) a constaté pour la première fois d'une manière exacte, l'influence favorable qu'exerce dans le rachitisme infantile spontané le traitement par les rayons ultraviolets. A peu près à la même époque, Mellanby (2) d'abord, puis les savants américains Mc Collum et ses collaborateurs (3), ainsi que Sherman et Pappenheimer (4), ont élaboré les méthodes qui permettent d'obtenir chez les animaux le syndrome caractéristique pour le rachitisme infantile spontané, par les moyens expérimentaux. Ces découvertes fondamentales ont été le point de départ des recherches ultérieures de nombreux savants dans les deux hémisphères. Grâce à leur travail inlassable, le problème de l'étiologie du rachitisme a été résolu au cours de ces dix ans dans ses traits généraux et l'on a pu préciser également les conditions de la guérison de cette maladie.

Nous n'avons pas l'intention de rappeler ici en détail tous les ouvrages se rapportant à ce domaine. Les travaux plus anciens, y compris ceux de l'année 1922, sont discutés dans l'excellent mémoire de M. Park (5). Parmi les recherches ultérieures, dont le nombre au cours des derniers dix ans a dépassé un demi-

mille, nous citerons dans la suite celles qui se rattachent d'une manière particulière à l'objet de nos études.

Nous nous contenterons de rappeler d'une façon tout à fait générale, que selon les vues actuelles, le rachitisme expérimental d'origine alimentaire dépend de deux causes essentielles. L'une d'elles est un déséquilibre dans le régime ainsi que dans l'organisme lui-même entre la teneur en phosphore et en chaux. L'autre cause est le défaut prolongé dans le régime d'une substance accessoire, la vitamine ou vitastérine antirachitique, la vitamine D. On sait d'autre part qu'on peut suppléer au défaut de cette substance dans le régime en soumettant l'organisme à l'action immédiate des rayons solaires ou bien des rayons d'une lampe à vapeur de mercure. C'est sur ce fait précisément que repose l'action préventive et curative des radiations dans le rachitisme.

Le mécanisme de cette action a été élucidé en premier lieu par les belles recherches de Hess, de Windaus et de Rosenheim. Nous savons que les rayons ultraviolets de longueur d'onde déterminée (3000 Å environ) possèdent la propriété de transformer l'ergostérine présente dans l'organisme en principe antirachitique, soit en vitamine D. Cette vitamine est donc une ergostérine irradiée, et l'ergostérine elle-même peut être considérée comme provitamine D. Ceci nous explique en même temps comment on peut communiquer des propriétés antirachitiques à une substance alimentaire soumise à l'irradiation.

Ces découvertes fondamentales ont déterminé dans les grands traits le mode d'action des rayons ultraviolets sur le métabolisme des substances minérales dans l'économie. Le champ de travail est néanmoins encore très vaste. Une quantité de problèmes attendent encore une solution précise: quels sont les régimes qui provoquent le rachitisme expérimental de la façon la plus facile et dans le temps le plus court? quel est le mécanisme intime de l'action de la vitamine D, resp. des radiations ultraviolettes dans l'organisme animal? quelle est la distribution de la vitamine D dans le monde vivant et quel est son mode de formation? et nombre d'autres.

En entreprenant des recherches dans ce domaine, nous avons résolu de répéter en premier lieu les expériences sur l'action qu'exercent les rayons ultraviolets sur le métabolisme minéral des animaux soumis à un régime rachitigène. Nous nous sommes servis dans nos recherches de rats blancs.

Expérience I.

Nous avons soumis à cette expérience quatre animaux de la même portée, deux mâles et deux femelles. A l'âge de six semaines, soit relativement tard, les animaux ont été mis au régime bien connu de McCollum (6), de la composition suivante:

blé	33 p. c.
maïs jaune	33 p. c.
gélatine	15 p. c.
gluten	15 p. c.
chlorure de sodium	1 p. c.
carbonate de calcium	3 p. c.

(Régime N 3143). Les animaux pesaient au début de l'expérience 102 gr, 74 gr, 95 gr, 97 gr. La cage avec les animaux était placée dans une chambre donnant au nord, à la lumière diffuse du jour.

Au bout de 12 jours d'alimentation préparatoire, on a transféré l'un des animaux, la femelle du poids initial de 97 gr, dans une cage spéciale, adaptée à l'étude du métabolisme. Les trois autres animaux furent laissés dans la cage commune.

La nourriture était présentée chaque jour au rat soumis à l'expérience en quantité pesée, sous forme de pâte humide. Pour éviter les pertes, la capsule contenant la nourriture était suspendue dans un récipient plus grand, où tombaient les parties éparpillées. On recueillait chaque jour la nourriture non-absorbée, on rassemblait ces portions et, chaque période terminée, on dosait la substance sèche dans l'échantillon mixte. Comme on connaissait la quantité de substance sèche présentée à l'animal, il était facile de déterminer la consommation totale pendant la période et la consommation moyenne par jour. L'animal avait constamment à sa disposition de l'eau, placée dans un petit ballon en verre, étiré en tube capillaire.

La structure de la cage permettait de recueillir sans perte les excréments liquides et solides. L'urine était filtrée chaque jour dans une fiole jaugée; on y recueillait l'urine éliminée au cours de chaque période, en la préservant par quelques gouttes de chloroforme. A la fin de chaque période, on lavait soigneusement à l'eau distillée le fond de la cage en forme d'entonnoir, on filtrait les eaux de lavage dans la fiole à urine et l'on complétait le volume au trait. Les dosages étaient exécutés dans des échan-

tillons du liquide bien mélangé. Les selles excrétées au cours de chaque période étaient recueillies et pesées, puis après les avoir finement broyé on y faisait les dosages.

On dosait le calcium, le magnésium et l'acide phosphorique dans la nourriture, les selles et l'urine évaporée préalablement à sec. L'incinération était exécutée dans des capsules en platine ou en quartz, chaque fois dans deux échantillons, à une température aussi basse que possible. Pour doser le calcium et le magnésium on dissolvait la cendre dans de l'eau acidulée par de l'acide chlorhydrique et on filtrait la solution. Elle était ensuite sursaturée d'ammoniaque, acidifiée à l'acide acétique et le calcium était précipité en solution bouillante par de l'oxalate d'ammonium. On filtrait le précipité, on le dissolvait dans de l'acide sulfurique étendu et on dosait le calcium en titrant avec une solution de permanganate de potassium. La liqueur filtrée après la séparation de l'oxalate de calcium était additionnée de chlorure d'ammonium et de phosphate de sodium, après quoi on y précipitait le magnésium par l'ammoniaque et on le dosait sous forme de pyrophosphate. De cette manière les dosages du calcium et du magnésium étaient effectués par des méthodes macrochimiques.

Les dosages du phosphore par contre étaient exécutés toujours selon la technique microchimique, donnée par Pregl-Lieb (7). On dissolvait la cendre dans de l'acide nitrique additionné d'acide sulfurique et on précipitait cette solution, ou bien un échantillon convenablement dilué, par le réactif molybdénique de Neubauer-Lücker (8). Le précipité était filtré sur un tube filtrant de M. Pregl, lavé à l'acétone, desséché dans le vide et pesé sur une balance microchimique de Kuhlmann.

L'expérience a duré 46 jours. Le poids initial (97 gr) de l'animal monta durant ce temps à 176 gr. Les autres rats de la portée, soumis également au régime N 3143, accusèrent aussi un accroissement de poids considérable: de 102 gr à 185 gr; de 74 gr à 120 gr; de 95 gr à 155 gr.

Au bout de six semaines depuis la mise au régime rachitigène, deux de ces animaux ont été soumis à l'examen radiographique. On a pu constater la présence de lésions rachitiques: une forte enflure des épiphyses dans l'articulation fémoro-tibiale, une diminution sensible de la densité des os. L'animal qui servait à l'étude du métabolisme et qu'on n'avait pas soumis à l'examen radiographique

pour ne pas interrompre l'expérience, présentait sans nul doute les mêmes symptômes. Les lésions rachitiques dans cette expérience n'étaient pas très aiguës, probablement à cause de l'âge trop avancé des animaux soumis à l'expérience.

Durant les 14 derniers jours de l'expérience sur le métabolisme minéral, on soumettait tous les jours l'animal étudié à l'irradiation par les rayons d'une lampe à vapeur de mercure (*Hanau*). On irradiait l'animal dans la cage même servant à l'étude du métabolisme, à une distance d'un mètre du brûleur, deux fois par jour pendant 10 minutes. On commençait l'irradiation après 5 minutes de fonctionnement de la lampe, quand le brûleur eut atteint son régime.

L'analyse de la nourriture séchée à l'air a donné dans 100 gr: 1.3818 gr Ca, 0.0849 gr Mg et 0.2686 gr P. Le rapport du calcium au phosphore était égal à 5.14:1. M. McCollum dans ses recherches donne pour 100 gr du régime de la même composition la teneur en calcium 1.221 gr, la teneur en phosphore 0.3019 gr. La valeur du rapport Ca: P est dans ce cas de 4.04:1.

On voit que dans notre régime, préparé d'après McCollum le rapport de ces éléments était plus large. Ceci s'explique sans doute par une légère différence dans la composition minérale des céréales dans les deux cas.

La substance sèche ingérée par jour dans les différentes périodes était: dans la période 1. — 13.33 gr; 2. — 13.15 gr; 3. — 12.99 gr; 4. — 13.59 gr; 5. — 13.99 gr; 6. — 13.79 gr; 7. — 15.44 gr.

On voit que la quantité des ingesta variait très peu; une faible augmentation n'apparaît que dans la dernière période.

Le tableau suivant donne les nombres relatifs à l'ingestion et à l'excrétion du calcium, du magnésium et du phosphore dans chaque période; il donne en même temps les bilans de ces éléments dans les différentes périodes.

Tableau I.

Période I.

	Ca mgr	Mg mgr	P mgr
Recette. Nourriture	1414.5	86.9	274.9
Excréta. Selles.	1011.8	41.4	213.0
> Urine.	220.4	51.3	2.2
> Total.	1232.2	92.7	215.2
Bilan de la période (7 jours)	+182.3	- 5.8	+59.7
Bilan par jour	+ 26.0	- 0.8	+ 8.5

Période II.

	Ca mgr	Mg mgr	P mgr
Recette. Nourriture.	1395·2	85·7	271·1
Excréta. Selles.	1058·2	43·7	204·5
» Urine.	215·4	45·5	1·7
» Total.	1273·6	89·2	206·2
Bilan de la période (7 jours)	+121·6	- 3·5	+64·9
Bilan par jour	+ 17·4	- 0·5	+ 9·3

Période III.

Recette. Nourriture.	1378·6	84·7	267·9
Excréta. Selles.	1068·8	42·5	225·0
» Urine.	201·1	55·4	1·7
» Total.	1269·9	97·9	226·7
Bilan de la période (7 jours)	+108·7	-13·2	+41·2
Bilan par jour	+ 15·5	- 1·9	+ 5·9

Période IV.

Recette. Nourriture.	1441·7	88·6	280·2
Excréta. Selles.	1095·8	33·4	214·3
» Urine.	229·5	56·4	1·8
» Total.	1325·3	89·8	216·1
Bilan de la période (7 jours)	+116·4	-- 1·2	+64·1
Bilan par jours	+ 16·6	- 0·2	+ 9·2

Période V.

Recette. Nourriture.	848·3	52·1	164·8
Excréta. Selles.	649·7	19·4	116·0
» Urine.	135·7	31·7	1·1
» Total.	785·4	51·1	117·1
Bilan de la période (4 jours)	+ 62·9	+ 1·0	+47·7
Bilan par jour	+ 15·7	+ 0·3	+11·9

Période VI.

Recette. Nourriture.	1464·1	89·9	284·5
Excréta. Selles.	868·7	26·0	147·1
» Urine.	366·4	63·8	2·0
» Total.	1235·1	89·8	149·1
Bilan de la période (7 jours)	+229·0	+ 0·1	+135·4
Bilan par jour	+ 32·7	0·0	+ 19·3

Période VII.

	Ca mgr	Mg mgr	P mgr
Recette. Nourriture.	1638·3	100·6	318·4
Excréta. Selles.	1040·9	39·6	193·8
» Urine.	336·3	67·8	3·0
» Total.	1377·2	107·4	196·8
Bilan de la période (7 jours)	+261·1	- 6·8	+121·6
Bilan par jour	+ 37·3	- 1·0	+ 17·4

Les données du tableau ci-dessus peuvent être résumées de la manière suivante: Durant toute l'expérience l'animal étudié éliminait une urine alcaline, riche en calcium et très pauvre en acide phosphorique. La teneur en phosphore de l'urine de jour ne dépassait pas une fraction de milligramme. Quant aux bilans, le magnésium présentait durant toute l'expérience un état d'équilibre presque exact. L'irradiation de l'animal dans les périodes 6 et 7 n'a exercé aucune influence sur le bilan de cet élément.

Les bilans du calcium et du phosphore se comportaient d'une manière tout à fait différente. Ils étaient décidément positifs durant toute l'expérience. La proportion dans laquelle ces deux éléments étaient retenus dans l'économie n'était pas constante; dans la plupart des périodes, 1·5 à 3 mgr de calcium étaient retenus pour 1 mgr de phosphore. L'irradiation de l'animal dans les deux dernières périodes a exercé une influence très nette sur le bilan. Tandis que dans les cinq périodes sans irradiation 18·2 mgr de calcium et 8·9 mgr de phosphore en moyenne ont été retenus par jour, pendant l'irradiation (périodes 6 et 7) la rétention monta pour le calcium à 35·0 mgr en moyenne, pour le phosphore à 18·4 mgr. On pouvait ainsi constater une augmentation d'environ 100 p. c. pour les deux éléments. Le fait que l'action des rayons ultraviolets peut augmenter sensiblement la rétention du calcium et du phosphore, même chez des animaux soumis à un régime relativement pauvre en phosphore, est en parfait accord avec les observations qui ont été faites jusqu'ici à ce sujet. Il est en même temps en relation étroite avec l'action de ces rayons sur la composition chimique des os, dont nous parlerons dans la suite.

Pour faire mieux ressortir l'influence qu'exercent les rayons ultraviolets sur le métabolisme du calcium et du phosphore, nous

donnons dans le tableau II. la répartition de la quantité de ces éléments ingérés pendant les différentes périodes entre les selles, l'urine et la rétention.

Tableau II.

Répartition centésimale du calcium et du phosphore ingérés entre les selles, l'urine et la rétention.
(moyennes de jour)

Période	Calcium			Phosphore		
	Selles	Urine	Rétention	Selles	Urine	Rétention
1	71.5	15.6	12.9	77.5	0.8	21.7
2	76.3	15.5	8.8	75.4	0.5	24.1
3	77.5	14.6	7.9	84.0	0.5	15.4
4	76.2	15.8	8.0	76.4	0.7	22.9
5	76.6	16.0	7.4	70.4	0.7	28.9
6	59.4	25.0	15.6	51.7	0.7	47.6
7	63.5	20.5	16.0	60.9	0.9	38.2

Les données du tableau ci-dessus permettent de se rendre compte des changements provoqués par l'irradiation dans le métabolisme de ces deux éléments. Dans les périodes précédant l'irradiation (2—5), l'animal éliminait dans ses selles 76—77 p. c. du calcium ingéré. Pendant l'irradiation (périodes 6 et 7) on ne retrouva dans les selles que 59—63 p. c. La résorption a donc augmenté; une partie de l'excédent résorbé a été retenue dans l'économie; la rétention s'est trouvée accrue de 7—9 p. c. jusqu'à 15—16 p. c. Le reste du calcium résorbé qui n'a pu être assimilé sans doute à cause du manque de phosphore, est passé dans l'urine. On y a trouvé 20—25 p. c. du calcium ingéré au lieu de 14—16 p. c. trouvés dans les périodes initiales.

La résorption du phosphore a augmenté d'une manière tout à fait pareille dans les périodes à irradiation. On y a retrouvé dans les selles 57—61 p. c. du phosphore ingéré, tandis que dans les périodes précédentes le taux dans les selles était de 70—84 p. c. L'excédent du phosphore résorbé a passé entièrement dans le gain, en l'augmentant d'une façon sensible: le gain monta de 15—29 p. c. dans les périodes précédentes, jusqu'à 38—48 p. c. dans les périodes à irradiation. Le taux du phosphore dans l'urine n'a pas changé; il est resté aussi bas que dans les périodes précédentes.

Expérience II.

Pour confirmer les résultats obtenus, nous avons répété notre expérience, en opérant en principe de la même manière, mais en introduisant quelques modifications. Nous avons choisi en premier lieu des animaux plus jeunes, âgés de cinq semaines. Au début de l'expérience, ils avaient le poids normal de 50—60 gr. Ensuite, nous avons modifié le régime. Le régime N 3143, employé dans la première expérience, a donné des symptômes rachitiques indubitables, mais les lésions caractéristiques n'étaient pas très accentuées. Dans notre deuxième expérience, nous avons voulu obtenir une évolution plus rapide et plus aiguë de la maladie ainsi que des symptômes plus accentués. Dans ce but nous avons modifié le régime en remplaçant le blé et le maïs par de la farine blanche de blé et par de la farine de maïs. M. McCleendon (9) a démontré il y a quelque temps déjà que la farine bise de blé et d'autant plus, bien entendu, le blé moulu, exercent une action inhibitrice sur le développement du rachitisme. Il fallait supposer que notre modification du régime rendrait plus aiguë l'évolution des lésions pathologiques. Le résultat confirma pleinement nos suppositions. Le régime était composé de 33 p. c. de farine blanche («fleur») de blé, 33 p. c. de farine de maïs, 15 p. c. de gélatine, 15 p. c. de gluten, 1 p. c. de chlorure de sodium et 3 p. c. de carbonate de calcium. Du régime N 3143 il diffère sans doute par une teneur plus basse en facteurs A et B; en effet, nos rats après avoir atteint le poids de 80—90 gr ont cessé de croître; dans aucun cas cependant nous n'avons pu constater des lésions xérophtalmiques. La principale différence entre les deux régimes gît dans le taux du phosphore qui est sensiblement abaissé dans le nôtre. D'après nos analyses, 100 gr de notre régime contiennent 1271.0 mgr de calcium, 42.0 mgr de magnésium et 143.4 mgr de phosphore. A chaque milligramme de phosphore répondent 8.86 mgr de calcium. Le régime adopté dans la première expérience contenait 268.6 mgr de phosphore dans 100 gr et la valeur du rapport Ca: P était de 5.14:1.

Par suite de cette modification du régime, sa teneur totale en phosphore a été réduite à la moitié environ et le rapport de calcium au phosphore a été fortement élargi, en s'éloignant sensiblement de la valeur optimale qui, d'après M. McCollum

(l. c. 6) répond à environ 0.4 p. c. de phosphore et 0.6 p. c. de calcium.

La technique de l'expérience a été encore modifiée en ce que les animaux étudiés ont été tenus dans l'obscurité complète. Enfin, on soumettait à l'examen radiographique l'animal même dont le métabolisme était étudié, en interrompant dans ce but l'expérience pour un jour.

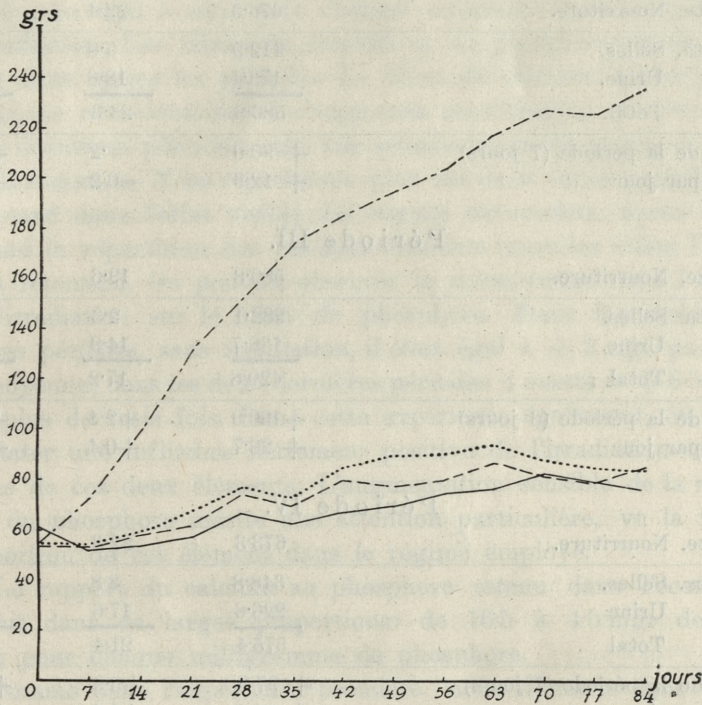
L'expérience a été exécutée sur quatre animaux de la même portée: deux femelles (poids initial 55 et 60 gr), et deux mâles (poids 53 et 55 gr). Le mâle de 55 gr qui servait de contrôle était placé dans une cage à la lumière diffuse du jour; il prenait tout le temps la nourriture normale des rats de notre Institut. Les trois autres rats restèrent d'abord durant 38 jours dans une cage commune dans l'obscurité. Ils étaient pendant ce temps au régime décrit ci-dessus. Le poids de tous les animaux augmenta pendant ce temps de la manière suivante: 85 gr (poids initial 55 gr), 67 gr (60 gr), 80 gr (53 gr), 187 gr (55 gr — contrôle). La femelle de 85 gr a été transférée alors dans la cage servant à l'étude du métabolisme; on recueillait les excréments et l'on déterminait l'absorption de la nourriture durant 44 jours. Au bout de 21 jours l'expérience a été interrompue pour un jour, afin de soumettre l'animal à l'examen radiographique. De cette manière l'expérience proprement dite a duré 43 jours. Elle a été divisée en six périodes. Durant les trois premières (8 jours, 7 jours, 6 jours) l'animal a été constamment tenu dans l'obscurité; durant les trois périodes suivantes (7 jours, 7 jours, 8 jours) il a été irradié par une lampe à vapeur de mercure deux fois par jour pendant dix minutes. Les deux autres rats soumis au régime pauvre en phosphore étaient tenus tout ce temps dans l'obscurité. L'expérience terminée, on procéda à un nouvel examen radiographique, ensuite on tua les trois rats et on sectionna chez deux les fémurs qui devaient servir à l'analyse. Voici le poids final des animaux:

85 gr, 77 gr, 84 gr, 237 gr (contrôle).

Les variations du poids au cours de l'expérience sont présentées dans la diagramme ci-dessous.

La quantité de substance sèche absorbée dans les différentes périodes par l'animal étudié, variait de la manière suivante: pé-

riode 1. — 6·89 gr; 2. — 6·77 gr; 3. — 6·79 gr; 4. — 6·74 gr; 5. — 6·29; 6. — 5·58 gr. On voit que l'absorption a été en somme



très régulière; une diminution, pas trop forte d'ailleurs, a pu être constatée dans la dernière période.

Le tableau III donne les nombres relatifs à la quantité de calcium, de magnésium et de phosphore dans la nourriture absorbée ainsi que dans les excréments, il montre en outre les bilans de ces éléments dans les différentes périodes.

Tableau III.

Période I.

	Ca mgr	Mg mgr	P mgr
Recette. Nourriture.	786·0	26·0	86·7
Excréta. Selles.	393·7	6·0	71·5
« Urine.	154·9	15·2	0·8
» Total.	548·6	21·2	72·3
Bilan de la période (8 jours)	+237·4	+4·8	+14·4
Bilan par jour	+29·7	+0·6	+1·8

Période II.

	Ca mgr	Mg mgr	P mgr
Recette. Nourriture.	676.3	22.4	74.6
Excréta. Selles.	412.9	5.0	66.9
» Urine.	173.4	18.6	1.0
» Total.	586.3	23.6	67.9
Bilan de la période (7 jours)	+ 90.0	1.2	+ 6.7
Bilan par jour	+ 12.9	-0.2	+ 1.0

Période III.

Recette. Nourriture.	580.8	19.6	64.0
Excréta. Selles.	282.1	2.3	43.8
» Urine.	138.7	14.9	1.1
» Total.	420.8	17.2	44.9
Bilan de la période (6 jours)	+160.0	+2.4	+19.1
Bilan par jour	+ 26.7	+0.4	+ 3.2

Période IV.

Recette. Nourriture.	673.3	22.3	74.3
Excréta. Selles.	348.8	3.8	58.2
» Urine.	226.6	17.6	1.1
» Total.	575.4	21.4	59.3
Bilan de la période (7 jours)	+ 97.9	+0.9	+15.0
Bilan par jour	+ 14.0	+0.1	+ 2.1

Période V.

Recette. Nourriture.	625.4	20.7	69.0
Excréta. Selles.	182.5	1.1	22.0
» Urine.	246.8	16.9	1.2
» Total.	429.3	18.0	23.2
Bilan de la période (7 jours)	+196.1	+2.7	+45.8
Bilan par jour	+ 28.0	+0.4	+ 6.5

Période VI.

Recette. Nourriture.	636.8	21.0	70.2
Excréta. Selles.	225.5	1.2	17.0
» Urine.	185.8	17.1	1.4
» Total.	411.3	18.3	18.4
Bilan de la période (8 jours)	+225.5	+2.7	+51.8
Bilan par jour	+ 28.2	+0.3	+ 6.5

On voit que le magnésium se comportait exactement comme dans la première expérience: le bilan était dans toutes les périodes à peu près égal à zéro, sans changer nullement dans les périodes à irradiation. Les bilans du calcium et du phosphore étaient positifs dans toutes les périodes. Le bilan du calcium accusait des variations considérables; il n'augmenta sensiblement que dans les deux dernières périodes, soit une semaine après le commencement de l'irradiation. Nous reparlerons plus bas de la cause probable de ce retard dans l'effet visible des rayons ultraviolets, après avoir discuté la répartition des ces deux éléments entre les selles, l'urine et la rétention. On pouvait observer le même retard dans l'action de l'irradiation sur le bilan du phosphore. Dans les trois premières périodes, sans irradiation, il était égal à + 2 mgr par jour en moyenne; dans les deux dernières périodes il monta à + 6.5 mgr. soit plus de trois fois. Dans cette expérience également, on a pu constater une influence nettement positive de l'irradiation sur les bilans de ces deux éléments. L'augmentation sensible de la rétention du phosphore mérite une attention particulière, vu la faible proportion de cet élément dans le régime employé.

Le rapport du calcium au phosphore retenu dans l'économie variait dans de larges proportions: de 16.5 à 4.5 mgr de calcium pour chaque milligramme de phosphore.

Comme dans l'expérience première, nous donnons dans le tableau IV la répartition du calcium et du phosphore ingéré entre les selles, l'urine et la rétention.

Tableau IV.

Répartition centésimale du calcium et du phosphore ingérés entre les selles, l'urine et la rétention.
(moyennes de jour)

Période	Calcium			Phosphore		
	Selles.	Urine.	Rétention.	Selles.	Urine.	Rétention
1	50.1	19.7	30.2	82.4	0.9	16.7
2	61.0	25.7	13.3	89.7	0.9	9.4
3	48.5	23.9	27.6	68.2	1.9	29.9
4	51.8	33.7	14.5	78.3	1.9	19.8
5	29.2	39.5	31.3	31.6	2.0	66.4
6	35.4	29.2	35.4	23.9	2.3	73.8

La caracté- re général des changements qui ont eu lieu dans le métabolisme du calcium et du phosphore sous l'action des rayons

ultraviolets répond donc exactement aux résultats obtenus dans l'expérience précédente. On a pu cependant observer quelques différences qu'il convient de signaler. Dans la première expérience l'irradiation a exercé une influence positive immédiate sur la résorption de deux éléments. Dans la première période à irradiation la résorption a déjà augmenté d'une manière sensible.

Dans la seconde expérience les radiations n'ont exercé aucune influence appréciable dans la première période: la résorption et la rétention du calcium et du phosphore sont restées les mêmes que dans les périodes précédentes. Les différences ne s'accroissent que dans les deux dernières périodes, mais elles sont dans ce cas très nettes, beaucoup plus nettes que dans l'expérience première.

L'animal étudié dans la seconde expérience était fortement épuisé au moment où l'on procéda à l'irradiation, par suite du manque prolongé de phosphore; les lésions rachitiques étaient plus accentuées que dans l'expérience première. L'examen radiographique ainsi que l'analyse des os le prouvent suffisamment. On peut supposer que dans ces conditions les rayons ultraviolets ne pouvaient exercer leur influence spécifique sur le métabolisme du calcium et du phosphore, qu'après une action prolongée. C'est pour cela que nous allons comparer dans la suite les périodes sans irradiation (1—3) avec les deux dernières périodes (5 et 6) seulement, en considérant la première période où l'on irradiait l'animal (4) comme période de transition.

Le tableau IV montre que pour 100 parties du calcium absorbé on retrouvait pendant les premières périodes 53 parties dans les selles, 23 dans l'urine, 24 enfin étaient retenues dans l'économie. Durant l'irradiation, soit dans les deux dernières périodes de l'expérience, on a retrouvé dans les selles 32 parties en moyenne, dans l'urine 34, dans le gain 34. Ainsi donc, comme dans la première expérience, on a constaté une résorption accrue du calcium, mais dans ce cas cette augmentation sous l'influence des rayons ultraviolets était encore plus prononcée. Une partie de l'excédent résorbé a passé dans le gain qui augmenta de 24 à 34 p. c. de la quantité ingérée, le reste a été éliminé dans l'urine, en élevant sensiblement son taux de calcium.

Le métabolisme du phosphore a subi des changements encore plus accentués. Dans les périodes sans irradiation on a retrouvé pour 100 parties de phosphore ingéré 80 parties dans les selles,

1 dans l'urine, 19 dans le gain. Dans les périodes où l'animal était irradié: on a retrouvé dans les selles 28 p. c. du phosphore ingéré, dans l'urine 2 p. c., 70 p. c. ont été retenus dans l'économie. L'amélioration de la résorption est donc ici très évidente. Tout l'excédent résorbé a passé dans le gain; le taux du phosphore dans l'urine n'a presque pas varié.

En comparant les résultats de nos deux expériences nous constatons qu'ils sont en accord parfait. Dans les deux cas les radiations améliorent la résorption du calcium et du phosphore et augmentent sensiblement le gain de ces éléments dans l'économie. L'effet des rayons ultraviolets est beaucoup plus prononcé dans la deuxième expérience. Nous l'attribuons à un régime très pauvre en phosphore dans cette expérience. Il nous semble que ce régime qui est compatible avec une assez bonne croissance, beaucoup meilleure p. ex. que le régime connu de Sherman-Pappenheimer N 84 (l. c. 4), et qui appauvrit fortement l'économie en phosphore, peut être utile dans les recherches sur le rachitisme expérimental. Nous nous proposons d'étudier dans la suite ses propriétés d'une manière plus détaillée.

Les résultats de nos expériences semblent prouver d'une manière claire et décisive que l'action favorable des rayons ultraviolets sur le métabolisme du calcium et du phosphore se manifestait uniquement par une résorption accrue de ces éléments. Contrairement aux opinions répandues, nous n'avons pu constater aucune influence de ces rayons, soit sur l'appétit des animaux, soit sur leur croissance.

Nos résultats confirment et complètent d'une manière utile les observations des autres auteurs qui ont étudié l'action des rayons ultraviolets sur le métabolisme minéral.

Ainsi, M. Orr et ses collaborateurs (10) ont pu constater dans quelques observations de courte durée, exécutées sur des enfants, que l'irradiation augmentait la résorption et la rétention du calcium et du phosphore.

M. Orr et ses collaborateurs (11) ainsi que M. Henderson (12) ont irradié par une lampe à arc des porcelets dont la nourriture contenait les éléments minéraux en proportion anormale. Ils ont constaté une rétention accrue du calcium et du phosphore. M. Henderson a observé que l'influence positive sur le métabolisme minéral ne correspondait pas à l'augmentation du poids. Il

en tira la conclusion que le facteur dominant la rétention du calcium et du phosphore ne dépend pas nécessairement du facteur agissant sur la croissance. Nos résultats confirment cette observation d'une manière très convaincante. MM. Webster et Hill (13) ont irradié par les rayons ultraviolets des rats, dont le rachitisme était provoqué par un régime pauvre en phosphore. Ils trouvèrent une rétention accrue du calcium et du phosphore; les auteurs attribuent ce fait à une résorption améliorée de ces éléments.

Des recherches sur l'irradiation de chèvres laitières ont été exécutées par M. Hart et ses collaborateurs (14), M. Steenbock et ses collaborateurs (15), ainsi que par MM. Henderson et Magee (16). Tous ces auteurs sont d'accord sur ce point que l'irradiation exerce une action positive sur le bilan minéral, notamment sur le bilan du calcium. En s'appuyant sur ses résultats M. Hart avance l'opinion que la lumière solaire joue un rôle important dans l'assimilation des composants minéraux par les vaches laitières.

En dernier lieu, l'influence des différents facteurs sur le métabolisme du calcium et du phosphore a fait l'objet de recherches exactes et étendues, exécutées par M. Poul Schultzer à l'Institut de Finsen, à Copenhague (17, 18). Par rapport à nos résultats les expériences où l'on irradiait des rats soumis au régime N 3143 méritent une attention spéciale. Le gain du calcium monta de 5.1 à 9.0 mgr, resp. de 9.1 à 11.0 mgr par jour; celui du phosphore de 2.5 à 7.3 mgr, resp. de 4.3 à 6.2 mgr. On a retrouvé dans les selles avant l'irradiation 73 resp. 65 p. c. du calcium ingéré; après l'irradiation 65 resp. 63 p. c. Les nombres correspondants pour le phosphore étaient: avant l'irradiation 84 resp. 73 p. c., après l'irradiation 57 resp. 61 p. c. On voit que les nombres de M. Schultzer sont en parfait accord avec les résultats obtenus dans notre première expérience. Dans la deuxième expérience, en faisant usage d'un régime particulièrement pauvre en phosphore, nous avons pu rendre les résultats encore plus nets. Dans ses recherches ultérieures, M. Schultzer (19) a varié le rapport entre le calcium et le phosphore dans le régime. Il a constaté qu'en abaissant le taux du calcium dans le régime N 3143 on peut augmenter la résorption et la rétention, de même que par l'action des rayons ultraviolets.

Pour compléter nos expériences métaboliques nous avons soumis à l'analyse chimique les os des animaux étudiés. Les données obtenues sont pour le moment peu nombreuses, il est vrai, nous croyons cependant qu'elles permettent déjà de tirer quelques conclusions intéressantes. Nous avons étudié la composition des fémurs de nos rats. Après avoir tué l'animal avec du chloroforme, on sectionnait soigneusement les os et on les débarrassait des tissus adhérents. Les os étaient ensuite séchés à 105° jusqu'à constance de poids. Ensuite on les calcinait dans un four électrique à une température relativement basse. On dosait toujours le calcium dans l'un des fémurs de l'animal et le phosphore dans l'autre, en employant les méthodes décrites ci-dessus. Nous admettions ainsi que les changements éventuels dans la composition chimique ont toujours lieu dans les deux os d'une manière parallèle, qu'ils sont bilatéraux. L'accord qu'on peut observer dans les tableaux ci-dessous entre le poids de la substance sèche et des cendres dans les deux os de chaque animal semble prouver que cette supposition est correcte.

Nous donnons les nombres relatifs à la composition des os de trois rats normaux (N 1, 2, 3), mis depuis leur naissance à un régime mixte abondant, employé à notre Institut; de quatre rats (N 4, 5, 6, 7) ayant servi à la première expérience (régime de McCollum N 3143) dont un (N 7) était irradié; enfin, des deux rats (N 8, 9) étudiés dans la deuxième expérience, (l'un d'eux (N 9) était irradié). Le tableau V donne les nombres relatifs aux dosages du calcium, le tableau VI — aux dosages du phosphore.

Tableau V.

N	Poids gr	Age jours	Fémur sec, gr	Cendre gr	En p. c. de subst. sèche	Calcium		
						dans le fémur mgr	en p. c. de subst. sèche	en p. c. de cendre
1	268	122	0.4001	0.2444	61.10	92.91	23.22	38.01
2	245	135	0.3958	0.2228	56.29	84.20	21.27	37.79
3	247	138	0.4462	0.2656	59.52	100.81	22.59	37.96
4	120	96	0.1920	0.0820	42.71	30.97	16.13	37.77
5	155	95	0.2372	0.1090	45.95	40.30	16.99	36.97
6	185	94	0.2653	0.1310	49.37	48.55	18.30	37.06
7	178	100	0.3150	0.1836	58.29	69.65	22.11	37.93
8	79	120	0.1411	0.0560	39.69	21.26	15.07	37.96
9	85	119	0.1641	0.0726	44.24	27.60	16.82	38.02

Tableau VI.

N	Poids gr	Age jours	Fémur sec, gr	Cendre gr	En p. c. de subst. sèche	Phosphore		
						dans le fémur mgr	en p. c. de subst. sèche	en p. c. de cendre
1	268	122	0.4001	—	—	45.12	11.28	—
2	245	135	0.4029	0.2286	56.74	42.36	10.51	18.53
3	247	138	0.4748	—	—	50.74	10.69	—
4	120	96	0.1794	0.0780	43.59	14.12	7.87	18.05
5	155	95	0.2365	0.1100	46.51	19.34	8.18	17.58
6	185	94	0.2735	0.1340	48.99	23.75	8.68	17.72
7	178	100	0.3141	0.1834	58.39	32.97	10.50	17.98
8	79	120	0.1438	0.0592	41.17	10.04	6.98	16.95
9	85	119	0.1646	0.0718	43.62	11.71	7.12	16.31

Les résultats obtenus pour nos rats normaux (N 1—3) peuvent être comparés avec les moyennes de M. Hammett, citées dans l'ouvrage de M. Donaldson (20). M. Hammett donne comme poids moyen du fémur sec chez des mâles de 100 jours 0.2342 gr, de 150 jours 0.3361 gr; chez les femelles de 100 jours 0.2388 gr, de 150 jours 0.3064 gr; la teneur en cendres du fémur chez des mâles 0.1457 gr resp. 0.2140 gr; chez des femelles 0.1539 gr resp. 0.2006 gr. On voit que chez nos rats dont le poids était à peu près correspondant, la teneur des os en substance sèche et en cendre dépassait sensiblement les moyennes données par M. Hammett. D'autre part la teneur en cendre, calculée en p. c. de la substance sèche, était plus faible. Dans nos observations elle était égale à 59 p. c. en moyenne, tandis que suivant M. Hammett elle varie de 62 à 65 p. c., selon le sexe et l'âge. Ce nombre mérite une attention particulière: c'est lui, en effet, qui est en premier lieu affecté par les variations dans la minéralisation de l'os, provoquées par un régime déficient. Ainsi, chez les rats N 4—6, mis pendant huit semaines au régime N 3143, la teneur du fémur en cendre calculée en p. c. de substance sèche, s'est abaissée à 46 p. c. en moyenne. Chez le rat N 7 d'autre part, nourri de la même manière, mais exposé en outre pendant les 14 derniers jours à l'action des rayons ultraviolets, la teneur monta à 58 p. c., soit au taux qu'on trouve chez les rats nourris de façon normale.

On a pu obtenir un abaissement encore plus considérable de la proportion centésimale des cendres dans la substance sèche

des fémurs chez les rats N 8 et 9, mis à un régime excessivement pauvre en phosphore. Chez le rat N 8, non irradié, on a trouvé 40 p. c. contre 59 p. c. chez les rats normaux. L'irradiation du rat N 9 pendant 22 jours a augmenté aussi la proportion centésimale de cendre, qui pourtant ne monta ici qu'à 44 p. c., n'atteignant par conséquent pas le taux normal. On peut expliquer ce fait par l'appauvrissement général de l'économie en phosphore. Il est évident que l'action des rayons ultraviolets n'a pu dans ce cas suppléer au manque absolu de cet élément.

Le rat N 9 a été soumis à deux reprises à l'examen radiographique: la première fois immédiatement avant de commencer les irradiations, l'autre, une fois les irradiations terminées. Les reproductions sont données ci-dessous. La première offre l'image des lésions rachitiques prononcées: la tête du fémur est faiblement marquée, entre l'épiphyse et la diaphyse du tibia on voit une large zone non-minéralisée. Dans l'autre reproduction le progrès de la guérison est évident, notamment dans l'épiphyse de l'os; la minéralisation est relativement avancée. Ce cas peut servir d'exemple pour le manque de commensurabilité entre l'image obtenue par l'examen radiographique et la teneur des os en substance minérale. Le fait a été observé à différentes reprises par M. Melanby dans ses recherches sur le rachitisme expérimental des chiens. L'examen radiographique peut décèler une amélioration considérable, tandis que le taux des cendres dans l'os est encore bas.

Parmi les nombres des tableaux V et VI, ceux des dernières colonnes qui donnent la teneur en calcium resp. en phosphore, calculée en p. c. des cendres, méritent encore une attention particulière. Nous avons trouvé chez tous les animaux étudiés, tant normaux que rachitiques, irradiés et non-irradiés, 37 à 38 p. c. de calcium dans les cendres du fémur. Les rats N 3 et 7 p. ex., du même âge, mais d'un poids très différent de 247 gr resp. 79 gr, présentent une grande différence dans le taux absolu du calcium dans le fémur (101 mgr resp. 21 mgr); la teneur centésimale en calcium dans les cendres de l'os est cependant dans les deux cas identique, notamment 37.96 p. c.

M. Hammett (l. c.) donne pour les rats des deux sexes, d'un poids de 100 et 150 gr, des nombres qui varient entre 37.32 p. c. et 37.76 p. c. Il paraît ainsi que la teneur en calcium de la cendre

des os est très constante; on pourrait donc se contenter d'un dosage de cendre et calculer le taux de calcium.

Cette teneur constante du calcium dans les os qui est indépendante de leurs différences histologiques a déjà été constatée par Mme Chick et ses collaborateurs (21). Ils donnent comme moyenne pour les cendres des os de la jambe postérieure du rat 37 p. c. D'après cette proportion ils calculent le taux du calcium en se basant sur les dosages de cendre totale. Notre moyenne est, on voit, un peu plus haute, 37.5 p. c. environ. La teneur en phosphore des cendres offre un spectacle un peu différent. D'après M. Hammett cet élément représente 18.32 à 18.57 p. c. des cendres dans le fémur des rats de 100 gr et 150 gr. Chez notre rat normal nous avons trouvé en accord avec ce nombre 18.53 p. c. Chez des rats rachitiques, consommant un régime pauvre en phosphore, le taux de cet élément dans les cendres était un peu plus faible. Ainsi, chez les rats nourris du régime N 3143 il était égal à 17.58 — 18.05 p. c. des cendres. Chez les rats N 8 et 9 qui recevaient une nourriture particulièrement pauvre en phosphore, cet élément formait 16.31 à 16.95 p. c. de la cendre totale dans le fémur. Nos données actuelles sont beaucoup trop peu nombreuses pour en tirer des conclusions définitives; on a cependant l'impression que dans le rachitisme expérimental des rats, provoqué par le manque de phosphore, le taux de cet élément dans les cendres des os subit un certain abaissement, pas trop grand d'ailleurs.

Sous ce rapport il y a un certain désaccord entre nos résultats et les vues de M. Park (l. c.) ainsi que celles de Mme McCann et Barnett (22). D'après ces auteurs, la proportion entre le calcium et le phosphore dans l'os rachitique reste la même que dans l'os normal. D'autre part nos données sont en parfait accord avec ce qu'a trouvé Mme Chick et ses collaborateurs (l. c.). Selon eux: »Le taux du phosphore dans les cendres présentait des variations relatives plus grandes. Chez les animaux consommant un régime pauvre en phosphore qui provoquait le rachitisme, la proportion de cet élément était constamment plus faible (16.9 p. c. des cendres en moyenne) que chez ceux qui recevaient dans leur nourriture une quantité adéquate des phosphates (18.2 p. c. des cendres en moyenne)«.

Nous avons l'intention de soumettre ce problème à un examen approfondi au cours de nos recherches ultérieures.

Conclusions.

Les résultats de nos expériences peuvent être résumés de la manière suivante:

1. Le bilan du calcium et du phosphore chez de jeunes rats est constamment positif pendant leur croissance, même dans le cas où le régime est excessivement pauvre en phosphore.

2. L'irradiation par les rayons ultraviolets augmente sensiblement la rétention du calcium et du phosphore.

3. Cette augmentation du gain correspond à une résorption améliorée. Chez un rat non-irradié p. ex. nous avons trouvé dans les selles 80 p. c. du phosphore ingéré, chez le même rat après irradiation on en n'a trouvé que 28 p. c.

4. Le taux des cendres dans les os des animaux rachitiques augmente par l'effet de l'irradiation. Dans des conditions favorables ce taux peut égaler celui des animaux normaux.

5. La proportion du calcium dans les cendres des os des rats rachitiques est égale à celle des rats normaux. La proportion du phosphore est, à ce qu'il paraît, un peu plus faible.

Bibliographie.

1. K. Huldshinsky. Heilung von Rachitis durch künstliche Höher-sonne. Deutsche Med. Wochenschr. 1919, **45**, 712. — 2. E. Mellanby. Experimental Rickets. London. 1921. H. M. Stat. Off. (Privy Counc. Med. Research Counc. Spec. Rep. Ser., N 61). — 3. E. V. McCollum, N. Simonds, H. F. Parsons, P. G. Shipley and E. A. Park. Studies on experimental rickets. I. The production of rachitis and similar diseases in the rat by deficient diets. Journ. of biol. Chem. 1921, **45**, 333. — 4. H. C. Sherman and A. M. Pappenheimer. A dietetic production of rickets in rats and its prevention by an inorganic salt. Proc. of the Soc. for exp. Biol. and Med. 1920/21, **18**, 193. — 5. E. A. Park. The etiology of rickets. Physiol. Reviews, 1923, **3**, 106. — 6. E. V. McCollum, N. Simmonds, P. G. Shipley and E. A. Park. Studies on experimental rickets. XVI. A delicate biological test for calcium- depositing substances. Journ. of biol. Chem. 1922, **51**, 41. — 7. H. Lieb. Die Mikroelementaranalyse mit Einschluss der Halogenbestimmung nach Fritz Pregl. E. Abderhalden, Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. I. **3**, 2, p. 325. — 8. H. Neubauer und F. Lück er. Ueber die v. Lorenz'sche Methode der Phosphorsäurebestimmung. Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1912, **51**, 161. — 9. J. F. McClendon. Calcium phosphate metabolism showing the prevention of rickets by feeding clear grades of flour. Proc. of the Soc. for exp. Biol. and Med. 1922, **19**, 356. (d'après Ber. üb. d.

ges. *Physiol. und exper. Pathol.* 1922, **15**, 64). — 10. W. J. Orr, L. E. Holt, L. Wilkins and F. H. Boone. *Amer. Journ. Diseases. Child.* 1923, **26**, 362. (d'après P. Schultzer l. c.) — 11. J. B. Orr, H. E. Magee and J. M. Henderson. *Biochem. Journ.* 1925, **19**, 569. (d'après J. M. Henderson and H. E. Magee l. c. 16) — 12. J. M. Henderson. The effect of irradiation and diet on calcium and phosphorus metabolism. *Biochem. Journ.* 1925, **19**, 52. (d'après Ber. üb. d. ges. *Physiol. und exper. Pathol.* 1925, **32**, 81). — 13. A. Webster and L. Hill. The causation and prevention of rickets. *Brit. med. Journ.* 1925, p. 956. (d'après Ber. üb. d. ges. *Physiol. und exper. Pathol.* 1925, **32**, 258). — 14. E. B. Hart, H. Steenbock and C. A. Elvehjem. Dietary factors influencing calcium assimilation. V. The effect of light upon calcium and phosphorus equilibrium in mature lactating animals. *Journ. of biol. Chem.* 1924, **62**, 117. — 15. H. Steenbock, E. B. Hart, C. A. Elvehjem and S. W. F. Kletzien. Dietary factors influencing calcium assimilation. VI. The antirachitic properties of hays as related to climatic conditions with some observations on the effect of irradiation with ultra-violet light. *Journ. of biol. Chem.* 1925, **66**, 425. — 16. J. M. Henderson and H. E. Magee. The effect of ultraviolet light on the calcium and phosphorus metabolism of the lactating animal. *Biochem. Journ.* 1926, **20**, 363. — 17. Poul Schultzer. Le métabolisme du phosphore et du calcium chez des jeunes rats soumis au régime rachitigène riche en calcium, sous l'influence des rayons ultraviolets, de l'huile de foie de Morue et des phosphates. *C. r. Soc. Biol.* 1925, **93**, 1005. — 18. P. Schultzer. Studien über Phosphor- und Calciumstoffwechsel bei mangelhaften Kostformen. I. Mitteilung. Die Einwirkung ultravioletten Lichtes. *Biochem. Zeitschr.* 1927, **188**, 409. — 19. P. Schultzer. Studien über Phosphor- und Calciumstoffwechsel bei mangelhaften Kostformen. III. Mitteilung. Veränderung des Phosphor- oder Calciumgehalts der Kost. *Bioch. Zeitschr.* 1927, **188**, 435. — 20. H. H. Donaldson. *The Rat.* 1924. Philadelphia p. 317-319. — 21. H. Chick, V. Korenchewsky and M. H. Roscoe. The difference in chemical composition of the skeletons of young rats fed (1) on diets deprived of fat-soluble vitamins and (2) on a low phosphorus rachitic diet, compared with those of normally nourished animals of the same age. *Biochem. Journ.* 1926, **20**, 622. — 22. G. F. McCann and M. Barnett. Experimental rickets in rats. IX. The distribution of phosphorus and calcium between the skeleton and soft parts of rats on rachitic and non-rachitic diets. *Journ. of biol. Chem.* 1922, **54**, 203.

Explication des radiogrammes sur la planche 7.

Fig. 1. Rat N° 9 avant l'irradiation.

Fig. 2. Le même, après 22 jours d'irradiation.



Fig. 2.

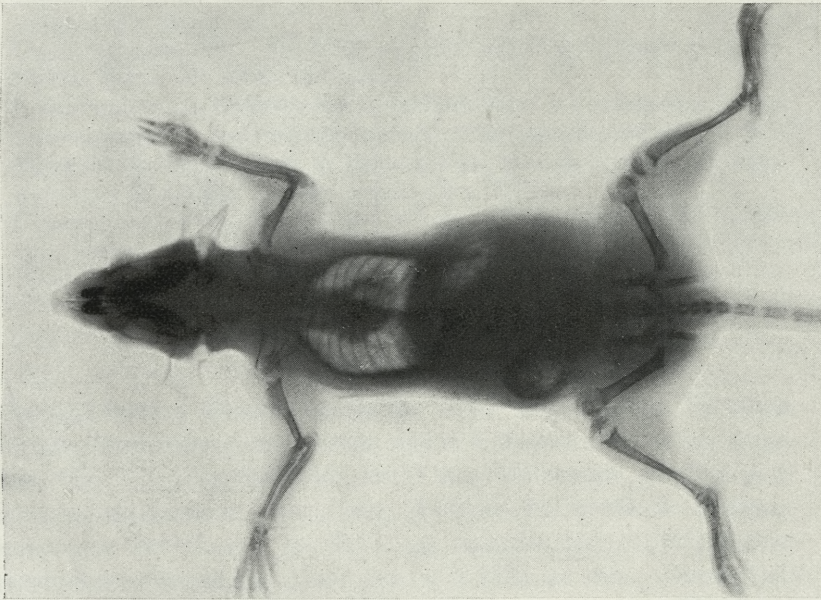


Fig. 1.

F. Rogoziński et M. Starzewska.

181

Badania porównawcze nad aparatem Golgiego i nad vacuome'em w komórkach somatycznych i płciowych niektórych gastropodów (Helix, Paludina, Cerithium). — Vergleichende Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in Soma- und Geschlechts-Zellen einiger Gastropoden (Helix, Paludina, Cerithium).

Mémoire

de M. L. MONNÉ,

présenté, dans la séance du 3 Mars 1930, par M. J. Hirschler m. c.

(Planches 8—11).

- I. Einleitung.
- II. Material und Methoden.
- III. Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in somatischen Zellen von *Helix lutescens*.
 1. Darmepithel. 2. Zwittergang. 3. Spermovidukt. 4. Vas deferens. 5. Ausführungsgang des receptaculum seminis. 6. Receptaculum seminis. 7. Bindegewebe. 8. Nervenzellen. 9. Bemerkungen über die Struktur des Golgi-Apparates in einigen anderen somatischen Zellen.
- IV. Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in männlichen Geschlechtszellen.
- V. Zusammenfassung der Befunde.
- VI. Literaturverzeichnis.

I. Einleitung.

In den letzten Jahren wurde die unter dem Namen Vacuome bekannte Plasmakomponente von vielen Forschern näher ins Auge gefaßt. Das Vacuome läßt sich wohl am leichtesten vital mittels Neutralrot nachweisen. Der erste, welcher die erwähnte Plasmakomponente bei Tieren gesehen hat, scheint mir, soweit meine Literaturkenntnis reicht, Zawarzin (1909) zu sein. Dieser hat seine Untersuchungen an den Zellen der Descemetschen Membran

des Auges einiger Säugetiere durchgeführt. Für uns ist eine Angabe wichtig, daß er nämlich den Golgi-Apparat (Zentrophormien nach Ballowitz) vital als ein feines Netzwerk, an dessen Bälkchen die sich mit Neutralrot färbenden Granula (das Vacuome) angeheftet waren, sehen konnte. Zawarzin erkannte also richtig auf Grund seiner Beobachtungen, daß die Zentrophormien (Golgi-Apparat) und die sich mit Neutralrot färbenden Granula (das Vacuome) als differente Plasmastrukturen aufzufassen sind. Diesen Befunden Zawarzin's wurde später von Parat und Painlevé (1925) widersprochen, welche die Zentrophormien als sich in der Umgebung des Vacuomes, unter dem Einfluß der gebräuchlichen Methoden bildende Artefakte auffaßten, offenbar weil diese im lebenden Zustande nicht scharf genug hervortreten. Obwohl die Ansicht Zawarzin's zweifellos richtig ist, können die von ihm geförderten Tatsachen nicht als unbedingt überzeugend gelten, weil bei der Beurteilung, ob eine Struktur vital ohne Färbung sichtbar ist oder nicht, der Subjektivität des Forschers ein allzugroßer Spielraum eingeräumt werden muß. Später untersuchte Perroncito (1910) mit Neutralrot behandelte, männliche Geschlechtszellen von *Paludina vivipara*, wobei er aber die vital sichtbaren Strukturen wenig beachtete, was aus seinen Abbildungen zu ersehen ist. Wenn ich ihn recht verstehe, scheint er zu behaupten, den Golgi-Apparat in Spermatiden mit Neutralrot gefärbt zu haben. Allem Anschein nach hält er die zwei differenten Strukturen, den Golgi-Apparat und das Vacuome noch nicht mit Sicherheit auseinander; wenigstens kann man sich beim Lesen seiner Arbeit dieses Eindrucks kaum erwehren. Diese zwei Forscher (Zawarzin und Perroncito), um nicht andere zu erwähnen, scheinen bezüglich der Tierzelle auf dem Gebiete der Vitalfärbung mit Neutralrot Vorgänger Parat's gewesen zu sein. Parat hat als erster Untersuchungen in großem Ausmaße an mit Neutralrot behandelten Zellen verschiedener Tierklassen unternommen und den Begriff Vacuome, der der Phytocytologie entsprungen ist (Dangeard), in die tierische Cytologie eingeführt. In dem von ihm geförderten Tatsachenmaterial glaubte er einen Beweis für die von ihm aufgestellte bekannte Theorie erblicken zu können. Nach seiner Theorie können wir im Plasma nur zwei differente Strukturen, nämlich das Chondriom mittels Janusgrün und das Vacuome mittels Neutralrot nachweisen. Der Golgi-

Apparat, welcher an konservierten Objekten zur Darstellung gebracht werden kann, ist als ein Artefakt zu betrachten, und wird dadurch verursacht, daß auf der Oberfläche von Vakuolen (Vacuome) Niederschläge von Silber oder Osmium entstehen. Diese Niederschläge können die Form von Fäden und Netzen annehmen. Bilden die Vakuolen eine größere Ansammlung, so entstehen nach Behandlung mit Silber- oder Osmiummethoden Netze; sind sie dagegen zerstreut, so sehen wir kurze Stäbchen und Ringe. Eine Erklärung für das Entstehen plättchenförmiger Golgi-Apparat-Elemente, welche diffus im Plasma liegen, auf mit Osmium- oder Silbermethoden behandelten Präparaten glaubt Parat darin finden zu können, daß die Wände der Vakuolen unter der Einwirkung von Fixierungs- und Entwässerungsmethoden zusammenklappen, wobei auf ihren Flächen Niederschläge entstehen. Die plättchenförmigen Golgi-Apparat-Elemente sind also als artefaktisch veränderte Vacuome-Elemente aufzufassen.

Der Golgi-Apparat ist also nach Parat ein Artefakt, dessen reale Grundlage das Vacuome bildet. Der Golgi-Apparat ist demnach als selbständige Plasmakomponente aus der Cytologie zu streichen. Das Vacuome der tierischen Zellen ist nach Parat der gleichnamigen Struktur der Pflanzenzellen morphologisch gleichwertig. Den Ursprung dieser Theorie, welche sich als verfehlt erwiesen hat, wie dies aus Hirschlers (1927—1928) Beobachtungen an männlichen Geschlechtszellen von Schmetterlingen hervorgeht, müssen wir in zwei Grundtatsachen suchen, nämlich: 1) daß das Vacuome sehr oft in sehr engen topographischen Beziehungen zum Golgi-Apparat steht, 2) daß dieser im Gegensatz zu jenem vital oft unsichtbar ist. Ist nämlich der Golgi-Apparat im lebenden Zustande ausnahmslos unsichtbar, so könnte man leicht annehmen, daß er im lebenden Zustande überhaupt nicht existiert; fällt dagegen der Golgi-Apparat immer, ohne Ausnahme, topographisch mit dem Vacuome zusammen, so liegt die Möglichkeit nahe, daß der Apparat ein sich aus dem letzteren bildendes Artefakt sein könnte. Selbstverständlich müssen Fälle, welche für das Gegenteil sprechen, nämlich: 1) daß der Golgi-Apparat topographisch mit dem Vacuome nicht zusammenfalle, 2) daß nicht nur das Vacuome, sondern auch der Golgi-Apparat vital nachweisbar seien, für die Theorie Parats verhängnisvoll sein. Auf den letzterwähnten Fall ist schon Parat selbst gestoßen, als er

männliche Geschlechtszellen von *Helix* zu Gesicht bekam. Durch diese Tatsachen sah er sich in seinen Behauptungen bedroht und mußte zu Hilfhypothesen Zuflucht nehmen, um seine ursprüngliche Theorie zu retten. Darin müssen wir den Ursprung seiner Hilfhypothese, nämlich der »Lepidosomenhypothese«, wie wir sie auch nennen wollen, suchen. Diejenige Plasmastruktur in männlichen Geschlechtszellen von *Helix*, welche schon seit den Untersuchungen Platners (1889) bekannt ist und welche später Weigl (1912) und Gatenby (1917), der von Popoff (1906) an *Helix* und von Perroncito (1910) an *Paludina*-Spermatocyten gemachten richtigen Deutung folgend, als Golgi-Apparat ansprachen, ist vital ohne jegliche weitere Behandlung vortrefflich sichtbar. Parat dagegen mußte seiner Theorie zu Liebe eine andere Ansicht ausarbeiten; nach ihm kommen nämlich die sich mit Neutralrot färbenden Granula (Vacuome) nach Behandlung mit Osmium- oder Silbermethoden als die sogenannten »echten« Dictyosomen (vrais dictyosomes), welche dem Golgi-Apparat entsprechen sollen, zum Vorschein, während er diejenige Struktur, welche bis jetzt als Golgi-Apparat aufgefaßt wurde (also der Golgi-Apparat Weigls und Gatenbys), als zum Chondriom gehörig erklärt und als Lepidosomen bezeichnet. Das Chondriom tritt also in männlichen Geschlechtszellen in zweierlei Form auf, männlich in Gestalt von Granulen (Mitochondrien) und in Gestalt halbmondförmiger Körperchen, also Lepidosomen, welche mit den Platnerschen Fäden und mit dem Golgi-Apparat Weigls und Gatenbys identisch sind. Die Lepidosomen sollen aus Mitochondrien entstehen. Ein Beweis dafür soll angeblich von Parat und Gambier (1926) und von Gambier (1928) erbracht worden sein.

In den Geschlechtszellen haben wir also nach Parat ein Chondriom in Form von Mitochondrien und Lepidosomen, von welchen die letzteren dem Golgi-Apparat der obengenannten Autoren entsprechen und ein Vacuome, welches die Grundlage für das auf mit Osmium- oder Silbermethode behandelten Objekten auftretende Artefakt, den Golgi-Apparat (also die »echten« Dictyosomen Parats) bildet. Diese von Parat ausgearbeitete Ansicht mußte von ihm auf die Geschlechtszellen des ganzen Tierreiches ausgedehnt werden. Die Lepidosomen sind also nach ihm für die Geschlechtszellen spezifisch. Diese Hypothese erscheint von vorn-

herein gekünstelt und wurde deshalb von Jacobs (1927) einer berechtigten Kritik unterzogen. Wir waren auch mit den Anschauungen Parats nicht einverstanden und haben bereits unsere Ansichten bezüglich der erwähnten Frage in einer vorläufigen Mitteilung (Monné 1927), in welcher zwei Vertreter der Prosobranchiaten-Gruppe, nämlich *Cerithium* und *Paludina*, und ein Vertreter der Pulmonaten-Gruppe, *Helix lutescens*, behandelt wurden, veröffentlicht. Wir müssen noch bemerken, daß auch Avel (1925) und Tuzet (1928) die Ansichten Parats nicht teilen. In unserer vorläufigen Mitteilung konnten wir direkt beweisen, daß der Golgi-Apparat bei Prosobranchiaten eine lamellöse Struktur besitzt, und konnten daraus die Struktur des bei Pulmonaten auftretenden Golgi-Apparates ableiten. Wir haben auch die Notwendigkeit bestritten, den neuen Begriff, die Lepidosomen, einzuführen. Die Lepidosomen, welche eine lamellöse Struktur besitzen, bilden den echten Golgi-Apparat und lassen sich vital nicht mit Janusgrün färben, im Gegensatz zu den Mitochondrien. Das Vacuome, welches wir damals als Apparatinhalt bezeichneten, haben wir dem Golgi-Apparat, als Apparat-Externum gegenübergestellt. In dieser Arbeit wollen wir über unsere Beobachtungen, welche sich auf männliche Geschlechtszellen von *Paludina vivipara*, *Helix lutescens* und *Cerithium vulgare* beziehen im einzelnen berichten und gelegentlich auch einige Stadien aus der Spermatogenese anderer Mollusken, welche wir Gelegenheit gehabt haben kennen zu lernen, zum Vergleich herausgreifen. In dieser Arbeit werden wir uns aber nicht nur darauf beschränken, über den Golgi-Apparat und das Vacuome der Geschlechtszellen zu berichten, sondern wir werden auch die erwähnten Strukturen in einer ganzen Reihe somatischer Zellen von *Helix* beschreiben und sie mit denjenigen der Geschlechtszellen vergleichen. Wir wollen uns weiter unten mit der Lepidosomenhypothese auseinandersetzen und bemerken hier nur, daß diese die ursprüngliche Theorie Parat's nicht nur nicht retten kann, sondern vielmehr zu unhaltbaren Konsequenzen führt. Auf eine dieser Konsequenzen wollen wir hier aufmerksam machen. Diejenigen Strukturen, welche in der Spermatogenese der Insekten bis jetzt als Golgi-Apparat aufgefaßt wurden, müssen vom Standpunkte der Hypothese Parat's als Lepidosomen, also als Mitochondrien betrachtet werden. Nun sind zum Beispiel die Lepidosomen der Schmetterlinge (Hirsch-

ler 1927–28) morphologisch vollkommen identisch mit dem Golgi-Apparat der Nervenzellen von *Helix*, welcher von Parat auch als solcher anerkannt wird. Selbst der scharfsinnigste Morphologe könnte meiner Ansicht nach nicht den geringsten Unterschied zwischen den Golgi-Apparat-Elementen der Nervenzellen von *Helix* und den sogenannten Lepidosomen in den männlichen Geschlechtszellen der Schmetterlinge finden. Auch sind sie mit gleichen Methoden dastellbar. Diese vollkommen identischen Strukturen sind aber nach Parat in den Nervenzellen als Golgi-Elemente, in den Geschlechtszellen dagegen als Lepidosomen, also als Mitochondrien aufzufassen. Dies ist aber offenbar ein Irrtum. Ich möchte nur dieses Beispiel herausgreifen, obwohl sich eine ganze Reihe ähnlicher Beispiele anführen ließe. Daraus ergibt sich die Unhaltbarkeit der »Lepidosomenhypothese« und der ganzen Theorie Parat's. Ein vollgültiger Beweis aber hierfür wurde zum erstenmal erst von Hirschler (1927–28) erbracht. Dem erwähnten Forscher ist es gelungen, in männlichen Geschlechtszellen von Schmetterlingen nachzuweisen, daß das Vacuome auf einen kleinen Plasmabezirk beschränkt ist, während der Golgi-Apparat im ganzen Plasma zerstreut liegt. Damit wurde der endgültige Beweis erbracht, daß der Golgi-Apparat und das Vacuome als differente Strukturen anzusprechen sind. In dem erwähnten Falle ist es unmöglich, den Golgi-Apparat als ein Artefakt aufzufassen, dessen reale Grundlage das Vacuome wäre, denn die beiden Strukturen nehmen in der Zelle einen ganz anderen Platz ein. Später wurde von Hirschler und Hirschlerowa (1928) der Golgi-Apparat und das Vacuome zugleich im lebenden Zustande in somatischen Zellen von *Trichopteren* gesehen. Damit wurde der Theorie von Parat endgültig der Boden entzogen. Diese von Hirschler aufgestellte Ansicht wurde von einer Reihe von Forschern [Hirschlerowa (1928), Hirschler und Monné (1928), Sembrat (1928), Steopoe (1928), Sokólska (1928), Sawczyńska (1928), Gatenby (1929), Golański (1929), Poluszyński (1929) etc.]¹⁾ vollgültig bestätigt. Diese interessanten Arbeiten Hirschlers und seiner Schüler haben zur Beseitigung der Verwirrung, welche auf dem Gebiete der Cytologie herrschte, angeregt und beigetragen. Die Theorie Parat's kann

¹⁾ Auch Voinov (1927) ist der Meinung, daß Golgi-Apparat und Vacuome verschiedene Plasmakomponenten sind.

für uns heute nur historischen Wert besitzen. Wenn wir auch diese Theorie ablehnen und sie als einen mißlungenen Anhang zu seinen sonst trefflichen Untersuchungen betrachten, so wollen wir damit nicht behaupten, daß das Vacuome nach Behandlung mit Osmium- oder Silbermethoden kein dem Golgi-Apparat ähnliches Gebilde vortäuschen könnte. Wir lassen vielmehr die Möglichkeit bestehen, daß, trotzdem Vacuome und Golgi-Apparat differente Strukturen sind, das erstere nach Behandlung mit den erwähnten Methoden Apparat-ähnliche Trugbilder zum Vorschein kommen lassen kann. Indem wir alles dasjenige in den Arbeiten Parat's ablehnen, was zur berechtigten Kritik Anlaß gibt, wollen wir sein Verdienst durchaus nicht verringern, daß er als erster umfangreiche Untersuchungen über das Vacuome in tierischen Zellen durchgeführt und die Aufmerksamkeit vieler Forscher auf dieses vernachlässigte Gebiet tierischer Cytologie gelenkt hat.

Schließlich müsten wir noch bemerken, daß Parat selbst durch die Wucht der Tatsachen gezwungen, seine ursprüngliche, Hypothese einschränken mußte, wodurch aber der Gegensatz zwischen den von ihm und den von Hirschler ausgesprochenen Ansichten eigentlich vollkommen aufgehoben wurde. Parat unterscheidet nämlich neulich drei Plasmakomponenten: Chondriome ordinaire, Chondriome actif und Vacuome, wobei das Chondriome actif nichts anderes ist, als der klassische, wohlbekannte Golgi-Apparat. Ein weiterer Streit scheint uns zwecklos zu sein; er würde nämlich nur einen leeren Wortstreit bedeuten. Indessen erscheint uns die Einführung der neuen Bezeichnung »Chondriome actif« an Stelle der älteren Bezeichnung, Golgi-Apparat, welche sich in der Wissenschaft eingebürgert hat und auch historisch vollkommen berechtigt ist, zwecklos.

Seit den Untersuchungen Hirschlers (1927—28) ergibt sich für uns die Aufgabe, die Scheidung zwischen Golgi-Apparat und Vacuome in Soma- und Geschlechtszellen durchzuführen, ihr gegenseitiges Verhältnis kennen zu lernen, ihre Morphologie vergleichend zu betrachten und ihre ganze Formenmannigfaltigkeit auf ein einheitliches Schema zurückzuführen versuchen. Den Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen über den Golgi-Apparat bildete die Arbeit Hirschler's (1916) über die nämliche Struktur in den embryonalen Zellen von *Limnea*. Im Gegensatz dazu wollen wir uns mit dem Golgi-Apparat verschiedener somatischer Zellen

erwachsener Individuen von *Helix lutescens* befassen. Hirschler hat die Ansicht entwickelt, daß wir im Golgi-Apparat lamellose Gebilde vor uns haben. Unsere Untersuchungen haben uns nur in dieser Ansicht bestärkt, wir haben auch eine Anzahl Struktureigentümlichkeiten des Golgi-Apparates kennen gelernt, welche sich von diesem Standpunkt aus leicht erklären lassen und uns die Formenmannigfaltigkeit der erwähnten Plasmakomponente recht anschaulich vor die Augen führen. Wir haben einerseits Struktureigentümlichkeiten des diffusen, andererseits diejenigen des zusammengesetzten Golgi-Apparates kennen gelernt und vermittelnde Formen zwischen beiden gefunden.

Bezüglich des Vacuomes müssen wir einige Erwägungen vorausschicken. Das Vacuome ist eine vital mittels Neutralrot färbbare Plasmakomponente. Wir wissen aber, daß sich in manchen Somawie Geschlechtszellen mittels Neutralrot gar nichts färben läßt und dennoch finden wir Gebilde (Golański 1929), welche mit den sich mit Neutralrot färbenden Granulen als homolog betrachtet werden müssen, andererseits kennen wir mit Neutralrot färbbare Strukturen, welche aus verschiedenen Gründen dem Vacuome nicht gleichgesetzt werden dürfen. Daraus müssen wir den Schluß ziehen, daß die Affinität zu Neutralrot zur absolut sicheren Charakterisierung der erwähnten Strukturen nicht ausreicht, obwohl sie sich vielfach als brauchbar erwiesen hat. Das Vacuome färbt sich oft oder sogar meistens mittels Neutralrot, aber nicht immer. Deshalb müssen wir nach einem verlässlicheren Merkmal suchen. Das Vacuome steht sehr oft in engem topographischem Zusammenhang mit dem Golgi-Apparat, woraus man vielleicht auf einen genetischen Zusammenhang (Hirschler u. Hirschlerowa 1928) schließen könnte. Aber auch das trifft nicht immer zu, wie das aus den Untersuchungen z. B. von Hirschler (1927) hervorgeht. Daraus folgt aber, daß auch dieses Merkmal nicht ganz sicher ist. Da wir zur Zeit kein absolut sicheres Charakteristicum des Vacuomes kennen, müssen wir uns bei seiner Beurteilung bald mit dem einen, bald mit dem anderen begnügen, vielfach wird auch der morphologische Sinn des Forschers dabei entscheiden.

Bezüglich der Ansicht, daß die Golgi-Apparat-Elemente Sekretgranula produzieren, glauben wir, daß dies nicht unmittelbar geschieht, sondern daß die Vacuomegranula in Sekretgranula übergehen, während die ersteren wahrscheinlich vom Golgi-Apparat

gebildet werden. Die Ansicht, daß das Vacuome Sekretgranula bilde, wurde bereits von Parat (1928) geäußert. Wir glauben zwischen Sekretkörnern und Vacuome unterscheiden zu können, obwohl vielfach die Grenzen zwischen beiden recht unscharf ausfallen, weil sie allmählich ineinander übergehen. Die Sekretgranula färben sich oft nicht mit Neutralrot, im Gegensatz zum Vacuome.

Wir wollen noch die Probleme, welche wir in dieser Arbeit behandeln werden, in folgenden Sätzen zusammenfassen:

- 1) Wie läßt sich der Golgi-Apparat in den verschiedensten Zellen auf ein gemeinsames Grundschema zurückführen?
- 2) In welcher Form bietet sich uns das Vacuome?
- 3) Welches Verhältnis besteht zwischen dem Golgi-Apparat und dem Vacuome?

Schließlich möchte ich noch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Jan Hirschler für die vielen Anregungen, wertvollen Hinweise und das lebhafteste Interesse an meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

II. Material und Methoden.

Wir haben somatische Zellen von *Helix lutescens* und männliche Geschlechtszellen von *Paludina vivipara*, *Cerithium vulgare* und *Helix lutescens* sowohl im lebenden, als auch im konservierten Zustande studiert. Im lebenden Zustande, und zwar nach Behandlung mit Neutralrot, haben wir männliche Geschlechtszellen von *Octopus vulgaris*, *Chiton discrepans*, *Dentalium entalis*, *Pleurobranchia meckeli*, *Pleurophyllidia lineata*, *Spurilla neapolitana*, *Doris verrucosa* und *Lobiger serradifalci* untersucht. Aus konservierten Präparaten kennen wir auch die Spermatogenese von *Tethys leporina* und *Octopus vulgaris*. Eingehend werden wir nur unsere Untersuchungen über die somatischen Zellen von *Helix lutescens* und die Geschlechtszellen von *Paludina vivipara*, *Cerithium vulgare* und *Helix lutescens* schildern, dagegen unsere Beobachtungen bei den anderen oben erwähnten Arten nur gelegentlich besprechen.

Zur Darstellung des Golgi-Apparates der somatischen Zellen von *Helix lutescens* bedienten wir uns hauptsächlich einer von Hirschler angegebenen Modifikation der Kolatschew'schen Chrom-

Osmium-Methode. Das Fixierungsgemisch bestand aus einem Teil von 2%-iger Osmiumsäure und zwei Teilen von Chromsäure-Kaliumbichromat-Gemisch (1%-ige Chromsäure und 3%-ige Kaliumbichromatlösung zu gleichen Teilen). Osmiert wurde bei einer Temperatur 25° durchschnittlich 14 Tage lang. Diese Methode ergab vortreffliche Resultate, so daß wir uns ihrer fast ausschließlich bedienten. Zur Darstellung des Golgi-Apparates in Geschlechtszellen verwendeten wir auch dieselbe Methode. Zur Färbung des Golgi-Apparates in Geschlechtszellen diente uns die Alkohol-Hämäteïn-Methode nach Hirschler (1927) nach Fixierung in Zenkers oder in Flemmings starkem Gemisch. Auch diese Methode ergab uns sehr gute Resultate in Geschlechtszellen. Der Essigsäuregehalt wurde in den Gemischen von Zenker und Flemming auf die Hälfte herabgesetzt. Mitochondrien wurden mittels Kristallviolett nach Benda, Säurefuchsin nach Altmann und Alkohol-Hämäteïn nach Hirschler gefärbt. In der vorliegenden Abhandlung beschäftigen wir uns aber hauptsächlich mit dem Golgi-Apparat und dem Vacuome; Mitochondrien sollen nur ganz kurz besprochen werden. Wir wollen nämlich das Chondriome und die fibrillären Strukturen in einer besonderen Arbeit behandeln.

Im lebenden Zustande wurden Zellen entweder ohne jegliche Behandlung oder nach Färbung mit vitalen Farbstoffen Neutralrot und Janusgrün untersucht. Bei Landtieren wurden sie in physiologischer 0·65%-iger Kochsalzlösung, bei Meerestieren in Seewasser untersucht. Vitale Farbstoffe wurden entweder in physiologischer 0·65%-iger Kochsalzlösung oder in Seewasser gelöst, und zwar wurden 0·01%-ige (1:10.000) – 0·025%-ige (1:4.000) Neutralrotlösungen und 0·01%-ige oder schwächere Janusgrünlösung benützt. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß es unmöglich ist, Lepidosomen mittels 0·01%-igen und viel schwächeren Janusgrünlösungen vital zu färben, verwendeten wir ausnahmsweise stärkere (0·025%) Lösungen, aber auch diesmal ohne Erfolg, wenn die Zellen dabei überhaupt am Leben geblieben waren.

Somatische Zellen von *Helix lutescens* färbten wir mittels Neutralrot, indem wir entweder die Tiere mit in Neutralrotlösung getränkter Semmel fütterten oder große Organstücke in eine Petrischale mit 0·01%—0·025%-iger Neutralrotlösung auf 5—20 Minuten brachten und nachher Zupfpräparate in 0·65%-iger physiologischer Kochsalzlösung herstellten. Beide Verfahren erwiesen

sich als vorzüglich. Die mit Neutralrot gefütterten Tiere hielten sich ausgezeichnet, ohne die geringste Krankheitserscheinung zu zeigen.

III. Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in somatischen Zellen von *Helix lutescens*.

I. Darmepithel.

Wir untersuchten zwei Abschnitte des Darmes, und zwar denjenigen, welcher vor der Einmündung der Leber in deren Nähe gelegen ist, und den Dünndarm, also den hinter der Einmündung der Leber gelegenen Teil. Im Darm konnten wir drei Zellarten unterscheiden und zwar; 1) flimmernde Zylinderzellen, 2) flimmerlose Zylinderzellen, 3) Drüsenzellen. In beiden von uns untersuchten Darmabteilungen kommen alle drei Zellarten vor, nur sind im Dünndarm die allermeisten Zylinderzellen mit Flimmern bedeckt, dagegen findet man in dem vor der Leber gelegenen Darmabschnitte nur wenige Flimmerzellen.

Wir wollen die uns hier interessierenden Plasmakomponenten der flimmernden und der flimmerlosen Zellen gemeinsam betrachten, weil sie in den beiden Zellarten keine bedeutenderen Unterschiede aufweisen. Die Golgi-Apparat-Elemente scheinen vielleicht in Flimmerzellen verhältnismäßig zahlreicher zu sein, als in den flimmerlosen; in den letzteren zeigen sie auch die Tendenz, manchmal zu netzartigen Bildungen zusammenzutreten. In allen von uns untersuchten Präparaten mußte der Golgi-Apparat in den meisten Zellen dem diffusen Typus (Taf. 8, Fig. 8, 9) gezählt werden, nur in wenigen vereinigten sich die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente zu einem mehr oder weniger komplexen Gebilde (Taf. 9, Fig. 44). Wir meinen, daß die Tendenz der Golgi-Apparat-Elemente, sich miteinander zu vereinigen, vielleicht individuelle Schwankungen zeigt. Sie ist vielleicht nicht nur in den einzelnen Zellen, sondern auch in den einzelnen Darmabschnitten, oder sogar Individuen und Arten verschieden. Wir begnügen uns aber damit, diese Frage nur zu streifen.

Die Golgi-Apparat-Elemente sind im lebenden Zustande unsichtbar. Sie sind verhältnismäßig klein, gewöhnlich oval oder kreisrund, manchmal etwas unregelmäßig. Der vom Apparat-Externum gebildete, sich tiefschwarz mit Osmium tingierende Umriss umschließt

eine graue Fläche. Je nach der Imprägnation ist diese Fläche bald hell, bald dunkelgrau, bis fast schwarz. Von der Seite betrachtet, sieht das Golgi-Apparat-Element wie ein Strich aus, welchem bald einer- bald beiderseits ein grauer Schatten zugesellt ist. Manchmal fehlt der erwähnte Schatten vollständig. Er scheint in der Mitte des Striches etwas stärker als an seinen Endpunkten zu sein. Wir glauben auf Grund dieser Befunde im Golgi-Apparat-Element, ein Gebilde von der Gestalt einer bikonvexen Linse erblicken zu dürfen. Eine eingehendere Analyse der Gestalt eines Golgi-Apparat-Elementes versuchen wir bei Gelegenheit seiner Besprechung in Darmdrüsenzellen, wo diese Gebilde besonders groß sind und alle Strukturdetails in musterhaft klarer Weise hervortreten. Auf der Fläche der Golgi-Apparat-Elemente, und zwar an deren Rande, kann man manchmal kleine osmiophile Granula von Zentriolengröße sitzen sehen. Die meisten Golgi-Apparat-Elemente liegen über dem Zellkern, wenige zu seinen Seiten.

Wie schon erwähnt wurde, können sich die Golgi-Apparat-Elemente miteinander vereinigen. Im einfachsten Fall vereinigen sich zwei Plättchen, so daß sie, von der Seite betrachtet, einen etwas längeren Strich bilden; vereinigen sich mehrere, so erhalten wir einen langen Faden; liegen sie nicht in ein und derselben Ebene, so ist er in verschiedenen Richtungen umgebogen. Je nachdem eine solche Plättchenreihe von oben oder von der Seite aus betrachtet wird, sehen wir bald ein band- bald ein fadenartiges Gebilde. Wenn sich solche band-, eventuell fadenartige Gebilde miteinander umschlingen, so erhalten wir netzähnliche Strukturen. Zwischen einem ausgesprochen netzartigen und einem diffusen Golgi-Apparat können wir in den einzelnen Zellen eine ganze Reihe von Zwischenstufen bemerken. Netzartige Gebilde können aber auch auf eine andere Weise entstehen, wie wir es im Dünndarm beobachtet haben. Während im vorigen Fall die Golgi-Apparat-Elemente die Tendenz hatten, sich reihenweise zu vereinigen, entstehen hier flächenhafte Gebilde. Einen ähnlichen, im Receptaculum seminis und in seinem Ausführungsgang beobachteten Fall wollen wir später schildern; während im ersteren Organ die Golgi-Apparat-Elemente eher die Tendenz haben, sich reihenweise zu vereinigen, entstanden im letzteren flächenhafte Gebilde. Während wir in diesem Fall davon überzeugt sind, daß dies den vitalen Verhältnissen entspricht, können wir das-

selbe bezüglich des Darmepithels nicht ohne weiteres behaupten. Verbinden sich die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente in den verschiedensten Richtungen mehr oder weniger innig miteinander und schwärzen sich intensiv nur die von den Externa gebildeten Umrisse, so erhalten wir ausgesprochen netzartige Gebilde. Neben solchen Netzen, welche bald größer, bald kleiner sein können, je nachdem sie aus einer größeren oder geringeren Anzahl von Plättchen bestehen, bemerken wir auch vereinzelte Golgi-Apparat-Elemente, bei welchen nur die von der Externa gebildeten Umrisse geschwärzt sind und welche, von der Seite betrachtet, wie kurze Striche aussehen. Zwischen großen, netzartigen Gebilden und einzelnen Plättchen kann man eine ganze Reihe von Zwischenstufen sehen, also zwei, drei und nochmehr miteinander vereinigte Plättchen. Wie schon eingangs erwähnt wurde, ist bei der Beurteilung der faden- und netzartigen Strukturen in Darmepithelzellen eine gewisse Vorsicht geboten. Wir dürfen nämlich nicht alles, als dem vitalen Zustande entsprechend hinnehmen. Es mag sein, daß die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente je nach Zelle, Darmabschnitt, Individuum oder sogar je nach der Art, weiter oder dichter nebeneinander liegen, sich berühren oder sogar sich miteinander vereinigen können, aber die gleiche Wirkung kann auch durch unzulängliche Fixierung entweder des ganzen Stückes, seiner Teile oder gar einzelner Zellen hervorgerufen worden sein. Indessen dürfte man bei gewisser Vorsicht gut unterscheiden, was dem vitalen Zustande tatsächlich entsprechen könnte, und was auf Rechnung der Unvollkommenheit der Methode zu setzen ist. In Abb. 44, Taf. 9. haben wir ein solches Gebilde zur Darstellung gebracht, von welchem wir überzeugt waren, daß es dem vitalen Zustande entsprach. Wir sahen aber auch andere, anders gestaltete, netzartige Gebilde, von denen wir dasselbe behaupten konnten. In den meisten Fällen waren die Plättchen reihenweise miteinander vereinigt. In anderen Fällen aber, wo sie zwar auch Reihen bildeten, aber mehr verschwommen oder unscharf erschienen, konnten die netz- und fadenförmigen Strukturen zweifellos als Artefakte angesprochen werden. Dasselbe gilt von allen flächenhaften Gebilden, welche in Darmepithelzellen in Netzform auftraten. Das Resultat unserer Erwägungen ist also folgendes: Der Golgi-Apparat tritt in Darmepithelzellen zumeist in diffuser Form auf. In manchen Zellen

vereinigen sich die Golgi-Apparat-Elemente reihenweise und bilden faden- bis netzartige Gebilde. Die Tendenz, sich zu vereinigen, ist vielleicht je nach Zelle, Darmabschnitt, Individuum oder sogar Art verschieden. Obwohl in einer Anzahl von Fällen durch Vereinigung von Golgi-Apparat-Elementen entstandene faden- oder netzartige Gebilde tatsächlich vitalen Verhältnissen entsprechen, können sie in vielen anderen Fällen durch die Wirkung der Fixierung künstlich hervorgebracht worden sein. In manchen Fällen vereinigen sich also die Golgi-Apparat-Elemente tatsächlich, in anderen Fällen aber ballen sie sich unter dem Einfluß der Fixierung zusammen.

Das Vacuome färbt sich mittels Neutralrot. Es muß mit Nachdruck hervorgehoben werden, daß im Darmepithel, in welchem der Resorptionsprozeß in vollem Gange ist, nur dann Färbungen mittels Neutralrot erzielt werden konnten, wenn den Tieren vorher mit Neutralrotlösung getränkte Semmel als Futter verabreicht worden war, und wenn man diese in einem entsprechenden Zeitpunkt nach Genuß der Nahrung tötete und untersuchte. Untersucht man die Zellen des Darmtractus einer Schnecke, welcher bereits leer ist, und zwar am besten den Darm eines Tieres, welches einige Tage gefastet hatte, so sehen wir über, oder über und unter dem Zellkern vereinzelte, glänzende, kleine Granula. Betrachtet man dagegen die gleichen Zellen einer wohlgenährten Schnecke, so bemerken wir große, glänzende Granula über dem Zellkern, oder über demselben und zu seinen Seiten oder über dem Zellkern, zu seinen Seiten und unter demselben, oder sie befinden sich endlich unter dem Zellkern in viel reichlicherer Menge als darüber. Bald sind diese Granula in geringerer Anzahl, bald in sehr großer Menge vorhanden. Wir nehmen an, daß diese Bilder als Stadien des Resorptionsprozesses zu deuten sind. Je intensiver das Darmepithel resorbiert, desto dichter ist es von diesen glänzenden Kügelchen erfüllt; parallel mit dem Abflauen des Resorptionsprozesses geht die Abnahme der Anzahl dieser Granula vor sich, und im Augenblick seiner Beendigung können wir nur kleine über dem Zellkern gelagerte Granula erkennen. Im Dünndarm und Enddarm sind diese Granula entweder un- deutlich, oder überhaupt unsichtbar. Alle diese Granula färben sich mittels Neutralrot (Taf. 10. Fig. 48, 49, 50), sie sind somit mit dem Vacuome identisch. Nach Behandlung mit Neutralrot quellen

die Vacuome-Granula gewöhnlich auf. Im lebensfrischen Zustande sind die Grenzen der Vacuome-Elemente scharf umschrieben. Im Enddarm, wo wir das Vacuome ohne Färbung nicht sehen konnten, kommt es nach Behandlung mit Neutralrot sehr gut zum Vorschein.

Das Vacuome (Taf. 10, Fig. 48, 49, 50) schwärzt sich auch mit Osmium (Taf. 8, Fig. 14, 15), aber viel schwächer als der Golgi-Apparat, und zwar sieht es anders aus in nicht resorbierenden und anders in solchen Zellen, welche sich in voller Resorption befinden. In nicht resorbierenden Zellen tritt es in der Gestalt kleiner Kügelchen auf, welche sich mit Osmium gewöhnlich nur sehr schwach schwärzen. Nicht selten bleiben diese Kügelchen (Vacuome) völlig ungefärbt, während sich der Golgi-Apparat mit Osmium intensiv schwärzt, in anderen Fällen ist es dagegen umgekehrt. Sehr oft sind beide Komponenten, also die erwähnten Kügelchen und der Golgi-Apparat in ein und derselben Zelle ausgezeichnet sichtbar, wobei die ersteren viel schwächer geschwärzt sind als der letztere (Taf. 8, Fig. 9). Selten sind diese Kügelchen fast ebenso intensiv tingiert wie der Golgi-Apparat (Taf. 8, Fig. 15). Diese Kügelchen fallen topographisch mit dem durch Neutralrot darstellbaren Vacuome vollkommen zusammen, und wir sind infolgedessen von ihrer Identität vollkommen überzeugt. In konserviertem Zustande sind die Vacuome-Elemente aber beträchtlich kleiner als im lebenden. Die Vacuome-Elemente kontrahieren sich also unter dem Einfluß der Fixierung mit Osmiummethoden, während sie nach Behandlung mit Neutralrot ein wenig aufquellen, eine Erscheinung, welche wir an anderem Material und auch bezüglich anderen Strukturen oft bemerkt haben. Da wir den Golgi-Apparat und das Vacuome in ein und derselben Zelle nebeneinander sehen können, müssen wir sie folglich als differente Struktur-Elemente streng auseinanderhalten. Auf Vacuome-Kügelchen in nicht resorbierenden Zellen kann man ein kappenartiges oder kugeliges, sich tiefschwarz mit Osmium färbendes Gebilde von Zentriolengröße sitzen sehen (Taf. 8, Fig. 14). In vitalem Zustande ist das Vacuome-Element vollkommen homogen, nur in osmierten Präparaten sehen wir, daß es aus einer osmiophoben Kugel und einer osmiophilen Kappe besteht. Ebenso vermischen wir in konservierten Präparaten, in Zellen, welche sich in voller Resorption befinden, eine solche Heteroge-

neität der Vacuome-Elemente. In den erwähnten Zellen sind die Vacuome-Kügelchen groß und zahlreich: mit Osmium färben sie sich sehr schwach, ungefähr so wie Fettkügelchen. Wir können also eine Veränderung im Vacuome wahrnehmen, welche Hand in Hand mit dem Resorptionsprozesse einhergeht. Die kleinen Kügelchen, welche auf ihrer Oberfläche eine osmiophile Kappe erkennen lassen, schwellen zu beträchtlicher Größe an, verlieren das auf ihrer Oberfläche liegende kappenförmige Gebilde und färben sich viel schwächer mit Osmium. Dies sind die Veränderungen, welche im Laufe des Resorptionsprozesses am Vacuomekügelchen wahrnehmbar sind. Im Laufe des Resorptionsprozesses wächst auch die Zahl der Vacuome-Elemente. Vielleicht wird das Vacuome vom Golgi-Apparat produziert. Für diese Meinung spricht die Beobachtung, daß wir ab und zu kleine osmiophile Granula von Zentriolengröße den Golgi-Apparat-Elementen anliegen sahen. Vielleicht sind diese Granula in Bildung begriffene Vacuome-Elemente, welche sich später loslösen und zu normaler Größe allmählich heranwachsen. Wir glauben, daß die Rolle des Vacuomes in Darmepithelzellen darin besteht, daß es die resorbierten Stoffe auffängt und kondensiert, um sie später wieder weiter zu geben. Vielleicht erleiden diese Stoffe irgend eine Veränderung unter dem Einfluß dieses Organellums. Das Vacuome scheint also die Fähigkeit zu haben, resorbierte Stoffe aufzuspeichern.

Die Mitochondrien treten in Darmepithelzellen in reichlicher Menge auf. Sie bilden eine große, äußerst dichte kappenförmige Ansammlung, mit welcher sie das Vacuome über dem Zellkern einhüllen. Nimmt das Vacuome an Masse zu, so wird diese Mitochondrien-Kappe gegen die Zelloberfläche gedrängt. Auch in anderen Partien der Zelle sind die Mitochondrien zahlreich, aber nirgends so dicht gedrängt, wie in der erwähnten Kappe. Sie bilden auch mit Vorliebe eine dichtere Schichte unter der Zelloberfläche, auch sind sie unter dem Zellkern recht zahlreich. Die Mitochondrien sind kugel-, ei-, oder kurzstäbchenförmig. Stäbchenförmige Mitochondrien werden vorzugsweise unter dem Zellkern angetroffen.

Wir konnten auch Tonofibrillen beobachten. Mit Fibrillen und Mitochondrien wollen wir uns, wie schon eingangs erwähnt wurde, in einer Sonderabhandlung eingehender befassen.

Die Drüsenzellen (Taf. 8, Fig. 13) sind in dem vor der Leber gelegenen Darmabschnitt von flaschenförmiger Gestalt, ihr erweiterter Teil birgt den Zellkern, welcher vor dem Sekretionsprozeß regelmäßig rund oder etwas oval ist, später aber seine Gestalt in eine immer weniger regelmäßige verwandelt. Der ausführende Teil der Drüsenzelle ist lang, dünn und am Ende etwas erweitert. In Drüsenzellen des Dünndarmes ist der Gegensatz zwischen dem ausführenden Teil und dem Zellkörper nicht mehr so ausgeprägt. Die Zellen sind mehr keulen- und becherförmig.

Der Golgi-Apparat (Taf. 8, Fig. 13), welcher immer vollkommen diffus ist, liegt unterhalb des Zellkernes und diese merkwürdige Lage behält er während des ganzen Sekretionsprozesses bei. Nur selten findet man vereinzelt Golgi-Apparat-Elemente seitwärts, oder über dem Zellkern liegen. Dies kommt verhältnismäßig öfter bei den Drüsenzellen des Dünndarmes, als bei denjenigen der vor der Leber gelegenen Darmabteilung vor. Die Golgi-Apparat-Elemente können im vitalen Zustande nicht mit Sicherheit gesehen werden. In jungen Zellen sind sie sehr regelmäßig oval oder kreisrund, verhältnismäßig sehr groß; in Zellen dagegen, welche das Sekret schon zu bilden beginnen, werden die Golgi-Apparat-Elemente mehr unregelmäßig. Ihre Struktur wollen wir näher ins Auge fassen.

Das Apparat-Externum bildet einen dicken, sehr scharf hervortretenden Ring, welcher eine Fläche umgibt, die bald grau, bald mehr schwärzlich gefärbt, oft aber weiß ist. Manchmal ist ein solcher Ring unterbrochen, was wir aber als ein Artefakt aufzufassen geneigt sind. Von der Seite betrachtet, erscheint das Golgi-Apparat-Element als ein tiefschwarzer, scharfer, verhältnismäßig dicker Strich, welchen bald auf einer, bald auf beiden Seiten ein sehr deutlicher Schatten begleitet. Dieser Schatten ist in der Mitte des Striches verhältnismäßig dick, dagegen an seinen Enden viel dünner. Er ist also deutlich gewölbt. Ist der Schatten nur auf der einen Seite vorhanden, so ist er gewöhnlich dicker. Wir glauben also zur folgenden Deutung dieser Befunde gezwungen zu sein: Das Golgi-Apparat-Element ist eine bikonvexe Linse mit einem ringförmigen Falz auf ihrer Kante und besteht aus einem von einer Membran umschlossenen Raum. Der ringförmige Falz zwingt diese Membran, stets ihre Gestalt zu bewahren. Der ringförmige Falz tingiert sich am intensivsten

mit Osmium; er ist also osmiophil im Gegensatz zur Linse, welche mehr osmiophob ist. Diese Linse schwärzt sich zwar auch mit Osmium, aber viel schwächer als der Falz; infolgedessen sehen wir oft, wenn wir das Golgi-Apparat-Element von der Fläche betrachten, daß der erwähnte Ring eine graue bis fast schwarze Fläche umgrenzt. Diese Fläche ist aber nichts anderes als die osmiophobe Linse, d. h. das Apparatinternum. Wenn wir das Golgi-Apparat-Element von der Seite betrachten, so sehen wir einen tiefschwarzen Strich, also den Falz, welcher bald einer- bald beiderseits von einem grauen Schatten, welcher nichts anderes ist als die konvexen Flächen der Linse, begleitet wird. Steht das Golgi-Apparat-Element ganz genau senkrecht, so sehen wir den Schatten (also die osmiophobe Linse) beiderseits, steht es ein ganz wenig schief, so ist der Schatten von der einen Seite mehr gewölbt, als von der anderen; steht es noch mehr schräg, so bekommen wir den Schatten nur von der einer Seite zu sehen. Bleibt die osmiophobe Linse ungefärbt, so sehen wir keinen Schatten. Ist die Linse stark gewölbt, so ist der Schatten breit, ist sie schwach gewölbt, so ist er schmal. Ebenso ist der Schatten breiter, wenn die Linse gequollen ist, dagegen schmaler bei geschrumpfter Membran; wir wollen hier noch eine Tatsache anführen, welche in den Drüsenzellen des Uterus besonders frappant ist: auf der grauen vom tiefschwarzen Ringe umschlossenen Fläche erscheinen verschiedene dunklere, der Form nach äußerst mannigfaltige Linien, welche wir als Runzeln der Membran des Golgi-Apparat-Elementes aufzufassen geneigt sind. In diesen Runzeln glauben wir einen Beweis erblicken zu können, daß die Linse tatsächlich von einer Membran umschlossen ist. Der osmiophobe Teil des Golgi-Apparat-Elementes, also die Linse, ist das Apparat-Internum in der Nomenklatur Hirschler's, der Falz dagegen ist das Externum. Das Golgi-Apparat-Element ist ein Zellbestandteil, welcher die Tendenz zeigt, bei möglichst kleinem Volumen eine möglichst große Fläche einzunehmen. Dieses Postulat ist bei lamellenartigen Körpern vollkommen, bei linsenförmigen zum großen Teil erfüllt. Der ringförmige Falz ermöglicht die Erfüllung dieses Postulates, denn er zwingt die Membran der Linse, stets ihre Gestalt zu bewahren. Das kugelförmige Vacuome-Element hat dagegen beim möglichst großen Volumen eine möglichst kleine Fläche.

An der Fläche mancher Golgi-Apparat-Elemente, und zwar in der Nähe ihres Randes haften osmiophile Granula, gewöhnlich in Einzahl, sehr selten zu je zwei oder drei. Diese Kügelchen können bald größer, bald kleiner sein. Wir hatten Gelegenheit, schöne und verhältnismäßig große Kügelchen in einigen Drüsenzellen des Dünndarmes zu sehen. In stark gebleichten Präparaten sah man diese Kügelchen als tiefschwarze Körperchen auf grauem Grunde, dem Golgi-Apparat-Element, sitzen (Taf. 8, Fig. 18, 19, 20). In Zellen, welche im Anfangsstadium des Sekretionsprozesses stehen, scheinen sie öfters vorzukommen, als in jüngeren. Wir glauben, daß diese Kügelchen den an den Golgi-Apparat gebundenen Vacuome-Elementen entsprechen. Wir müssen jedoch mit Nachdruck hervorheben, daß wir diese Kügelchen in unseren Präparaten nur in seltenen Fällen sahen.

2. Zwittergang.

Im Zwittergang konnten wir drei verschiedene Zellarten unterscheiden, und zwar: 1) Flimmerzellen (Taf. 8, Fig. 3), 2) zylindrische, flimmerlose Zellen (Taf. 8, Fig. 4), welche zwischen Flimmerzellen und Zellen der nächsten (3) Kategorie liegen, 3) große, flimmerlose Zellen (Taf. 8, Fig. 1, 2). Die flimmerlosen Zellen überwiegen der Zahl nach beträchtlich über Flimmerzellen. Auf einem Querschnitt durch den Zwittergang nehmen Flimmerzellen einen verhältnismäßig geringen Bruchteil des Umfanges ein. Die Flimmerzellen sind zylindrisch bis kubisch, die Zellen der zweiten Kategorie sind verhältnismäßig hoch zylindrisch. Die Zellen der dritten Art, welche die Hauptmasse des Epithels des Zwitterganges ausmachen, sind bald niedrig zylindrisch, bald kubisch, bald flach. In denjenigen Teilen des Zwitterganges, welche ein enges Lumen besitzen, sind die letztgenannten Zellen mäßig hoch, zylindrisch; je breiter das Lumen, desto niedriger werden sie, bis sie schließlich in den breitesten Teilen ganz flach werden. Die Gestalt der zwei ersten Zellarten unterliegt dagegen bemerkbaren Variationen. Die zwei ersten Zellarten sind verhältnismäßig klein, im Gegensatz zur dritten, welche verhältnismäßig sehr groß ist und sich durch einen entsprechend großen Zellkern auszeichnet. Alle Zellen besitzen einen verhältnismäßig breiten Kutikularsaum.

Wir werden uns hauptsächlich mit dem Golgi-Apparat und Vacuome der Zellen der dritten Art befassen. Der Golgi-Apparat ist diffus. Eine Vorstellung von der Verteilung der Golgi-Apparat-Elemente in der Zelle geben uns die Abbildungen 1 und 2 in Taf. 8. Der Golgi-Apparat liegt gewöhnlich über dem Zellkern oder über ihm und zu seinen Seiten oder nur von einer Seite, besonders oft bei abgeflachten Zellen. Überhaupt ist seine Lage in den Zellen der dritten Kategorie recht veränderlich, was zweifellos davon abhängt, ob sie zylindrisch oder mehr oder weniger abgeflacht sind. In seltenen Fällen sind alle Golgi-Apparat-Elemente auf einen einzigen Plasmabezirk beschränkt, wo sie so dicht nebeneinander liegen, daß die einzelnen Elemente nur schwer voneinander geschieden werden können; sie bilden also ein einziges idiosomartiges Gebilde. Sie liegen nur dicht nebeneinander, ohne sich zu vereinigen oder zusammenzufließen. Die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente sind ringförmig, wenn man sie von der Fläche, dagegen stäbchenförmig, wenn man sie von der Seite betrachtet. Wir sind aber fest überzeugt, daß sie keine wahren Ringe sind, sondern kreisförmige, ovale, manchmal auch etwas im Umriß unregelmäßige Lamellen, deren Peripherie sich viel intensiver mit Osmium schwärzt, als das Innere. Als einen Beweis dafür wollen wir die Tatsache anführen, daß das Innere des Ringes sich fast immer mehr oder weniger mit Osmium schwärzt. Wir müssen aber noch bemerken, daß sich das Innere des Ringes in manchen Fällen mit Osmium gar nicht schwärzt. Das Golgi-Apparat-Element besteht also aus dem osmiophilen Ring, dem Apparat-Externum und dem osmiophoben Internum, welches sich mit Osmium bald ziemlich intensiv, bald schwach, bald gar nicht färbt. Auch in diesen Zellen sehen wir den bekannten Schatten, wenn wir das Golgi-Apparat-Element von der Seite betrachten. Bald befindet sich der Schatten auf einer, bald auf beiden Seiten, bald fehlt er vollkommen. Nur ist hier der Schatten sehr schmal, oft kaum sichtbar. Wir müssen also diese Befunde in derselben Weise deuten wie in den Darmdrüsenzellen. Das Golgi-Apparat-Element ist in den Zellen des Zwitterganges eine ganz flache Linse, auf deren Kante sich ein osmiophiler Falz befindet. Wir wollen noch eine andere Deutung der Entstehung des osmiophilen Ringes in Betracht ziehen. Das Golgi-Apparat-Element ist eine flache Linse, welche auf ihrer Oberfläche von einer Membran umkleidet ist.

Diese Membran platzt unter dem Einfluß von Fixierungsmethoden und zieht sich auf die Peripherie der Linse zurück, wo sie den osmiophilen Ring bildet. Es ist schwer mit Sicherheit zu entscheiden, ob man der ersten oder der zweiten Deutung den Vorzug geben soll, wir stehen an der Grenze der Leistungsfähigkeit zytologischer Arbeitsmethoden. Aber jedenfalls müssen wir die Existenz eines Reifens, welcher die linsenförmige Membran zwingt, ihre Gestalt beizubehalten, annehmen. Übrigens, sind die beiden Erklärungsweisen miteinander nicht unvereinbar. Der osmiophile Ring könnte ganz gut nicht nur vom peripheren Reifen, sondern auch von der geplatzen Membran zugleich gebildet werden. Wir haben also auf drei Erklärungsmöglichkeiten des osmiophilen Ringes aufmerksam gemacht: 1) Der osmiophile Ring ist ein peripherer Reifen; 2) der osmiophile Ring ist eine geplatze und auf die Peripherie zurückgezogene Membran; 3) der osmiophile Ring ist die Summe des peripheren Reifens und der auf die Peripherie zurückgezogenen Membran. Uns scheint die erste und vielleicht die dritte Deutung die wahrscheinlichste zu sein. Wir werden in den Drüsenzellen des Uterus einen Fall beschreiben, welcher viel eher mit der ersten als mit der dritten Deutung vereinbar ist. Vielleicht ist in manchen Fällen die erste, in anderen wieder die dritte Deutung zutreffend.

In Flimmerzellen fließen die Golgi-Apparat-Elemente teilweise in ein über dem Zellkern gelagertes, idiosomartiges Gebilde zusammen (Taf. 8, Fig. 3). In den erwähnten Zellen kann aber der Golgi-Apparat auch diffus sein; gewöhnlich sehen wir aber eine größere oder geringere Annäherung an den komplexen Typus.

In Zellen der zweiten Art ist der Golgi-Apparat gewöhnlich diffus, nur sind die einzelnen Elemente im Umriß mehr oder minder unregelmäßig, und manchmal fließen einige von ihnen in ein einheitliches Ganzes zusammen (Taf. 8, Fig. 4).

Vital ist der Golgi-Apparat unsichtbar. Im lebenden Zustande ohne Behandlung mit vitalen Farbstoffen sind glänzende Kügelchen, welche über dem Kern oder unter oder über demselben und zu seinen Seiten oder nur zu seinen Seiten oder im ganzen Zelleib zerstreut liegen, sichtbar. In manchen Zellen konnten wir diese Kügelchen nicht sehen. Sie sind auch in osmierten Präparaten neben dem Golgi-Apparat in ein und derselben Zelle sichtbar; sie bleiben aber stets nur grau gefärbt (Taf. 8, Fig. 1,

2). Die Anzahl dieser Kugeln scheint in den einzelnen Zellen veränderlich zu sein.

Das Vacuome färbt sich mittels Neutralrot (Taf. 10, Fig. 45, 46, 47). In manchen Zellen waren alle im Plasma sichtbaren Kügelchen mit Neutralrot gefärbt, in anderen zwar die meisten gefärbt, einige aber ungefärbt, in anderen wieder die meisten ungefärbt, einige aber gefärbt. Wir glauben, diese Bilder als aufeinander folgende Stadien bezeichnen zu dürfen. Die Größe der Kügelchen ist verschieden. Wir glauben, daß die kleinen Granula immer stärker heranwachsen, womit ein Umwandlungsprozeß parallel einhergeht, da sie allmählich ihre Affinität zu Neutralrot verlieren.

Obwohl das Vacuome topographisch mit den auf konservierten Präparaten sichtbaren Kügelchen zusammenfällt, wagen wir nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob sie miteinander identisch sind.

Mittels Alkoholhämatein nach Hirschler konnten in Präparaten, welche in osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten konserviert waren, fibrilläre Strukturen zur Darstellung gebracht werden.

3. Spermovidukt.

Im Spermovidukt konnten wir vier Arten von Zellen unterscheiden, nämlich: 1) Drüsenzellen des Eileiters, 2) Flimmerzellen des Eileiters, 3) Flimmerzellen des Samenleiters, 4) Drüsenzellen des Samenleiters. In unserer Beschreibung sollen die drei erst-erwähnten Zellarten Berücksichtigung finden. Bei jungen Individuen entbehrt das Epithel des Spermoviduktes eines Flimmerüberzuges.

Die Drüsenzellen des Oviduktes sind groß, birnförmig. Der erweiterte distale Teil birgt den Zellkern. Dieser ist in jungen Zellen, welche im Beginn der Sekretbildung stehen, regelmäßig oval, nimmt dann aber eine sehr unregelmäßig gelappte Gestalt an. Der ausführende verschmälerte Teil der Drüsenzelle ist sehr lang, so daß man auf dünnen Schnitten fast niemals ganze Zellen zu sehen bekommt. Der ausführende Teil der Zelle ist am Ende etwas angeschwollen und mündet zwischen Flimmerzellen nach außen. Es gibt aber auch Drüsenzellen, bei welchen der Gegensatz zwischen dem breiten, distalen Teile und dem engeren

ausführenden Teile nicht so stark ausgeprägt ist. In unserer Beschreibung wollen wir uns nur auf solche Drüsenzellen beschränken, welche gerade noch im Anfangsstadium der Sekretbildung stehen.

In Fig 5. Taf. 8 ist nur der distale, birnförmige Abschnitt der Zelle dargestellt, wo auch die uns interessierenden Plasmakomponenten konzentriert sind. In diesen Zellen bietet sich uns der membranöse Charakter der Golgi-Apparat-Elemente in vollkommenster Weise. Der Golgi-Apparat ist stets diffus; seine einzelnen Elemente treten niemals miteinander in engere Berührung; sie können sowohl über als auch unter dem Zellkern, in größerer oder geringerer Entfernung von ihm liegen. Die Golgi-Apparat-Elemente erscheinen entweder als Lamellen oder als Stäbchen, und die letzteren sind nichts anderes als Seitenansichten der ersteren. Daß diese Deutung richtig ist, beweisen uns diejenigen Elemente, welche mehr oder weniger schief liegen, wovon man sich durch Drehen der Mikrometerschraube überzeugen kann, und welche ein Verbindungsglied zwischen den zwei extremen Ansichten, also der Flächen- und der Seitenansicht bilden. Beim Drehen der Mikrometerschraube sehen wir sie einmal von der Seite, ein andermal von der Fläche. Wir sind überzeugt, daß man gegen diese Deutung nicht nur nichts einwenden kann, sondern auch daß sie durch alle Beobachtungen restlos bestätigt wird. Die Golgi-Apparat-Elemente erscheinen, von der Fläche betrachtet, als scharf schwarz konturierte Lamellen (Taf. 8, Fig. 16), welche in der Mehrzahl der Fälle regelmäßig oval oder kreisrund sind. Aber man begegnet auch mehr oder weniger unregelmäßige Lamellen, die letzteren scheinen den ersteren an Zahl bedeutend nachzustehen. In den Umrissen der unregelmäßigen Plättchen, welche mehr oder minder gezackt sein können, bietet sich uns eine ziemlich große Formenmannigfaltigkeit. Auch die Größe der Golgi-Apparat-Elemente ist veränderlich. Einen Einblick in ihre Formenmannigfaltigkeit gibt uns Fig. 16, Taf. 8. Das Apparat-Externum, welches den tiefschwarzen Umriß der einzelnen Plättchen bildet, umschließt ein Internum, welches sich immer mehr oder weniger intensiv mit Osmium schwärzt. Das Internum kann sich so stark mit Osmium färben, daß der Gegensatz zwischen Externum und Internum fast aufgehoben wird. Darin sehen wir einen vollkommenen Beweis der lamellaren Gestalt des Golgi-

Apparates. In anderen Fällen aber bleibt der Gegensatz zwischen Externum und Internum bestehen, das Externum ist äußert intensiv gefärbt, das Internum dagegen sehr schwach. Es ist ein gewisser Unterschied zwischen den Golgi-Apparat-Elementen der Zwittergangs- und der Drüsenzellen des Oviduktes zu verzeichnen. Während im letzteren sich das Apparat-Internum oft derart intensiv färbt, daß der Gegensatz zwischen Externum und Internum bisweilen fast aufgehoben erscheint, färbt sich im ersteren das Internum nur schwach oder gar nicht. Infolgedessen erscheinen die Golgi-Apparat-Elemente in Zwittergangszellen auf den ersten Blick manchmal als Ringe, in Ovidukt-Drüsenzellen als Lamellen. Wenn wir die Golgi-Körper in stark ausgebleichten Präparaten studieren, so können wir vielfach beobachten, daß die Oberfläche der Interna nicht ganz glatt ist, sondern ein Faden- oder Netzwerk von grauen oder schwarzen Linien aufweist. Wie bereits erwähnt, deuten wir diese Linien als Runzeln einer Membran. Das Golgi-Apparat-Element ist, wie bereits oben ausführlicher darüber gesprochen wurde, ein linsenförmiger, auf seiner Oberfläche von einer Membran umkleideter Körper, welcher an der Kante durch einen dicken Falz verstärkt ist. Fassen wir dagegen die Seitenansichten näher ins Auge, so können wir noch einige Struktureigentümlichkeiten der Golgi-Apparat-Elemente bemerken. Wir sehen nämlich, daß der tiefschwarze Strich, also das Externum, bald einer- bald beiderseits von einem mehr oder weniger konvexen Schatten begleitet wird (Fig. 16, Taf. 8). Der Schatten ist sehr deutlich sichtbar. Sein Konvexitätsgrad ist verschieden. Der Schatten kann von der einen Seite stärker konvex sein als von der anderen Seite. Bisweilen ist der Schatten unsichtbar. Wie bereits oben erwähnt wurde, ist er nichts anderes, als das Internum. Das Golgi-Apparat-Element ist eine bikonvexe, bald stärker bald schwächer aufgeblähte Linse, wie das aus der Schwankung des Konvexitätsgrades des erwähnten Schattens hervorgeht. Die schwächer aufgeblähten Linsen lassen, meines Erachtens, Runzeln auf ihrer Oberfläche erscheinen. Das linsenförmige Golgi-Apparat-Element ist ein ziemlich dicker Körper. Die Struktur des Ringes (Apparat-Externum) und des Schattens (Apparat-Internum) wurde bereits oben näher analysiert, und infolgedessen sehen wir von einer Besprechung dieser Frage hier ab. Manchmal tritt das Golgi-Apparat-Element, von der Seite betrachtet,

nicht in Form eines einzigen Striches, sondern in Form von zwei dicht nebeneinander gelagerten parallelen Strichen auf (Fig. 16, Taf. 8). Darin wollen wir einen Vermehrungsprozeß durch Delamination eines Golgi-Apparat-Elementes erblicken. Dies scheint eine ziemlich verbreitete Erscheinung zu sein, es ist nämlich bei den Insekten vielfach beschrieben worden.

Das Innere des Spermoviduktes ist von einem Epithel bedeckt, welches bei jungen Individuen eines Flimmerüberzuges entbehrt (Taf. 8, Fig. 6), bei älteren dagegen flimmernd ist (Taf. 8, Fig. 7). Bei jungen Exemplaren ist das erwähnte Epithel ziemlich hochzylindrisch, bei älteren dagegen niedriger. Wir werden Epithelzellen des Ovi- und des Spermioduktes gemeinsam betrachten, denn die Struktur des Golgi-Apparates ist in beiden vollkommen identisch.

Der Golgi-Apparat ist vollkommen diffus, sowohl bei jungen als auch bei alten Individuen. Die Golgi-Apparat-Elemente liegen oberhalb und zu Seiten des Zellkernes. Der lammellare Charakter der einzelnen Elemente tritt deutlich zutage. Der Gestalt nach sind sie kreisrund oder oval, seltener etwas unregelmäßig. Das Apparat-Externum tritt immer sehr scharf hervor, das Internum ist immer mehr oder weniger grau gefärbt. Von der Seite betrachtet, sehen die Golgi-Apparat-Elemente wie Stäbchen aus, welche bald einer- bald beiderseits von einem schmalen, grauen Schatten begleitet sind. In seltenen Fällen vereinigen sich zwei oder drei, in einer Reihe gelegene Plättchen miteinander. Von der Seite betrachtet, können sie einen, bisweilen von dem bekannten Schatten begleiteten Faden vortäuschen. Auch in diesem Fall deuten wir den Golgi-Apparat als eine Linse, und zwar eine ganz flache.

Wir hatten Gelegenheit, in Flimmerzellen des Oviduktes auch kugelige Körperchen zu sehen. Manchmal legen sich zwei solche Körperchen so dicht nebeneinander, daß zwischen ihnen nur ein äußerst schmaler Spalt bestehen bleibt. Auf diese Weise entstehen doppelte Körperchen. Es können aber auch viele Einzelkörperchen angetroffen werden. Diese Körperchen, welche nicht in allen Zellen aufzutreten scheinen, färben sich intensiv mit Alkoholhämatein nach Hirschler, und zwar nach Zenker-Fixierung. Diese Gebilde treten deutlich nach entsprechend langer Chromierung hervor. War die Zeitdauer der Chromierung zu lang, so

muß man die bereits aufgeklebten Schnitte vor der Färbung der Einwirkung 10%-iger (oder auch einer stärkeren) Essigsäurelösung 24 Stunden lang aussetzen, um diese Körperchen intensiv färbbar zu machen. Diese Gebilde tingieren sich auch gelegentlich ziemlich stark mit Osmium und sind vielleicht Sekretionsprodukte. Ihre Genese ist uns unbekannt geblieben.

Tonofibrillen konnten mittels Alkoholhämatein nach Hirschler sichtbar gemacht werden. Sie färben sich auch gelegentlich mit Osmium.

4. Vas deferens.

Das Vas deferens ist innen mit einem hohen Flimmerepithel ausgekleidet. Auf Querschnitten sieht man, daß das Epithel Falten, welche in manchen Teilen hoch, in anderen wieder niedrig sind, bildet. Auf manchen Querschnitten sehen wir eine etwas größere, auf anderen wieder eine etwas geringere Anzahl von Falten. Die Zellen sind hochzylindrisch auf der Höhe der Falten, niedriger in der Krypten. Die Zellen besitzen eine verhältnismäßig geringe Anzahl sehr langer Flimmern. Ihre Länge ist ungefähr der Zellhöhe gleich.

In diesen Zellen ist der Golgi-Apparat (Taf. 8, Fig. 10, 12) sehr charakteristisch, er nimmt eine Mittelstellung zwischen dem diffusen und dem komplexen Typus ein. Er ist jedoch weit mehr dem ersteren, als dem letzteren Typus genähert. Der Golgi-Apparat liegt fast zur Gänze oberhalb des Zellkernes. Nur vereinzelte Teile der erwähnten Struktur können zu Seiten des Zellkernes angetroffen werden. Der Golgi-Apparat ist in ungemein reichlicher Menge vorhanden, was den Zellen ihr charakteristisches Aussehen aufprägt. Er besteht aus einer größeren Anzahl membranöser Elemente, welche in einem mehr oder weniger innigen Kontakt miteinander stehen. Daß dies richtig ist, entnehmen wir daraus, daß oft einzelne Elemente, welche mit anderen nicht im Zusammenhang stehen, angetroffen werden können. An ihnen kann ihre Struktur im einzelnen studiert werden. Manchmal können Teile des Vas deferens, in dessen Epithelzellen der Golgi-Apparat fast ebenso diffus ist, wie zum Beispiel im Darmepithel, angetroffen werden. Der Typus des Golgi-Apparates im Vas deferens ist also durch Übergänge mit dem vollkommen diffusen verbun-

den. Im einfachsten Falle ist das Golgi-Apparat-Element kreisrund, oval oder länglich oval. Das Externum bildet einen sehr scharfen, durch Osmium stark färbbaren Umriß. Das Internum schwärzt sich fast immer, aber schwächer als das Externum. Beim Bleichen wird die Farbe vom ersteren früher und leichter abgegeben, als vom letzteren. Von der Seite betrachtet, erscheint das Golgi-Apparat-Element in Gestalt eines Stäbchens, welches bald einerseits, bald beiderseits von einem dünnen Schatten begleitet ist. Vielfach fehlt der Schatten, besonders in stark ausgebleichten Präparaten. Das Golgi-Apparat-Element hat hier also ungefähr die Gestalt einer flachen Linse. Vielfach begegnet man aber sehr unregelmäßigen Golgi-Apparat-Elementen. Wir glauben, daß es seine ursprünglich einfache, kreisrunde oder ovale Gestalt verändern kann, indem es im Umriß sehr unregelmäßig, gelappt oder gezähnelte wird, oder sich auch in die Länge zieht. Die einzelnen Elemente scheinen aber in verhältnismäßig geringer Anzahl von Fällen zusammenhangslos zu bleiben; gewöhnlich vereinigen sie sich mehr oder minder innig miteinander. Sie können sich dicht nebeneinander legen, wobei ihre Grenzen entweder bestehen bleiben, oder teilweise oder auch vollkommen verschwinden. Wir meinen also, daß auf diese Weise große flächenhafte Gebilde entstehen können. Der Umriß dieser Flächen ist mehr oder weniger intensiv schwarz mit Osmium tingiert, er ist bald unterbrochen, bald kontinuierlich. Dieser Umriß umgrenzt eine grau gefärbte Fläche, auf welcher man dunklere, mehr oder weniger unscharfe Linien bemerkt. Diese großen, membranförmigen Gebilde liegen nicht immer in einer Ebene, sondern sind in verschiedener Weise umgebogen. Diese oben erwähnten Linien deuten wir entweder als erhalten gebliebene Grenzen der einzelnen Elemente, oder als Runzeln auf der Oberfläche von Membranen. Viel öfter aber vereinigen sich die Golgi-Apparat-Elemente in mehr regelmäßiger Weise, indem sie sich in einer der Höhe der Zelle entsprechenden Richtung reihenweise hintereinander legen, wobei ihre Grenzen gewöhnlich sichtbar bleiben (Taf. 8, Fig. 12), seltener ganz oder teilweise verschwinden. Verschwinden die Grenzen vollkommen, so entstehen Gebilde, welche von der Fläche betrachtet, als Bänder, von der Seite dagegen als Fäden erscheinen. Je nachdem sich mehrere solche Reihen parallel nebeneinander legen, oder sich umschlingen, wird ein fadenför-

miger oder ein dem retikulären ähnlicher Golgi-Apparat vorge-täuscht. Wir haben also manchmal mit durch die Lage der Golgi-Apparat-Elemente verursachten Trugbildern zu tun. Tatsächlich aber ist der Golgi-Apparat ein System von Lamellen, eventuell flachen Linsen. Manchmal sahen wir ganz kurze, dünne, nicht gerade scharf hervortretende Fädchen, durch welche die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente verbunden zu sein schienen. Diese Gebilde konnten unmöglich von der Seite gesehene Golgi-Apparat-Elemente gewesen sein. Ob das tatsächlich Verbindungsfäden, welche sich erhalten haben, oder Artefakte sind, wagen wir nicht zu entscheiden, das letztere scheint uns jedoch wahrscheinlicher zu sein. In sehr seltenen Fällen liegen alle Golgi-Apparat-Elemente in einem dicken Knäuel gehäuft dicht über dem Zellkerne (Taf. 8, Fig. 11). Wir begnügen uns, diese Erscheinung hier nur als einen Ausnahmefall zu erwähnen. Wenn wir die einzelnen Golgi-Körper näher ins Auge fassen, so können wir manchmal auf ihrer Fläche, und zwar in der Nähe der Kante osmiophile Granula von ziemlich verschiedener Größe sitzen sehen. Außerdem kann man zwischen den Golgi-Apparat-Elementen, jedoch nicht in allen Zellen Kügelchen sehen, welche sich mit Osmium ebenso stark färben, wie die erstgenannten Gebilde. In manchen Teilen des Vas deferens sind sie verhältnismäßig klein, in anderen mittelgroß und wieder in anderen können sie selbst zu riesigen Dimensionen heranwachsen. Selten findet man sogar eine einzige, oder nur zwei solche große Kugeln in einer Zelle. In manchen Teilen des Vas deferens sind die Zellen mit solchen Gebilden geradezu überfüllt. Mancherorts scheinen diese Körper eine gewisse Struktur zu besitzen, indem sie einen mehr osmiophilen Kern und eine mehr osmiophobe Mantelschicht erkennen lassen. Manchmal sind diese Körper etwas abgeplattet. Die Natur dieser Körper konnten wir nicht mit Sicherheit ermitteln. Wir glauben in ihnen am ehesten lipoidofere Sekretionsprodukte erblicken zu können. Diese Körper sind zugleich mit dem Golgi-Apparat in denselben Zellen sichtbar. Zellen, welche keine freien, kleinen, mittelgroßen oder großen osmiophilen Granula besitzen, sind als in den einzelnen, aufeinander folgenden Sekretionsphasen stehend zu betrachten. Außerdem konnten wir Gruppen von Kügelchen, welche über dem Zellkern oder über und unter ihm liegen, sehen. Sie färben sich nur sehr schwach

mit Osmium und können nicht überall angetroffen werden. Topographisch fallen sie ungefähr mit dem Vacuome zusammen. Ob sie jedoch mit ihm identisch sind, wollen wir nicht mit Sicherheit entscheiden.

Das Vacuome (Taf. 10, Fig. 53, 54) bildet einen über dem Zellkern liegenden Haufen von Kügelchen. Sie liegen jedoch nicht immer dicht beisammen. Manchmal sind sie etwas zerstreut und von der Kernmembran entfernt. Ob das Vacuome im vorliegenden Fall Sekretprodukte liefert, konnte von uns nicht entschieden werden.

5. Der Ausführungsgang des Receptaculum seminis.

Der Ausführungsgang des Receptaculum seminis ist mit einem ungewöhnlich hohen Zylinderepithel ausgekleidet, wobei die einzelnen Zellen sehr schmal sind und so dicht nebeneinander liegen, daß an ihrer Basis ein förmliches Gewimmel von Kernen entsteht. Infolgedessen fällt es oft schwer, die einzelnen Zellen exakt auseinanderzuhalten. Die Zellgrenzen, welche im distalen Teile scharf hervortreten, verlieren sich in der Richtung der Basis unter dem Gewimmel von Kernen. Die dem Lumen des Ausführungsganges zugekehrte Zelloberfläche ist von einem ziemlich hohen Stäbchensaum ausgekleidet. Auf Querschnitten sehen wir die epitheliale Auskleidung des Ausführungsganges in Falten zerlegt. Weiter nach außen sehen wir eine Muskellage und eine sehr dicke Bindegewebsschicht, welche hauptsächlich aus großen, blasenförmigen, sogenannten Leydigschen Zellen besteht.

Der Golgi-Apparat im Epithel des Ausführungsganges hält die Mitte zwischen dem komplexen und dem diffusen Typus, ist jedoch dem ersteren weit mehr genähert (Fig. 21, Taf. 9). In verschiedenen Teilen dieses Organs ist er jedoch verschieden. In manchen Partien bleiben die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente fast zusammenhanglos oder es vereinigen sich nur sehr wenige miteinander, in anderen Teilen wieder verschmelzen fast alle in einen einzigen membranösen Körper, wobei gewöhnlich einige wenige zusammenhangslos bleiben. Auch in diesem Organ zeigt der Golgi-Apparat seinen membranösen Charakter in sehr typischer Weise. Im einfachsten Fall sind die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente kreisrund oder oval (Fig. 22 links, Taf. 9). Das Externum bildet einen verhältnismäßig dicken, peripheren Ring, welcher sich äußerst intensiv mittels Osmium schwärzt. Die von dem er-

wähnten Ringe umschlossene Fläche färbt sich ziemlich stark mittels Osmium. Manchmal aber bleibt sie ungefärbt. Die einzelnen Elemente können aber eine Form, welche von der erwähnten regelmäßigen mehr oder weniger abweicht, annehmen und im extremsten Fall in ganz unregelmäßig gestaltete Flächen übergehen. Das Unregelmäßigwerden geht vielleicht parallel mit einem Degenerationsprozeß der Golgi-Apparat-Elemente einher. Von der Seite betrachtet (Taf. 9, Fig. 22, Mitte), erscheint uns das Einzelement als ein gerader oder etwas gebogener, scharfer, schwarzer Strich, welcher von einem Schatten begleitet wird. Dieser Schatten ist gewöhnlich einseitig, selten beiderseitig. Er ist im ersteren Fall ziemlich stark konvex. Das Golgi-Apparat-Element ist also ein ziemlich dicker Körper. Wird das Golgi-Apparat-Element unregelmäßig, so erscheint der periphere Ring zerrissen und der färberische Gegensatz zwischen dem Umriß und der Fläche tritt zurück. Die Golgi-Apparat-Elemente bleiben nur selten getrennt. Gewöhnlich treten sie untereinander in Berührung. Ihre Grenzen können entweder bestehen bleiben (Fig. 26, Taf. 9), oder sie verschwinden teilweise (Fig. 25, Taf. 9), oder vollkommen (Fig. 23, 24, Taf. 9). Die einzelnen Elemente vereinigen sich selten reihenweise, gewöhnlich aber in verschiedenen Richtungen. Auf diese Weise entstehen größere, komplizierte, membranöse Gebilde. Auf ihnen sind die Grenzen der einzelnen Elemente entweder wahrnehmbar oder nicht. Abb. 22, Taf. 9, gewährt uns einen Einblick in die Formenmannigfaltigkeit des Golgi-Apparates. Wir sehen an der erwähnten Abbildung, von links nach rechts folgend, zunächst zwei einzeln liegende, runde Golgi-Apparat-Elemente, dann drei dicht nebeneinander liegende Elemente, zwei von der Seite gesehene, drei reihenweise verbundene, sowohl von der Fläche als auch von der Seite gesehene Golgi-Apparat-Elemente, drei große, weniger regelmäßig gestaltete Körper und zwei ganz unregelmäßige, flächenhafte Gebilde, welche als durch Vereinigung einiger Elemente entstanden zu denken sind. Die letztgenannten färben sich manchmal schwächer mit Osmium und der Gegensatz zwischen dem schwarzen Umriß und der schwächer gefärbten Fläche ist oft nicht so stark ausgeprägt. In diesem Fall sehen wir auf der Oberfläche der erwähnten Membranen ein System dunkler, unregelmäßiger Linien. Solche Körper sind vielleicht dem Untergang, durch allmähliches Zerfließen

im Plasma, geweiht. Nicht nur einzelne Golgi-Apparat-Elemente, sondern auch größere durch Verbindung oder Verschmelzung der Einzelemente entstandene Membranen lassen, von der Seite betrachtet, den bekannten Schatten erkennen. Der Golgi-Apparat liegt über dem Zellkern, teilweise auch zu seinen Seiten, nur in ganz seltenen Fällen liegen einige wenige Elemente auch unter demselben. Färben sich beim komplexen Golgi-Apparat-Typus nur die Externa intensiv, während alle Flächen ungefärbt oder nur schwach gefärbt bleiben, so erhalten wir einen ausgesprochen netzartigen oder fadenförmigen Golgi-Apparat. Dieser ist nichts anderes als das allein gefärbte Apparat-Externum. Auch in dem vorliegenden Fall können manchmal derartige netzförmige Gebilde angetroffen werden. Schwärzt sich der Golgi-Apparat zur Gänze, so ist er membranös, schwärzt er sich dagegen nur teilweise — wir meinen hier das Externum — so ist er retikulär. Wir nehmen also mit Hirschler (1916) an, daß die Netztheorie des Golgi-Apparates darin ihre Erklärung findet, daß die Autoren, von welchen sie verfochten wurde, nur das Externum ins Auge faßten, dagegen das Internum vernachlässigten.

Das Vacuome (Taf. 10, Fig. 51) ist vital mit Neutralrot darstellbar. Es besteht aus einer dichten Ansammlung von Kügelchen, welche immer über dem Zellkern, seltener in einer geringeren Anzahl auch zu seinen Seiten und unter ihm liegen. Das Vacuome nimmt also in der Zelle denselben Platz ein, wie der Golgi-Apparat. Diese beiden Plasmakomponenten stehen also tatsächlich in enger Beziehung zueinander. Das Vacuome ist auch ohne Färbung als stark lichtbrechende, glänzende Kügelchen sichtbar. Nach Fixierung in Gemischen mit Osmiumsäure [1 Teil 2%-iger Osmiumsäure und 3 Teile Chromsäure-Kaliumbichromat-Gemisch (1%-ige Chromsäure, und 3%-ige Kaliumbichromat zu gleichen Teilen)] und nach Färbung mit Alkoholhämatoëin nach Hirschler tritt das Vacuome scharf als Gruppen über dem Zellkern gelagerter Kügelchen hervor. Im vorliegenden Fall sind wir von der Identität der auf konservierten Präparaten sichtbaren Kügelchen mit den sich mit Neutralrot färbenden vollkommen überzeugt. Topographisch fallen sie vollkommen miteinander zusammen. Das Vacuome wird also im vorliegenden Fall von der Fixierung nicht alteriert, wie das Parat gerne glauben möchte.

6. Receptaculum seminis.

Das Epithel des Receptaculum seminis besteht aus äußerst hochzylindrischen und schmalen Zellen, welche sehr dicht nebeneinander liegen. Der Basis genähert liegen die länglich ovalen Kerne stellenweise so dicht nebeneinander, daß sie oft zwei bis drei dicht gedrängt übereinanderliegende Reihen bilden. Auf der dem Lumen zugekehrten Zelloberfläche sehen wir einen ziemlich hohen Stäbchensaum. Das Epithel ist in ziemlich viele, sehr verschieden gestaltete Falten zerlegt. Nach außen hin sehen wir eine feine Muskellage und eine dicke Bindegewebsschicht, welche zum großen Teil aus großen, blasigen Zellelementen, den sogenannten Leydig'schen Zellen besteht.

Auch im Receptaculum seminis zeigt der Golgi-Apparat (Taf. 9, Fig. 39) einen typisch flächenhaften Charakter, jedoch sieht er anders aus als im Ausführungsgang. Der Golgi-Apparat hält die Mitte zwischen dem komplexen und dem diffusen Typus, Während im Ausführungsgang die Golgi-Apparat-Elemente eher die Tendenz haben, sich zu großen, membranösen Flächen zu vereinigen, fügen sie sich in Zellen des Receptaculum seminis eher reihenweise zusammen, so daß lange, bandförmig gestaltete Elemente entstehen. Dies ist der Unterschied zwischen den erwähnten Plasmakomponenten in den beiden Organen, welcher uns sofort in die Augen springt. Aber auch im Receptaculum seminis finden wir größere, flächenhafte Gebilde, nur sind sie viel seltener als im Ausführungsgang; ebenso können auch bandförmige Gebilde wie im letztgenannten Organ angetroffen werden, wenn auch weit seltener als in dem erstgenannten. Im Receptaculum überwiegen also sehr beträchtlich bandförmige, im Ausführungsgang flächenhafte Gebilde. In Epithelzellen des Receptaculum liegt der Golgi-Apparat oberhalb des Zellkernes, einzelne Elemente können auch zu seinen Seiten, selten auch unter ihm angetroffen werden. Manche Golgi-Apparat-Elemente bleiben zusammenhanglos, andere dagegen vereinigen sich miteinander reihenweise. Auf diese Weise entstehen lange, bandförmige Gebilde, welche für die Epithelzellen des Receptaculum seminis so charakteristisch sind.

Auch im vorliegenden Fall hat der Golgi-Apparat retikulären Charakter in Präparaten, welche nicht stark genug geschwärzt sind. Ist die Schwärzung mit Osmium genügend, so tritt sein

membranöser Charakter sehr deutlich hervor. Wie bereits eingangs erwähnt wurde, hat man sich den Golgi-Apparat als durch Vereinigung einer größeren Anzahl von Elementen entstanden zu denken. Aber nicht alle vereinigen sich miteinander zu bandartigen Gebilden. Zusammenhanglose Elemente können überall angetroffen werden. Fig. 42 u. 43 in Taf. 9 gestattet uns, ihre Struktur näher zu betrachten. Das Golgi-Apparat-Element ist entweder oval oder eckig. Im ersteren Fall umschließt ein tiefschwarzes, ovales, geschlossenes Externum eine ziemlich dunkel tingierte Fläche, das Internum; im letzteren dagegen sehen wir zwei parallele oder etwas gebogene tiefschwarz gefärbte Striche (das Externum), welche das dunkelgraue Internum begrenzen. Der letztere Typus tritt in mehreren Varianten auf. Die parallelen Striche können also dichter nebeneinander oder weiter auseinander liegen, einer von ihnen kann kürzer sein als der andere, das tiefschwarze Externum kann bald einen größeren, bald einen geringeren Teil von Umfang des Internums begrenzen. Vielleicht entstehen die mehreckigen Elemente aus ovalen dadurch, daß das Externum an zwei Punkten zerrissen wird. Auch die Größe der Elemente ist verschieden. Von der Seite gesehen, erscheinen uns die Golgi-Apparat-Elemente als tiefschwarze, gerade oder gebogene Striche, welche von einem breiteren oder schmäleren Schatten begleitet sind. Nur selten sehen wir den Schatten beiderseits. Die einzelnen Golgi-Apparat-Elemente sind also ziemlich dicke, membranöse Körper. Sie vereinigen sich reihenweise in größerer oder geringerer Anzahl. In Abb. 43 u. 42, Taf. 9 sehen wir einige solche Körper, welche durch Vereinigung von nur zwei Golgi-Apparat-Elementen entstanden zu sein scheinen. Vereinigen sie sich in größerer Anzahl, so entstehen Bänder (Taf. 9, Fig. 40, 41, 42 links). Seltener sind die Bänder so lang, wie sie Fig. 42 links auf Taf. 9 darstellt. Von der Fläche gesehen, erscheinen die Bänder als parallele, tiefschwarze Striche, die Externa, welche eine tiefgraue Fläche die Interna begrenzen; von der Seite dagegen erscheinen sie als tiefschwarze Striche, welche von einem Schatten begleitet werden. Derartige Bänder liegen in der Längsrichtung der Zelle. Manchmal sind Abschnitte auf den Bändern sichtbar, welche den einzelnen sie zusammensetzenden Golgi-Apparat-Elementen zu entsprechen scheinen. Die Breite dieser Bänder ist auch verschieden. Vital ist der Golgi-Apparat unsichtbar.

Das Vacuome färbt sich mittels Neutralrot lebhaft rostrot. Es bildet eine Gruppe nebeneinander, gewöhnlich über dem Zellkern liegender Kugeln. Auf konservierten Präparaten konnten wir das Vacuome nicht mit Sicherheit beobachten.

Mitochondrien wurden mittels Kristallviolett nach Benda, Säurefuchsin nach Altman und Alkoholhämatein nach Hirschler gefärbt. Sie sind im ganzen Plasma zerstreut und bilden manchmal unter der freien Zelloberfläche eine dichtere Ansammlung. Mitochondrien sind granulär, manchmal biscuit- oder hantelförmig, seltener fadenförmig.

7. Das Bindegewebe.

Wir haben Gelegenheit gehabt, dasjenige Bindegewebe, welches das Receptaculum seminis bei *Helix pomatia* und *H. lutescens* umhüllt, zu studieren. Bei der ersterwähnten Art konnten wir im Bindegewebe zwei Zellarten, nämlich große, blasenförmige, sogenannte Leydig'sche Zellen, welche seine Hauptmaße ausmachen, und andere, welche in geringerer Anzahl vorhanden, nicht blasig, sondern rund, länglich-oval, bis fast spindelförmig sind, unterscheiden. Bei der zweiten Art dagegen haben wir im Bindegewebe fast ausschließlich blasige Zellen gefunden, nicht blasige dagegen haben wir nur in sehr geringer Anzahl angetroffen. Bei beiden Helixarten, sowohl in blasigen, als auch in nicht blasigen Bindegewebszellen, ist der Golgi-Apparat sehr interessant, weil er fast identisch mit demjenigen der Geschlechtszellen ist; er ist komplex, ein ausgesprochen idiosomartiges Gebilde. Hirschler (1916) hat bereits einen komplexen Golgi-Apparat in embryonalen Bindegewebszellen von *Limnea* beschrieben.

Die Leydig'schen Zellen sind blasige, runde, ovoide oder in die Länge gezogene Bindegewebelemente von verschiedener Größe. Das Plasma bildet einen Wandbelag; das Innere, welches von einer Vakuole eingenommen wird, ist von einem Gerüstwerk plasmatischer Fäden durchzogen. Innerhalb einer etwas größeren, wandständigen Plasmaansammlung liegt der kugelige, ovoide oder in die Länge gezogene Zellkern. Nicht blasige Bindegewebszellen und ihre Kerne sind auch rund, ovoid oder in die Länge gezogen, sie entbehren jedoch einer zentralen Vakuole.

Das Vacuome färbt sich sehr leicht mittels Neutralrot (Taf. 10, Fig. 55, 56, 57, 58, 59, 60). Es besteht aus einer größeren Anzahl kleiner, an verschiedenen Stellen innerhalb des Zellkörpers gelegener Vakuolen. Entweder liegen sie vollkommen zerstreut im Plasma, also circumnucleär und im plasmatischen Wandbelag, kurz gesagt überall da, wo in der Zelle Plasma vorhanden ist (Taf. 10, Fig. 55, 59, 60); oder die meisten sind zerstreut, einige aber bilden kleine Ansammlungen an verschiedenen Stellen im Zellkörper; oder wir sehen einige größere Ansammlungen von Vacuome-Elementen an verschiedenen Orten in der Zelle, wobei jedoch auch kleinere Ansammlungen und einzelne Vakuolen allorts im Plasma angetroffen werden können (Taf. 10, Fig. 57); oder wir sehen nur einige größere Ansammlungen, wobei aber die meisten in der Nähe des Zellkernes, manche aber weit entfernt im plasmatischen Wandbelag liegen (Taf. 10, Fig. 56); oder endlich können wir eine einzige, dichtgedrängte, in der Nähe des Zellkernes liegende, selten weit von ihm entfernt gelegene Ansammlung von Vacuome-Elementen beobachten (Taf. 10, Fig. 58). Das Vacuome ist also bald vollkommen diffus, bald vollkommen komplex, wobei jedoch zwischen diesen beiden extremen Varianten alle möglichen denkbaren Zwischenstufen angetroffen werden können. Im allgemeinen ist das vollkommen komplexe Vacuome viel seltener als das vollkommen diffuse und als alle dazwischen liegende Stufen, welche zu ihm hinüberführen. Zwischen Zellen mit verschiedenen Vacuomen konnten keine sichtbaren Differenzen aufgefunden werden; auch können sie unmittelbar nebeneinander liegen. Es muß mit Nachdruck hervorgehoben werden, daß derartige Bilder nicht als verschiedene Färbungsstadien mit Neutralrot gedeutet werden dürfen.

Der Färbeprozess verläuft in folgender Weise: Das Vacuome-Element tingiert sich zunächst schwach rostrot, dann wird die Färbung immer intensiver (Taf. 10, Fig. 59, 60), schließlich werden im Innern der Vakuole entweder ein einziges größeres Körnchen, oder auch einige kleinere, äußerst intensiv dunkelrot gefärbte Granula ausgefällt (Taf. 10, Fig. 55), wobei sich das Bläscheninnere entweder fast vollkommen entfärbt, oder nur schwach rosarot verbleibt. In den in Abb. 55. Taf. 10 dargestellten Zellen sehen wir nur in einigen Vacuome-Elementen ausgefallene rote Kügelchen, sie kommen aber später in allen zum Vorschein. Ist das Vacuome komplex, so sehen wir zunächst einen äußerst in-

tensiv dunkelrot gefärbten Körper (Taf. 10, Fig. 58), später beginnen die Grenzen der einzelnen Bläschen deutlicher hervorzutreten, wobei in einigen tiefrot gefärbte Granula entstehen (Taf. 10, Fig. 57), schließlich entfärben sich alle Bläschen, ihre Grenzen sind oft deutlich sichtbar und in allen sind dunkelrote Granula nachweisbar (Taf. 10, Fig. 56). Verweilt die Zelle sehr lange im Neutralrotbade, so wird die Anzahl der sich mit Neutralrot färbenden Bläschen nicht so sehr vermehrt, als vielmehr ihre Dimensionen oft sehr bedeutend erweitert, wobei in ihrem Innern größere, tiefrot gefärbte Körper ausgefällt werden.

Die Abb. 55—60 auf Tafel 10 stellen bläschenförmige Bindegewebszellen dar. Die zentrale Vakuole wurde jedoch nicht eingezeichnet, weil sie vital nur undeutlich sichtbar ist, und um nicht den Anschein zu erwecken, als ob Vacuome-Elemente in ihrem Innern liegen könnten.

Den Golgi-Apparat fanden wir vital nur in sehr wenigen Zellen, undeutlich und nach sehr mühevolem Suchen (Taf. 10, Fig. 59). Er hat dieselbe Struktur wie derjenige, welcher auf konservierten Präparaten dargestellt werden kann. Der Golgi-Apparat ist sowohl in blasigen, als auch in nichtblasigen Bindegewebszellen, sowohl bei *Helix lutescens*, als auch bei *Helix pomatia* immer komplex (Taf. 9, Fig. 27—38). Er erscheint uns in Gestalt eines gewöhnlich in der Nähe des Zellkernes liegenden Bläschens, seltener liegt er in einer beträchtlicheren Entfernung von demselben. Die Struktur des Golgi-Apparates in Bindegewebszellen ist derjenigen der entsprechenden Plasmakomponente in männlichen Geschlechtszellen von Gastropoden außerordentlich ähnlich. Insbesondere möge der Golgi-Apparat in Spermatozyten von *Cerithium* und *Helix* zum Vergleich herangezogen werden. Im einfachsten Fall erscheint er uns in osmierten Präparaten als ein tiefschwarzer, mehr oder weniger regelmäßiger Ring, welcher eine graue Fläche umgrenzt (Taf. 9, Fig. 27, 31, 32). Dieser Ring ist ein optischer Querschnitt einer Membran, welche einen kugelförmigen Raum umschließt. Dieser Ring ist also kein wirklicher Ring, denn in diesem Fall müßte er, von der Seite betrachtet, in Gestalt eines scharfen Striches erscheinen. Derartige Bilder aber konnten von uns niemals und nirgends angetroffen werden. Der Golgi-Apparat ist also im vorliegenden Fall weder ein Ring, noch ein Plättchen, noch eine Linse, sondern ein Bläschen. Eine

ganz einheitliche Membran umschließt also ein kugelförmiges Inneres. Es möge darauf hingewiesen werden, daß auch in jungen typischen Spermatozyten von *Cerithium vulgare* der Golgi-Apparat ebenfalls aus einer ganz einheitlichen Membran, welche ein ungefähr kugelförmiges Inneres umschließt, besteht. Aber nur in seltenen Fällen scheint die Membran ganz regelmäßig, homogen und vollkommen glatt zu sein. Vielfach ist die Gestalt des Golgi-Apparates mehr oder weniger abweichend von derjenigen einer geometrischen Kugel, er wird vielmehr maulbeerförmig (Taf. 9, Fig. 29, 30, 37) oder unregelmäßig (Taf. 9, Fig. 33—38). Der maulbeerförmige Golgi-Apparat ist dem, aus den Spermatozyten von *Helix* bekannten, außerordentlich ähnlich. Er besteht aus einer verhältnismäßig geringen Anzahl von kalottenförmigen Körperchen, welche dicht nebeneinander liegen und zusammen einen kugelförmigen Raum umschließen. Der maulbeerförmige Körper ist also ein komplexes Gebilde, welches aus einer größeren Anzahl von Golgi-Apparat-Elementen besteht. Sie erscheinen uns als scharfe, tiefschwarz gefärbte Bögen, welche eine graue Fläche umschließen. Wir wollen uns an dieser Stelle auf diese Bemerkung beschränken. Den maulbeerförmigen Golgi-Apparat in Spermatozyten von Pulmonaten werden wir weiter unten eingehend besprechen. Wir wollen noch eine Frage aufwerfen, ohne sie jedoch zu beantworten. Entsteht der maulbeerförmige Golgi-Apparat durch sukzessive Teilungen oder durch eine einzige Zerfallsteilung aus einem vollkommen einheitlichen, kugelförmigen Bläschen oder dadurch, daß sich eine größere Anzahl ursprünglich isolierter Golgi-Apparat-Elemente zu einem einheitlichen Körper vereinigt? Vom bläschen- und maulbeerförmigen Golgi-Apparat sind auch die unregelmäßigen Idiosome, welche wir besonders oft in Leydig'schen Zellen von *Helix lutescens* gesehen haben, ableitbar (Taf. 9, Fig. 33, 34, 35, 36). Im Idiosom oder in seiner unmittelbaren Nähe sahen wir manchmal in nichtblasigen Bindegewebszellen bei *Helix pomatia* einige ziemlich große Kügelchen, welche sich durch Osmium grau färbten (Taf. 9, Fig. 38).

Der Golgi-Apparat ist also immer komplex, das Vacuome dagegen ist gewöhnlich mehr oder weniger diffus, seltener komplex. In den meisten Fällen fallen Golgi-Apparat und Vacuome miteinander nicht zusammen, sie sind also differente Plasmakomponenten. Es ist aber möglich, daß in Bindegewebszellen das Va-

cuome teilweise oder ausnahmsweise auch zur Gänze im Idiosom sitzen kann. Diese möglichen Ausnahmen aber beeinträchtigen nicht die allgemeine Regel, daß in Bindegewebszellen die erwähnten Plasmakomponenten (Golgi-Apparat und Vacuome) nicht miteinander zusammenfallen.

Mitochondrien sind als ziemlich kleine Granula im ganzen Plasma zerstreut. In nichtblasigen Bindegewebszellen haben sie die Tendenz, miteinander zu Fäden zu verschmelzen.

8. Die Nervenzellen.

Wir hatten Gelegenheit, Nervenzellen aus dem Cerebral- und aus einem unter dem Darm gelegenen Eingeweideganglion zu studieren. Die Struktur des Golgi-Apparates ist in beiden Ganglien identisch, und wir wollen sie deshalb gemeinsam betrachten. Die erwähnte Plasmakomponente in Nervenzellen von Pulmonaten ist bereits aus einer Reihe von Untersuchungen bekannt (Legendre 1908, Kolatschev 1916, Weigl 1912, Parat 1928, Voinov 1928 etc.). Uns interessiert hauptsächlich das gegenseitige Verhältnis von Golgi-Apparat und Vacuome in den erwähnten Zellen.

Im lebenden Zustande ist der Golgi-Apparat unsichtbar. Das Vacuome läßt sich mittels Neutralrot nachweisen. In kleinen Neuronen bildet das Vacuome eine Ansammlung von Kügelchen, eventuell Vakuolen, welche den vom Axon abgewendeten Pol der Zelle einnehmen. In größeren Neuronen ist das Vacuome im ganzen Plasma zerstreut, nur derjenige Plasmabezirk, von welchem das Axon abgeht, wird von Vakuome-Kügelchen gemieden. Der erwähnte Plasmabezirk wird dagegen vorzüglich von lipochromatischen Kügelchen ausgefüllt, welche auch in anderen Plasmateilen, immerhin aber nur in sehr geringer Anzahl, angetroffen werden können. Diese lipochromatischen Kügelchen sind stark lichtbrechend, manchmal orangefärbig. Wir sind mit Parat darin einig, daß sich die Lipochrome mit Neutralrot nicht färben lassen. Wir nehmen aber an, daß es schwer ist, eine scharfe Grenze zwischen beiden zu ziehen, da nach unserer Ansicht Vacuome-Kügelchen in lipochromatische Kügelchen, welche als Sekretionsprodukte aufzufassen sind, übergehen können.

Das Golgi-Apparat-Element ist ein typisch flächenhaftes Gebilde. Seine Peripherie wird von einem tiefschwarzen, kreisrunden

oder ovalen Ring eingenommen. Dieser Ring umschließt eine Fläche, welche sich dunkelgrau, hellgrau oder gar nicht mit Osmium färbt. Auch können die Golgi-Körper eine etwas unregelmäßige Gestalt annehmen, seltener bilden sie größere, sehr unregelmäßig gestaltete, flächenhafte Gebilde. Färben sich mit Osmium nur die von den Externa gebildeten Falze, so kann ein fadenartiger Golgi-Apparat vorgetäuscht werden; tingieren sich dagegen die Golgi-Körper vollständig, so ist ihr flächenhafter Charakter klar. Von der Seite betrachtet, erscheint das Golgi-Apparat-Element als ein scharfer, tiefschwarzer Strich, welcher bald auf einer, bald auf beiden Seiten von einem ganz flachen Schatten begleitet ist. Das Golgi-Apparat-Element ist also eine Lamelle, oder eine ganz flache Linse. Die Anordnung der Golgi-Apparat-Elemente in der Zelle ist eine ganz bestimmte, ihre Flächen sind nämlich der Zell- und Kernoberfläche parallel. Der Golgi-Apparat ist in konzentrischen, dem Kern- und der Zelloberfläche parallelen Schichten gelagert.

Wir konnten in einer Anzahl von Fällen beobachten, daß auf der Oberfläche der Plättchen, und zwar an ihrem Rande, sich intensiv mit Osmium färbende Kügelchen gewöhnlich in Einzahl, nur äußerst selten zu zwei oder drei sitzen (Taf. 8, Fig. 17). Diese Kügelchen sind verhältnismäßig groß; sind ihrer zwei oder drei vorhanden, so sind sie auch entsprechend kleiner. In günstig gelegenen Zellen und an günstigen Stellen konnten wir in unseren Präparaten einige solche mit Kügelchen versehene Plättchen sehen. Wir müssen hervorheben, daß wir derartige Bilder nicht überall sehen konnten. Diese Kügelchen sind im Gegensatz zu Lipochromen bedeutend stärker osmiophil. Im allgemeinen färben sie sich intensiv mit Osmium, seltener sind sie als helle Negative auf tiefschwarzem Untergrunde der Golgi-Apparat-Elemente sichtbar. Wir deuten diese Kügelchen als Vacuome-Elemente, welche sich bei Anwendung von Chromosmium-Methoden nur teilweise erhalten oder tingiert haben. Die Vacuome-Elemente sitzen also entweder auf allen oder wenigstens auf einer gewissen Anzahl von Golgi-Apparat-Elementen. Dies ist also der Grund, weshalb sie topographisch zusammenfallen, obwohl sie dennoch verschiedene Plasmakomponenten sind. Wir glauben, daß aus Vacuome-Elementen lipochromatische Kügelchen entstehen können.

9. Bemerkungen

über die Struktur des Golgi-Apparates in einigen anderen somatischen Zellen.

Der Golgi-Apparat erscheint in Nährzellen der Zwitterdrüse in Gestalt kleiner Bläschen, welche in größerer Anzahl unregelmäßig im Plasma zerstreut sind. In jedem solchen Bläschen sitzt ein Kügelchen, welches in ein Nährgranulum übergeht, und es ist vielleicht das Vacuome. Vielfach konnten wir auch sehen, daß die Wände dieser Bläschen doppelt waren.

In den Flimmerzellen des Ureters hat der Golgi-Apparat die gleiche Struktur, wie in den Flimmerzellen des Oviduktes; er ist hier vollkommen diffus und besteht aus kleinen linsenförmigen Elementen.

Eine ebensolche Struktur hat der Golgi-Apparat in Mantel-epithelzellen, nur vereinigen sich die einzelnen Elemente gewöhnlich reihenweise miteinander.

In Eiweißdrüsenzellen ist der Golgi-Apparat diffus. Er besteht aus dicken, runden oder ovalen Linsen oder Schollen.

IV. Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in männlichen Geschlechtszellen.

Die Arbeit von Parat und Painlevé (1925), welche sich auf die Spermatogenese von *Helix* bezieht, veranlaßte mich, die von ihnen verfochtenen Ansichten an anderen Vertretern der Gastropoden nachzuprüfen; vergleichende Untersuchungen schienen mir nämlich am geeignetsten zu sein, die von ihnen aufgeworfenen Probleme zu lösen. Die erwähnten Verfasser unterscheiden nämlich in Spermatozyten von *Helix* falsche und echte Dictyosomen (vrais dictyosomes). Die falschen sollen derjenigen Struktur entsprechen, welche von früheren Autoren ohne allen Zweifel als Golgi-Apparat aufgefaßt wurde. Nach Parat entsprechen sie nicht dem Golgi-Apparat in somatischen Zellen, sondern sind Mitochondrien, welche sich auch mit Janusgrün vital färben lassen sollen. Echte Dictyosomen kommen dagegen auf diese Weise zustande, daß die Vakuolen (Vacuome) unter dem Einfluß der gebräuchlichen Methoden durch Silber oder Osmium imprägniert und deformiert werden. Nur diese entsprechen dem Golgi-Apparat in somatischen Zellen. Parat unterscheidet also in männlichen Geschlechtszellen zwei Ar-

ten von Mitochondrien, nämlich: 1) Mitochondrien im engeren Sinne, welche granulär oder ganz kurz stäbchenförmig sind und sich intensiv mittels Janusgrün vital färben lassen, und 2) »falsche« Dictyosomen, welche halbmond- oder fadenförmig sind und sich mit Janusgrün nur schwach färben lassen. Um den grundsätzlichen Unterschied zwischen echten und falschen Dictyosomen schärfer zu präzisieren, hat Parat die letzteren als Lepidosomen, den Vacuomegebilden also, den echten, eigentlichen Dictyosomen gegenübergestellt. Die echten Dictyosomen (vrais dictyosomes) sind also imprägnierte und deformierte Vacuolen (Vacuome), die falschen Dictyosomen dagegen Lepidosomen. Lepidosomen nehmen ihren Ursprung aus Mitochondrien. Es gibt also zwei Arten von Mitochondrien: 1) Mitochondrien im engeren Sinne und 2) Lepidosomen. Wie bereits erwähnt, ist diese Ansicht Parat's als eine Hilfhypothese zu beurteilen, welche von ihm ausgearbeitet wurde, um seine ursprüngliche Theorie zu retten. In der Einleitung haben wir schon erwähnt, daß wir gezwungen waren, dieser Hypothese gegenüber eine negative Stellung einzunehmen. Den drei von Parat aufgestellten Plasmakomponenten in männlichen Geschlechtszellen: 1) den Mitochondrien, 2) den Lepidosomen und 3) dem Vacuome stellen wir ebenfalls drei Elemente, nämlich: 1) die Mitochondrien, 2) den Golgi-Apparat und 3) das Vacuome entgegen. Im folgenden wollen wir auf Grund unserer Beobachtungen den Beweis für die Richtigkeit unserer Ansicht führen.

Paludina vivipara ist seit jeher ein beliebtes Objekt cytologischer Forschung gewesen. Der Golgi-Apparat wurde bei dieser Art von Perroncito (1910) entdeckt und später von Alexenko (1926) nachuntersucht. Perroncito hat auch vitale Beobachtungen gemacht und die Präparate mit Neutralrot und Nilblaukresylsulfat gefärbt. Aus seinen Abbildungen geht aber zur Genüge hervor, daß er die Morphologie des Golgi-Apparates, welchen er als ein Netz beschrieb, unrichtig erfaßte, und daß ihm die Tatsache, daß der Golgi-Apparat und das Vacuome differente Plasmakomponenten sind, vollkommen entgangen ist. Auch erwähnt er, daß der aus der Spermatide ausgeschiedene Rest des Golgi-Apparates durch Neutralrot tingiert wird. Der genannte Verfasser beachtet das vital Sichtbare sonst sehr wenig. Alexenko erfaßte zwar die Struktur des Golgi-Apparates richtig, ließ aber das Vacuome unbeachtet.

Besonders beachtenswert aber ist die Arbeit von Kuschakewitsch (1921), von welchem die Struktur des Golgi-Apparates in männlichen Geschlechtszellen einiger Prosobranchier richtig erkannt wurde. Kurze Bemerkungen über Vacuome und Golgi-Apparat bei *Paludina* haben wir bereits in einer vorläufigen Mitteilung (Monné 1927) gemacht. Parat (1928) glaubt zwar, daß die bei *Paludina* geförderten Tatsachen für seine Theorie sprechen, doch werden wir weiter unten das Gegenteil beweisen. Die männlichen Geschlechtszellen von Prosobranchiern eignen sich ebenso vortrefflich für vitale Studien, wie diejenigen der Pulmonaten. Wir werden hauptsächlich über vitale Befunde ohne Färbung, oder nach Behandlung mittels Neutralrot oder Janusgrün berichten, denn gerade dies wurde von bisherigen Autoren nicht eingehend genug geschildert.

Die Spermatogonien von *Paludina vivipara* haben einen lappenförmigen oder unregelmäßigen Kern, welcher von einem dünnen Plasmamantel umhüllt ist. In ungefärbtem Zustande sind keine deutlichen Plasmabestandteile sichtbar. Mitochondrien, welche in geringer Zahl auftreten, sind oval oder ganz kurz stäbchenförmig und färben sich mittels Janusgrün blaugrün. Der Golgi-Apparat ist in Spermatogonien vital unsichtbar. Nach Färbung mit Neutralrot treten einige rote Kügelchen auf, welche ziemlich dicht beisammen liegen. In eupyrenen Spermatocyten ist der Golgi-Apparat immer in Form eines etwas ovalen, stark lichtbrechenden Ringes sichtbar (Taf. 11, Fig. 61, 62). Dieser Ring ist gewöhnlich regelmäßig, seltener unregelmäßig. Wir wollen mit Nachdruck hervorheben, daß der Golgi-Apparat immer in Form eines Ringes erscheint, von welcher Seite auch wir die Zelle betrachten. Es ist also kein wirklicher Ring, denn in diesem Fall müßte er, von der Seite betrachtet, in der Gestalt eines Striches erscheinen, was wir aber nie gesehen haben. Dieser Ring ist also nur ein optischer Querschnitt eines eiförmigen, eventuell etwas gelappten Körpers. Dieser Körper ist das bekannte Idiosom. Der erwähnte Ring ist entweder vollkommen geschlossen, oder er ist zusammengesetzt aus einigen Bestandteilen, den Dictyosomen, wobei sie aber, in vitalen Präparaten, nicht scharf voneinander abgegrenzt zu sein scheinen. Die Abstände zwischen ihnen sind nie deutlich und nicht überall sichtbar. Nach Behandlung der Zellen mittels Neutralrot färbt sich das Bläscheninnere in dem ersten Fär-

bungsstadium zunächst schwach rosarot, während die stark lichtbrechende Bläschenwand vollkommen ungefärbt verbleibt (Taf. 11, Fig. 61). Dieser Ring färbt sich auch nie vital mittels Janusgrün, was wir mit Nachdruck hervorheben wollen. Das Idiosom besteht also aus einer Hülle, welche weder mittels Janusgrün noch mittels Neutralrot färbbar ist und welche einen mehr oder weniger regelmäßigen, kugelförmigen Raum umgibt. Im ersten Färbungsstadium färbt sich nur das Innere, wie bereits erwähnt wurde, zunächst ganz einheitlich schwach rosarot, im zweiten wird es dunkler, wobei auch außerhalb des Idiosoms in einer gewissen Entfernung von ihm kleine rote Kügelchen hervortreten beginnen (Taf. 11, Fig. 61). Im dritten Färbungsstadium werden im Idiosom einige undeutliche Kügelchen, welche sich nur sehr unscharf vom dunkelroten Grunde abheben, sichtbar. Die extraidiosomalen Granula sind schon lebhaft rot gefärbt. Im vierten Färbungsstadium sind im Idiosom einige intensiv rot gefärbte Kügelchen, welche sich vom entweder vollkommen ungefärbten oder nur schwach rosarot gefärbten Grunde scharf abheben, sichtbar (Taf. 11, Fig. 62). Die tiefrot gefärbten, extraidiosomalen Granula sind zahlreicher. Diese vier Färbungsstadien betrachten wir als vital. Die Idiosomhülle entspricht dem Golgi-Apparat, die mittels Neutralrot darstellbaren Kügelchen entsprechen dem Vacuome. Golgi-Apparat und Vacuome sind also als differente Plasmakomponenten in lebenden Zellen nebeneinander sichtbar. Die Idiosomhülle scheint ganz geschlossen zu sein, oder aus wenigen kalottenförmigen Körpern, welche aber nicht deutlich voneinander abgegrenzt sind, zu bestehen. Um das Idiosom herum liegt ein mittels Janusgrün intensiv blaugrün färbbarer Faden (Taf. 11, Fig. 61, 62). Er scheint sich zunächst stellenweise, später vollkommen zu färben. Eine bereits sehr intensive Färbung mittels Janusgrün kann bald wieder verschwinden. Der ganze Färbeprozess spielt sich sehr schnell ab und kann unmittelbar beobachtet werden. Aus dem erwähnten Faden entsteht in Spermatischen der Mitochondrienkörper. Während der ersten Reifeteilung konnten wir den Golgi-Apparat nicht sehen. Der mittels Janusgrün färbbare Faden ist auch ohne Färbung sichtbar. Er liegt um die Spindel herum (Taf. 11, Fig. 63, 64) vielfach gewunden. Bald kann man einen einzigen solchen Faden, bald zwei bis drei solche, aber kürzere Fäden sehen. Das Vacuome ist im ungefärbten Zustand unsichtbar, es läßt sich mit-

tels Neutralrot nachweisen. Es besteht in der ersten Reifeteilung aus Kügelchen, welche im Plasma unregelmäßig zerstreut liegen (Taf. 11, Fig. 63, 64). Manchmal liegen wenige solche Kügelchen etwas dichter beisammen, andere dagegen zerstreut. Das Vacuome wird ungefähr gleichmäßig auf Tochterzellen verteilt. Nach Kuschakewitsch unterliegt das Idiosom bei *Cerithium vulgare* in beiden Reifeteilungen einer Zweiteilung. In Spermatiden ist das Idiosom kalottenförmig, es besteht aus einer Hülle und einem Innern (Taf. 11, Fig. 65, 66, 67). Die Idiosomhülle entspricht dem Golgi-Apparat, welcher sich weder mit Neutralrot noch mit Janusgrün färbt. Das Vacuome besteht aus etlichen Kügelchen, welche im Idiosom liegen. In älteren Spermatiden konnte die Akrosombildung (Taf. 11, Fig. 65, 66, 67) vital beobachtet werden. Das Idiosom wandert bis an das Vorderende der Spermatide, und aus seinem Innern tritt ein sehr kleines, mittels Neutralrot rostrot färbbares Kügelchen, das Akrosom, hervor (Taf. 11, Fig. 65). Das Akrosom nimmt das Vorderende der Spermatide ein. In etwas späteren Stadien färbt sich das Akrosom mittels Neutralrot tief kirschrot und verliert in noch etwas späteren Stadien die Affinität zum erwähnten Farbstoff vollkommen. Überhaupt bewahrt das Akrosom die Affinität zu Neutralrot eine verhältnismäßig kurze Zeit. In alten Spermatiden und Spermatozoen ist es zwar deutlich sichtbar, färbt sich dennoch nie (Taf. 11, Fig. 67). Nach dem Absetzen des Akrosoms, geht das Idiosom an das Hinterende der Spermatide und wird später mit etwas Plasma abgestoßen. Es nimmt keinen weiteren Anteil mehr an der Bildung des Spermatozoons. Nach der Akrosombildung kann man manchmal die Idiosomhülle und das Vacuome separat im Plasma liegen sehen (Taf. 11, Fig. 66). Die Beobachtung, daß sich bei *Paludina* das Akrosom, welches ein kleines Granulum ist, mittels Neutralrot färbt, veranlaßte mich, diese Tatsache auch woanders, wo die erwähnte Plasmakomponente beträchtliche Dimensionen erreicht, festzustellen zu versuchen. Es ist uns (Hirschler und Monné 1928) auch tatsächlich gelungen, die bei Säugetieren vorkommenden, riesigen Akrosomen mittels Neutralrot zu färben. Im ausgewachsenen typischen Spermium färbt sich nichts mehr mittels Neutralrot. In jungen Spermatiden färben sich Mitochondrien mittels Janusgrün. In späteren Stadien entstehen vier kugelförmige Mitochondrienkörper, welche sich aber mittels Janus-

grün nur ganz schwach färben lassen. In einem etwas späteren Stadium, in welchem sich die Mitochondrienkörper ein bischen in die Länge gezogen haben, färben sie sich selten und nachträglich nie mittels Janusgrün. Auch in reifen Spermien ist nichts mittels des erwähnten Farbstoffes färbbar. Nur wenn das Präparat sehr lange in einer Janusgrünlösung verweilt, erscheinen an der Basis des korkzieherförmigen Kopfes drei kleine, intensiv blaugrün gefärbte Kügelchen. Dies ist aber schon ein ausgesprochen lethaler Zustand.

An dieser Stelle wollen wir unsere Beobachtungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in eupyrenen Spermatozyten von *Cerithium vulgare* einfügen. Wir sehen hier im Prinzip die gleichen Befunde wie bei *Paludina*. Der Golgi-Apparat ist im ungefärbten Zustande tadellos sichtbar, erscheint oft als ein vollkommen geschlossener, stark lichtbrechender, gewöhnlich sehr regelmäßig kreisrunder oder ovaler Ring. Neben solchen regelmäßigen Gebilden findet man oft mehr unregelmäßige Formen. Der periphere Ring besteht nämlich oft aus zwei, drei oder vier Teilstücken, welche sich entweder miteinander verbinden, oder auch einen kleinen Abstand zwischeneinander lassen. Diese Teilstücke sind den bekannten Dictyosomen bei Pulmonaten außerordentlich ähnlich. Dieser Ring ist aber kein wirklicher, denn sonst müßte er, von der Seite betrachtet, als ein scharfer Strich erscheinen, was wir aber nie und nirgends finden. Er ist also nur ein optischer Querschnitt eines kugelförmigen, mehr oder weniger regelmäßigen Körpers, des bekannten Idiosoms. Es besteht aus einer Idiosomhülle, welche einen Innenkörper umschließt. Die Idiosomhülle ist mit dem Golgi-Apparat identisch, und zwar entweder ganz einheitlich, vollkommen geschlossen oder in zwei, drei oder vier Kappen, welche zusammen ein Ganzes bilden, geteilt. Im ersteren Fall erscheint die erwähnte Hülle im optischen Querschnitt als ein vollkommen geschlossener Ring, im letzteren Fall besteht dieser aus zwei, drei oder vier Teilstücken. Diese sind den bekannten Dictyosomen bei Pulmonaten vollkommen homolog, nur kommen sie bei ihnen in größerer Anzahl vor. Die Idiosomhülle ist ursprünglich einheitlich, sie kann bei *Cerithium* in vier Teilstücke, bei Pulmonaten in mehrere zerfallen, und zwar in 8 Dictyosomen bei *Limax* nach Gatenby, in ungefähr 20 bei *Helix*. Überhaupt ist die Idiosomhülle, wie man aus Literaturangaben

entnehmen kann, bei Prosobranchiern entweder einheitlich, oder sie besteht aus einer geringen Anzahl, bei Pulmonaten dagegen aus einer größeren Anzahl, von Kalotten. Man kann sich denken, daß die Kalottenbildung entweder durch sukzessive Teilungen, also zuerst einer 2-, dann 4-, 8-, 16-... u. s. w. Teilung, oder durch simultane Zerfallsteilung einer einheitlichen Membran, welche zuerst eine maulbeerförmige Gestalt annehmen muß, zustande kommen kann. Ein membranöser Charakter des Golgi-Apparates in Spermatoocyten von *Cerithium* steht außer Zweifel; er tritt besonders deutlich zutage, wenn das Idiosominnere mittels Neutralrot einheitlich gefärbt wird, während die Hülle vom Farbstoff vollkommen unberührt bleibt; der Gegensatz zwischen der Hülle und dem Innern tritt also deutlich hervor. Die Idiosomhülle ist also in Spermatoocyten von *Cerithium* entweder einheitlich, oder in Dictyosomen geteilt. Die Dictyosomen sind somit optische Querschnitte von Kalotten und nicht halbmondförmige Stäbchen. Wir haben nämlich oben gezeigt, daß sie durch Teilung einer Hülle entstehen können; Stäbchen aber können unmöglich durch Teilung einer Membran entstanden sein. Den halbmondförmigen Stäbchen ist stets auf einer Seite ein auf konservierten Präparaten deutlich sichtbarer Schatten zugesellt. Das halbmondförmige Körperchen und der bekannte Schatten bilden stets ein integrales Ganze, sie gehören unbedingt zusammen. Diese Tatsache aber bedeutet, daß das Halbmondkörperchen und der Schatten zusammen ein einziges Element bilden und dieses ist eine Kalotte. Der Schatten ist nichts anderes als ein Teil der Kalotte selbst. Aus dem oben Gesagten geht aber auch hervor, daß diese Halbmondkörperchen nicht von Mitochondrien abgeleitet werden dürfen. Dictyosomen, also falsche Dictyosomen oder Lepidosomen nach Parat, welche den halbmondförmigen Körperchen entsprechen, färben sich auch nie vital mittels Janusgrün. Durch den Vergleich von Idiosomhüllen von Prosobranchiern und Pulmonaten glauben wir die Unrichtigkeit der Hilfshypothese Parat's gezeigt zu haben. Nach Behandlung der eupyrenen Spermatoocyten von *Cerithium vulgare* mittels Neutralrot färbt sich im ersten Färbungsstadium das Innere des Ringes ganz einheitlich schwach rosarot, im zweiten nimmt das Innere des Ringes einen viel dunkleren Farbton an, wobei dunkler gefärbte, noch sehr verschwommene Körper hervorzutreten beginnen, und auch außerhalb des Idiosoms erscheinen in größerer oder ge-

ringerer Entfernung von ihm undeutliche Granula; im dritten Stadium werden sowohl intra- wie extraidiosomale Granula deutlich, und im vierten treten beide sehr scharf hervor, wobei der anfangs noch vorhandene mehr oder weniger intensiv rosa gefärbte Grund vollkommen verschwindet. Im ersten Färbungsstadium ist also das Idiosominnere einheitlich rosa, im vierten dagegen ungefärbt, enthält aber ein paar kleine, tief rostrot gefärbte Granula. Die Idiosomhülle färbt sich nie mittels Neutralrot. Die vier erwähnten Färbungsstadien müssen wir als vitale auffassen. Der Färbungsprozeß mittels Neutralrot verläuft bei *Cerithium* im Prinzip ebenso wie bei *Paludina*.

In atypischen Spermatozyten von *Paludina vivipara* sind sowohl Mitochondrien als auch der Golgi-Apparat (»falsche« Dictyosomen oder Lepidosomen nach Parat) ohne Färbung sichtbar, das Vacuome dagegen unsichtbar. Mitochondrien, welche rings um das Idiosom liegen, färben sich vortrefflich mittels Janusgrün, sie sind granulär oder ganz kurz stäbchenförmig (Taf. 11, Fig. 68). Der Golgi-Apparat (Lepidosomen nach Parat) färben sich nie mittels Janusgrün. Das Idiosom besteht auch hier aus einer Hülle, welche einen Innenkörper umschließt. Das Idiosom entspricht dem Golgi-Apparat, welcher auch hier flächenhaft erscheint. Vital sieht der Golgi-Apparat wie eine lichtbrechende, unregelmäßig gebogene Linie aus. Ob sie ganz geschlossen ist, oder ob sie an manchen Stellen Lücken aufweist, welche den Grenzen zwischen den einzelnen die Idiosomhülle zusammensetzenden Kalotten entsprechen könnten, läßt sich vital nicht mit Sicherheit entscheiden. In konservierten Präparaten sieht man aber deutlich, daß die Idiosomhülle aus einer gewissen Anzahl von Kalotten besteht. Ihre Struktur ist also im Prinzip die gleiche, wie bei *Helix*. Das Vacuome (Taf. 11, Fig. 68), welches das Idiosominnere einnimmt, färbt sich mittels Neutralrot rostrot. Das Idiosominnere färbt sich zunächst äußerst schwach rosarot, bald aber erscheinen undeutliche, verschwommene, größere oder kleinere rote Flecke, aus welchen immer deutlicher Granula und Granula-Gruppen hervortreten beginnen. Diese Granula werden immer mehr deutlich und färben sich immer stärker rostrot. Schließlich ist das Idiosominnere von einer Menge von Granulen erfüllt, während die Färbung in den Zwischenräumen vollkommen verschwindet. Die Größe dieser Kügelchen ist recht verschieden, bald sind sie groß, bald verhält-

nismäßig sehr klein. Die Kügelchen liegen bald vereinzelt, bald bilden mehrere von ihnen größere oder kleinere Gruppen. Centriolen, welche bekanntlich zunächst sehr groß sind und später in eine aus mehreren kleineren Centriolen bestehende Gruppe zerfallen, konnten wir vital nicht sehen, auch wissen wir nicht, ob sie sich mit Neutralrot färben oder nicht. Im ersteren Fall wäre es kaum möglich, sie vom Vacuome zu unterscheiden. Einige Male hatten wir Gelegenheit, das Vacuome in atypischen Spermatozytenteilungen erster und zweiter Ordnung zu sehen. In Abb. 69, Taf. 11, ist ein frühes Stadium der ersten atypischen Reifeteilung dargestellt. Degenerierende Chromosomen sind im Plasma als undeutliche, stärker lichtbrechende Körper sichtbar. Das Vacuome ist in Form von größeren oder kleineren Kügelchen mehr oder weniger regelmäßig um die Pole herum im Plasma zerstreut. In der zweiten atypischen Reifeteilung sehen wir die Vacuome-Kügelchen um die beiden Pole dichter gedrängt, mehrere von ihnen liegen aber auch in einer größeren Entfernung von den beiden polaren Ansammlungen (Taf. 11, Fig. 70). Während der Zellteilung konnten wir den Golgi-Apparat nie mit Sicherheit sehen. Das Vacuome bildet in atypischen Spermatischen eine Ansammlung größerer oder kleinerer Kügelchen in verschiedener Lage. Oft liegt sie besonders in älteren Stadien, in der Nähe der Basis des Geißelschopfes. Außer dieser Ansammlung sehen wir vereinzelte Vacuome-Kügelchen an verschiedenen Stellen im Plasma liegen. Die Mitochondrien, welche in jüngeren Stadien an der Basis des Wimperschopfes eine Ansammlung von Granulen bilden, welche sich mittels Janusgrün prächtig blaugrün färben lassen, ändern in späteren Stadien ihre Lage. In diesen Stadien liegen sie in Längsreihen auf der Fortsetzung der Geißeln innerhalb des Plasmas. Auch in diesen Stadien sind Mitochondrien ohne Färbung sichtbar. In ganz ausgewachsenen atypischen Spermien sehen wir eine Ansammlung mit Neutralrot färbbarer Vakuolen an ihrem Hinterende.

In Spermatozyten von *Helix lutescens* besteht das Idiosom ebenfalls aus einer Idiosomhülle und aus einem Innenkörper. Die Idiosomhülle entspricht dem Golgi-Apparat, welcher uns im vitalen Zustande als eine Anzahl halbmondförmiger Körperchen, welche sich gelegentlich miteinander verbinden können, erscheint. Wie ein derartiger Golgi-Apparat von einem solchen, wie wir

ihn bei Prosobranchiern antreffen, abgeleitet werden kann, haben wir bereits oben erörtert. Die Idiosomhülle ist aus 20—24 Golgi-Apparat-Elementen aufgebaut. Der Golgi-Apparat (also die »falschen« Dictyosomen oder Lepidosomen nach Parat) färbt sich weder mit Neutralrot, noch mit Janusgrün. Wir müssen besonders hervorheben, daß die Lepidosomen von Janusgrün in allen Konzentrationen, von den schwächsten bis zu den stärksten nie gefärbt werden, wenn sich die Zelle noch im lebenden Zustande befindet. In einer toten Zelle färben sich aber alle Zellbestandteile, also auch die Kernstrukturen; kurz gesagt, wir sehen eine diffuse Färbung der ganzen Zelle. Sehr schön färbt sich der Golgi-Apparat (Lepidosomen) mittels Alkohohlämatein nach Hirschler, und zwar nach Flemming-Fixierung. In Präparaten, welche nach der erwähnten Methode behandelt wurden, erscheint uns das einzelne Golgi-Apparat-Element als ein tief blauschwarz gefärbter Halbmond, welcher stets von der konkaven Seite von einem recht deutlichen, gewölbten Schatten begleitet ist. Halbmond und Schatten gehören unbedingt zusammen, schattenlose Halbmonde gibt es nicht. Dies ist ein Beweis, daß wir diese Tatsache nicht so einfach nehmen dürfen und die Halbmonde nicht einfach als richtige Halbmonde auffassen dürfen. Der bekannte Schatten ist eine Begleiterscheinung bei der Betrachtung kalottenförmiger Körper. Die Dicke dieser kalottenförmigen Membran ist aber auf ihrer ganzen Fläche nicht gleich, sondern im Zentrum am stärksten, und wird gegen den Rand hin immer geringer, wie es die Gestalt des optischen Querschnittes der Kalotte zeigt. Der Halbmond ist nämlich in der Mitte am dicksten, gegen die Enden hin allmählich dünner und läuft schließlich ganz spitz zu. Wäre die Dicke der kalottenförmigen Membran auf ihrer ganzen Fläche gleich, so müßte sie im optischen Querschnitt in der Gestalt eines auf seiner ganzen Länge gleichdicken, bogenförmigen Striches erscheinen. Wären die kalottenförmigen Membranen ganz gleichmäßig dick, so müßten sie, wie bereits erwähnt wurde, von der Seite betrachtet, als Bögen, von der Fläche dagegen als Ringe erscheinen. Aber auch dies trifft nicht zu. Eine Kalotte, welche an der Peripherie am dünnsten ist, kann im optischen Querschnitt nie einen Ring geben. Das Zentrum der Kalotte wird nämlich von Lichtstrahlen senkrecht, die Peripherie dagegen schief getroffen; infolgedessen entfallen auf eine Flächeneinheit im Zentrum mehr

Strahlen als an der Peripherie. Diese müßte folglich dunkler sein, als das Zentrum. Ist aber das Zentrum dicker, so muß es viel mehr Lichtstrahlen absorbieren, als die viel dünneren, peripheren Partien. Das Zentrum erhält zwar eine größere Anzahl von Lichtstrahlen auf eine Flächeneinheit, absorbiert sie aber infolge seiner beträchtlicheren Dicke viel stärker als die peripheren Partien, welche zwar von einer geringeren Anzahl von Lichtstrahlen getroffen werden, sie aber infolge ihrer geringeren Dicke viel schwächer absorbieren. Infolgedessen wird der Unterschied der Lichtintensität des Zentrums und der Peripherie vollkommen aufgehoben; folglich kann eine Kalotte, welche in Zentrum am dicksten, an der Peripherie aber am dünnsten ist, im optischen Querschnitt nie als Ring erscheinen. Eine derartige Kalotte muß, von der Fläche betrachtet, als ein runder Fleck ohne deutliche Umgrenzung erscheinen, und dies ist auch tatsächlich der Fall. Wir sehen nämlich vielfach, wie zu erwarten war, runde, graue Flecke ohne deutliche Umgrenzung, welche eine gewisse Tiefe besitzen, wovon man sich beim Drehen der Mikrometerschraube leicht überzeugen kann. Die Golgi-Apparat-Elemente färben sich nur schwach mittels Hämatein und erscheinen infolgedessen nur im optischen Querschnitt als tief blauschwarze Halbmonde, sonst aber als graue Schatten. Bilder, wie sie Parat mittels der Volkonsky-Methode erhielt, sind in ganz gleicher Weise zu beurteilen, wie unsere Hämatein-Bilder. Dem erwähnten Verfasser scheint diese Erklärungsmöglichkeit seiner Befunde vollkommen entgangen zu sein, wahrscheinlich weil er viel zu eifrig bestrebt war, eine Hilfs-hypothese zur Rettung seiner ursprünglichen Theorie zu konstruieren. Die kalottenförmigen Golgi-Apparat-Elemente bilden zusammen eine maulbeerförmige Idiosomhülle. In mit Osmium geschwärzten Präparaten können wir vielfach an Stelle des Idiosoms einen Knäuel von schwarzen Fäden, welche Parat als Artefakte betrachtet, erblicken. Dieser Meinung können wir nicht so ohne weiteres beistimmen. Die erwähnten Gebilde imprägnieren sich viel zu schön mittels Osmium und werden in sehr gut konservierten Zellen angetroffen. Wir glauben vielmehr diese Gebilde als Homologa der tiefschwarzen Ringe, welche in manchen somatischen Zellen linsenförmige Golgi-Apparat-Elemente umschließen und welche wir als periphere Falze gedeutet haben, betrachten zu dürfen. Nur scheinen in dem vorliegenden Fall die Falze der sehr dicht

nebeneinander liegenden Golgi-Apparat-Elemente zerrissen worden und miteinander verschmolzen zu sein. Die Grenzen zwischen den einzelnen Kalotten sind wahrscheinlich durch die erwähnten Fäden gekennzeichnet. Derartige Bilder könnten als willkommene Stütze für Anhänger der Netztheorie des Golgi-Apparates gelten. Die Unrichtigkeit einer derartigen Ansicht geht aber bereits aus dem oben Gesagten hervor.

Ein kalottenförmiges Golgi-Apparat-Element ließe sich auch von einem linsenförmigen ableiten. Denken wir uns, daß bei einem ganz flach linsenförmigen Körper die eine Fläche viel stärker wächst, als die gegenüberliegende und sich infolgedessen stark wölbt, so erhalten wir eine Kalotte, welche im Zentrum dicker ist, als an der Peripherie. Die Falze könnten, wie bereits erwähnt, teilweise erhalten bleiben. Die Struktur der Golgi-Apparat-Elemente ist in Spermatiden die gleiche wie in Spermatocyten. Die Idiosomhülle in Spermatocyten von *Helix lutescens* besteht aus ungefähr 20 Golgi-Apparat-Elementen, welche, ohne sich weiter zu vermehren, unter die Spermatiden aufgeteilt werden. Jede Spermatide enthält demnach ein Idiosom, welches aus 5—6 Golgi-Apparat-Elementen besteht.

Der Färbeprozess mittels Neutralrot verläuft in Spermatocyten auf folgende Weise: Zunächst färbt sich der Idiosominhalt eiförmig rosa, später erscheinen undeutliche rote Kügelchen, der Grund entfärbt sich allmählich, und wir sehen endlich stark rostrot gefärbte Kügelchen von verschiedener Größe auf vollkommen ungefärbtem Grunde. Selten findet man auch extraidiosomale, mittels Neutralrot gefärbte Granula, welche aber nur in nächster Nähe des Idiosoms liegen. Es muß mit Nachdruck hervorgehoben werden, daß alle diese Stadien als vitale betrachtet werden müssen. Die Vacuome-Kügelchen sind ohne Färbung unsichtbar. Die erwähnte Plasmakomponente färbt sich auch gelegentlich mittels Alkoholhämäteïn nach Hirschler, und zwar nach Zenkers Fixierung. Die kugeligen Mitochondrien färben sich prachtvoll mittels Janusgrün, und zwar auch während der Mitosen. Das Vacuome ist auch während der Teilungen der Spermatocyten nach Färbung mittels Neutralrot sichtbar. Im Metaphase-Stadium bilden die Vacuome-Elemente je eine Ansammlung um die beiden Spindelpole herum (Taf. 11, Fig. 71, 72), nur sind sie etwas zerstreut und konzentrieren sich erst später. Der Golgi-Apparat kann während

der Mitosen vital nicht mit Sicherheit gesehen werden. Der Färbeprozess mittels Neutralrot verläuft in Spermatiden im Prinzip in gleicher Weise wie in Spermatocyten, nur lassen sich die einzelnen Färbestadien im vorliegenden Fall schärfer voneinander abgrenzen. Der Idiosominhalt färbt sich zunächst ganz einheitlich schwach rosarot, die Farbe wird allmählich dunkler, bis sie endlich in eine rostrote übergeht. Nunmehr treten einige dunkler rot gefärbte Wolken, welche mit ihrer Basis an den Golgi-Apparat festgebannt sind, zum Vorschein. Später werden die Umrisse dieser Wolken immer schärfer, heben sich allmählich immer mehr vom Golgi-Apparat ab und lösen sich endlich von ihm als scharfe rostrote Kugeln vollkommen los. Während dieses Prozesses verliert der Grund allmählich seine ursprünglich rostrote Farbe und ist zuletzt ebenso farblos, wie das umgebende Plasma. Zuletzt sehen wir also im Idiosom-Innern auf vollkommen farblosem Grunde einige stark rostrot gefärbte Granula. Manchmal liegt ein rotes Granulum außerhalb des Idiosoms, aber in unmittelbarer Berührung mit dem Golgi-Apparat. Auch kann man manchmal ein rot gefärbtes Granulum weit entfernt vom Idiosom im Plasma liegen sehen. Bisweilen findet man im Idiosom-Innern eine einzige große, rostrote Kugel neben ein paar kümmerlichen Granulen. Auch in Spermatiden färbt sich der Golgi-Apparat (Lepidosomen, falsche Dictyosomen) weder mit Neutralrot noch Janusgrün. Der letzterwähnte Farbstoff färbt Mitochondrien wunderschön. Auch in Spermatiden konnte das Vacuome mittels Alkoholhämäteïn nach Hirschler und zwar nach Zenker-Fixierung gefärbt werden.

Aus unseren Untersuchungen geht also hervor, daß der Golgi-Apparat membranös, die Mitochondrien granulär und die Vacuomelemente kugelig (vielleicht vakuolär) sind. Mitochondrien färben sich mittels Janusgrün, das Vacuome mittels Neutralrot, der Golgi-Apparat weder mit Janusgrün noch Neutralrot. Bei Prosobranchiern kann direkt nachgewiesen werden, daß der Golgi-Apparat, welcher die Idiosomhülle bildet, membranös ist. Zwischen einer einheitlichen Membran und »falschen« Dictyosomen oder Lepidosomen nach Parat konnte eine Reihe von Zwischenstufen nachgewiesen werden. Die Lepidosomen oder »falsche« Dictyosomen sind somit keine Halbmonde, sondern durch Zerteilung einer ursprünglich einheitlichen Membran entstandene Kalotten. Die prinzipielle Übereinstimmung in der Struktur der Lepidosomen und

der in somatischen Zellen auftretenden Golgi-Apparat-Elemente liegt auf der Hand; beide sind membranöse Gebilde. Lepidosomen können unbedingt nicht von Mitochondrien abgeleitet werden. Die ersteren färben sich im Gegensatz zu den letzteren überhaupt nicht mittels Janusgrün. Die Lepidosomen oder »falschen« Dictyosomen Parat's sind also echte Dictyosomen oder Golgi-Apparat-Elemente, wie das vor Parat übereinstimmend von den meisten Forschern behauptet wurde. Das Vacuome könnte vielleicht gelegentlich nach Imprägnierung mittels Silber- oder Osmiummethoden einen dem Golgi-Apparat ähnlichen Charakter annehmen, dennoch sind Golgi-Apparat und Vacuome differente, nebeneinander in der Zelle koexistierende Plasmakomponenten. Wir haben also auch in männlichen Geschlechtszellen drei Plasmakomponenten, also 1) den Golgi-Apparat, 2) das Vacuome und 3) Mitochondrien und nicht 1) das Vacuome-Golgi-Apparat und 2) Chondriome und zwar a) Mitochondrien und b) Lepidosomen, wie das von Parat fälschlicherweise behauptet wurde.

Schließlich wollen wir noch die verfehlte Hypothese Voinovs in Betracht ziehen. Der erwähnte Autor glaubt, in allen Zellen neben Chondriome und Vacuome einen retikulären Golgi-Apparat und lammellöse Ergastoblasten gefunden zu haben. Die bis jetzt erschienenen Arbeiten Voinovs liefern uns aber keinen Beweis zugunsten seiner Ansichten. Unsere Beobachtungen über das Idiosom bei *Helix* könnten eventuell, wenn sie mißverstanden würden, zum »Beweis« der Voinovschen Hypothese herangezogen werden. Die kalottenförmigen Golgi-Apparat-Elemente könnten Ergastoblasten, dagegen die von uns erwähnten Fäden dem Voinovschen Golgi-Apparat gleichgesetzt werden. Diese Gebilde sind aber untrennbar miteinander verbunden und bilden ein einheitliches Ganze, so daß es, unseres Erachtens, unzulässig wäre, sie als vollkommen differente Plasmakomponenten aufzufassen. Sie sind nur Teile eines übergeordneten Ganzen. Wenn wir uns nun den Nervenzellen zuwenden, so müßten wir nach der Voinovschen Hypothese die ringförmigen Falze als den echten Golgi-Apparat, dagegen die von ihnen umschlossene Fläche als Ergastoblasten auffassen. Wir nehmen also an, daß Voinov in den Fehler verfallen ist, entweder Teile des Golgi-Apparates als differente Plasmastrukturen aufzufassen, oder er ist vielleicht einer Verwechslung mit spongioplasmatischen Struktu-

ren zum Opfer gefallen. Aus den bisherigen Angaben Voinovs läßt sich aber keine einzige Tatsache zugunsten seiner Hypothese anführen, auch kann man sich keinen klaren Begriff machen, wie man sie verstehen soll. Indem wir uns auf unsere Beobachtungen stützen, müssen wir sowohl die Hypothese von Voinov, als auch diejenige von Parat vollkommen ablehnen.

V. Zusammenfassung der Befunde.

In unseren vergleichenden Untersuchungen haben wir uns die Aufgabe gestellt, den Golgi-Apparat in seiner ganzen Formenmannigfaltigkeit in somatischen und in Geschlechtszellen kennen zu lernen und zu versuchen, ihn auf ein gemeinsames Struktur-schema zurückzuführen, in die Struktur des Vacuomes einzudringen und seine Beziehungen zum Golgi-Apparat zu erfassen.

Im einfachsten Fall ist das Golgi-Apparat-Element eine schwach gewölbte, bikonvexe Linse, welche an ihrer Kante von einem ringförmigen Falz eingefaßt ist. Der Grad der Konvexität der Linse ist verschieden. Der Falz ist äußerst chromophil, die Linse dagegen mehr oder weniger chromophob. In der Regel aber färbt sie sich mittels Osmium hellgrau, ausnahmsweise auch bedeutend stärker, wie zum Beispiel in Oviduktdrüsenzellen. Derartige linsenförmige Golgi-Apparat-Elemente haben wir in Nerven-, Darmepithel-, Darmdrüsen-, Zwittergangs-, Spermoovidukt- und Oviduktdrüsenzellen gefunden.

Dem linsenförmigen Typus genähert und auch von ihm ableitbar sind die Golgi-Apparat-Elemente in Epithelzellen des Receptaculum seminis, seines Ausführungsganges und des Vas deferens.

In männlichen Geschlechtszellen bei Prosobranchiern und Pulmonaten sind die Golgi-Apparat-Elemente kalottenförmig. Bei *Helix lutescens* sind die Kalotten im Zentrum am stärksten, dagegen am dünnsten an der Peripherie, wo auch unregelmäßig gestaltete Falze nachweisbar sind. Auch in Bindegewebszellen konnten kalottenförmige Golgi-Apparat-Elemente beobachtet werden.

Vollkommen diffus ist der Golgi-Apparat in Nerven-, Darmdrüsen-, Zwittergangsepithel-, Spermoividuktepithel-, Oviduktdrüsen- und gewöhnlich auch in Darmepithelzellen.

Sehr lose und in verschiedenen Richtungen miteinander vereinigt sind die Golgi-Apparat-Elemente in Epithelzellen des Vas deferens.

Reihenweise zu bandförmigen Gebilden verschmelzen die Golgi-Apparat-Elemente in Epithelzellen des Receptaculum seminis und in einer gewissen Anzahl von Darmepithelzellen.

Zu großen, unregelmäßigen, membranösen Flächen vereinigen sich die Golgi-Apparat-Elemente miteinander in Epithelzellen des Ausführungsganges vom Receptaculum seminis.

Vollkommen komplex, also ein typisches Idiosom, ist der Golgi-Apparat in Geschlechts- und Bindegewebszellen. Die Idiosomhülle ist entweder ganz einheitlich (manche Bindegewebszellen und manche Spermatoocyten von *Cerithium*), oder sie ist maulbeerförmig (Spermatoocyten von *Helix* und viele Bindegewebszellen), oder endlich ist sie weniger regelmäßig gestaltet (manche Bindegewebszellen).

In den von uns untersuchten Fällen liegen also die Golgi-Apparat-Elemente entweder 1) zusammenhangslos im Zellkörper, oder 2) sie vereinigen sich miteinander in verschiedenen Richtungen, aber sehr lose, oder 3) sie verschmelzen reihenweise, oder 4) zu großen Flächen, oder 5) bilden endlich sehr regelmäßig gestaltete Körper, sog. Idiosome.

Die Theorie von der Netz-Struktur des Golgi-Apparates, ebenso wie die Hypothesen von Parat und Voinov erscheinen hiemit widerlegt.

Das Vacuome wurde mittels Neutralrot in Nerven-, Bindegewebs- und Darmepithelzellen sowie in den Epithelien des Zwitterganges, des Vas deferens, des Receptaculum seminis und seines Ausführungsganges gefärbt.

Das Vacuome-Element scheint bläschenförmig zu sein.

In den Epithelien des Darmes, des Vas deferens, des Receptaculum seminis und seines Ausführungsganges bilden die Vacuome-Elemente eine gewöhnlich über dem Zellkern, seltener auch eine darunter gelegene Ansammlung.

Bedeutend weniger konstant ist die supranukleäre Lage des Vacuomes im Epithel des Zwitterganges.

In kleinen Neuronen bilden die Vacuome-Elemente eine einzige Ansammlung, in großen dagegen liegen sie im Plasma vollkommen zerstreut.

In Bindegewebszellen sind die Vacuome-Elemente bald vollkommen zerstreut, bald bilden sie eine einzige Ansammlung. Zwischen diesen beiden Extremen gibt es alle möglichen Übergänge.

In Bindegewebszellen liegt in der Regel entweder das ganze oder fast das ganze Vacuome außerhalb des Idiosoms. Golgi-Apparat und Vacuome fallen also in der Regel topographisch nicht miteinander zusammen. Der Golgi-Apparat ist bisweilen im lebenden Zustande sichtbar.

In männlichen Geschlechtszellen von *Helix* liegt das ganze Vacuome im Idiosom.

In typischen männlichen Geschlechtszellen von *Paludina* und *Cerithium* liegt das Vacuome auch im Idiosom, aber eine gewisse Anzahl sich mit Neutralrot färbender Granula liegt auch außerhalb des Idiosoms.

Sowohl bei Pulmonaten als auch bei Prosobranchiern sind Golgi-Apparat und Vacuome in männlichen Geschlechtszellen vital nebeneinander sichtbar.

In Nervenzellen sitzen Vacuome-Elemente auf Golgi-Apparat-Elementen.

In Epithelzellen des Darmes scheinen die Golgi-Apparat- und die Vacuome-Elemente unabhängig voneinander im Plasma zu liegen.

In Epithelzellen des Zwitterganges, des Vas deferens, des Receptaculum seminis und seines Ausführungsganges scheinen die Vacuome-Elemente entweder in nächster Nähe von Golgi-Apparat-Elementen oder vielleicht sogar auf ihnen zu sitzen.

Literaturverzeichnis.

- Alexenko B., Plasmatische Bildungen bei der Spermatogenese der *Paludina vivipara*. Zeitschr. Zellf. mikr. Anat., Bd. 4, 1926. — Avel M., Sur les propriétés physiques de l'appareil de Golgi et des éléments genitaux des Pulmonés. C. R. Soc. Biol., t. 93, 1925. — Avel M., Sur les propriétés de coloration de l'appareil de Golgi des éléments genitaux des Pulmonés. C. R. Soc. Biol., t. 93, 1925. — Avel M., L'appareil de Golgi et vacuome. Bull. d'Hist. Appl., t. 2, 1925. — Gambier E., Sur la constitution de l'idiosome de la cellule mâle de *Discoglossus pictus*. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Gatenby J. B., The cytoplasmic inclusions of the germ cells. Part. II. *Helix aspersa*. 1917. Quart. Journ. Microsc. Sc., vol. 62. — Gatenby J. B., Study of Golgi apparatus and vacuolar system of *Cavia*, *Helix* and *Abraxas* by intravital methods. 1929. Proceed. Roy. Soc. London B. 731. — Grabowska Z., L'appareil de Golgi dans les spermatozoïdes des Crustacés. 1925. C. R. Soc. Biol. 97. — Grabowska Z., Über die Plasmakomponenten

(Golgi-Apparat u. a.) in den männlichen Geschlechtszellen von *Potamobius Astacus* L. Bull. Acad. Pol. Sc. Lett. Série B. 1929. — Golański K., Composants plasmatiques des cellules sexuelles mâles chez *Lithobius forficatus*. C. R. Soc. Biol., t. 100, 1929. — Hirschler J., Über den Golgi-Apparat embryonaler Zellen. (*Limnaeus stagnalis*). Arch. Mikr. Anat., Bd. 91, Abt. 1, 1918. — Hirschler J., Studien über die Plasmakomponenten an vital gefärbten männlichen Geschlechtszellen einiger Tierarten. Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat., Bd. 7, 1928. — Hirschler J., Appareil de Golgi Vacuome au cours de la spermatogénèse chez *Macrotylacia rubi* L. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Hirschler J., Relations topographiques entre l'appareil de Golgi et le vacuome au cours de la spermatogénèse chez *Phalera bucephala* L. et *Dasychira selenitica* Esp. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Hirschler J., Über ein einfaches Vorgehen zur Darstellung des Golgi-Apparates und der Mitochondrien bei Wirbellosen. Zeitschr. f. wiss. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. 44, 1927. — Hirschler J., et Hirschlerowa Z., L'appareil de Golgi et le vacuome dans une certaine catégorie de cellules somatiques chez la larve de *Phryganea grandis* L. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Hirschler J. et Monné L., Comportement de l'idiosome au cours de la spermatogénèse chez le Lapin. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Hirschler J. et Monné L., Studien über Plasmakomponenten an vitalgefärbten männlichen Geschlechtszellen einiger Säuger (*Cavia*, *Lepus*, *Mus*). Zeitschr. Zellf. u. mikr. Anat., Bd. 7, 1928. — Hirschlerowa Z., Les composants plasmatiques des cellules génitales femelles de *Phryganea grandis* L. (*Trichoptera*). C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Jacobs W., Der Golgische Binnenapparat. Ergebnisse der Biol., Bd. 2, 1927. — Karpova L., Beobachtungen über den Golgi-Apparat (Nebenkern) in den Samenzellen von *Helix pomatia*. Zeitschr. f. Zellf. und mikr. Anat., Bd. 2, 1925. — Kolliner M., Über den Golgischen Netzapparat bei einigen Wirbellosen. Arch. f. Zellf., 16, 1922. — Kolatschewa A., Recherches cytologiques sur les cellules nerveuses des Mollusques. Archives Russes d'Anat., d'Hist., d'Embr., t. I, 1916. — Kuschakewitsch S., Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchiata. Spermatogenese von *Cerithium vulgatum* L. Arch. f. Zellf., Bd. 14, 1921. — Legendre R., Contribution à la connaissance de la cellule nerveuse: la cellule nerveuse d'*Helix pomatia*. Arch. d'Anat. Microsc., t. 10, 1909. — Meves F., Über den von la Valette-St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900. — Meves F., Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entwicklung nach Beobachtungen an *Paludina* und *Pygaera*. Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1903. — Monné L., Les structures fibrillaires dans les cellules sexuelles mâles chez *Helix lutescens*. C. R. Soc. Biol., t. 101, 1929. — Monné L., Observations sur les spermatoocytes des Mollusques après coloration vitale (appareil de Golgi-Vacuome). C. R. Soc. Biol., t. 92, 1927. — Parat M., Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. Arch. Anat. Micr., t. 24, 1928. — Parat Maurice et Parat Margueritte, Détection élective du chondriome actif de la cellule animale. C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Parat M. et Gambier E., L'appareil de Golgi des cellules génitales mâles du Discoglosse et du Cobaye. C. R. Soc. Biol.,

t. 94, 1926. — Parat M. et Painlevé J., Observations vitales sur les »centrophormies« et certaines »centralkapseln«. Polarisation du vacuome et du chondriome. C. R. Soc. Biol., t. 92, 1925. — Parat M. et Painlevé J., L'appareil de Golgi des cellules génitales mâles d'*Helix* et d'autres Pulmonés. C. R. Soc. Biol., 94, 1926. — Perroncito A., Contribution à l'étude de la biologie cellulaire. Mitochondries, chromidies et appareil réticulaire interne dans les cellules spermatiques. Le phénomène de la dictiokinese. Arch. Ital. de Biol., t. 54, 1910. — Platner G., Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilungerscheinungen. Arch. Mikr. Anat., Bd. 33, 1889. — Poluzynski G., Vacuome et Appareil de Golgi au cours de la spermatogénèse chez la Panorpe (*Panorpa communis* L.), C. R. Soc. Biol., t. 100, 1929. — Popoff M., Eibildung bei *Paludina vivipara* und Chromidien bei *Paludina* und *Helix*. Arch. f. Mikroskop. Anat., Bd. 70, 1907. — Sawczyńska J., Appareil de Golgi et Vacuome dans les cellules sexuelles mâles de *Philodromia germanica* L., C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Schitz V., Sur la spermatogénèse chez *Columbella rustica* L. Arch. Zool. Exp., t. 56, 1916. — Schitz V., Sur la spermatogénèse chez *Cerithium vulgatum*, *Turritella triplicata*, et *Bitium reticulatum*. Arch. Zool. Esp., t. 57, 1920. — Schitz V., Sur la spermatogénèse chez *Murex trunculus*, *Aporrhais pes-pelecani*, *Fusus* et *Nassa reticulata*. Arch. Zool. Exp., t. 59, 1920. — Schitz V., Etudes sur l'évolution des éléments génitaux chez les Mollusques Ptéropodes. Biol. Gén., vol. 1, 1925. — Sembrat K., Appareil de Golgi et Vacuome des cellules sexuelles mâles de *Dendrocoelum lacteum* Mull. et de *Planaria gonocephala* Dug. (*Turbellaria Tricladidea*). C. R. Soc. Biol., t. 102, 1929. — Sembrat K., Recherches sur les composants plasmatiques des cellules génitales femelles de *Dendrocoelum lacteum*. C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Sokólska J., Appareil de Golgi et Vacuome au cours de la spermatogénèse chez l'Araignée *Tegenaria domestica* Cl. après coloration vitale. C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Steopoe I., Appareil de Golgi et Vacuome des cellules sexuelles mâles de *Pyrrohocoris apterus*. C. R. Soc. Biol., 99, 1928. — Tuzet O., Observations, sur le vivant, des composants cytoplasmiques des éléments mâles typiques du Mollusque *Prosobranchia Pollia orbigny*. C. R. Soc. Biol., t. 98, 1928. — Tuzet O., Sur la double spermatogénèse du Mollusque *Prosobranchia, Pisania maculosa*. Lamarck. Arch. Zool. Expér. et Gén., t. 67, 1927. — Tuzet O., L'idiosome et les centrosomes dans la lignée mâle typique de *Cerithium vulgatum* Brugg. C. R. Soc. Biol., t. 101, 1929. — Tuzet O., Spermiogénèse et colorations vitales chez la Tubulaire (*Tubularia mesembrianthemum*). C. R. Soc. Biol., t. 102, 1929). — Voinov D., Deux constituants cellulaires: l'appareil de Golgi et les dictyosomes. C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Voinov D. et Athanasiu M., Les dictyosomes (ergastoblastes) dans la cellule nerveuse. C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Voinov D., Les parasomes sont des ergastoblastes (dictyosomes). C. R. Soc. Biol., t. 99, 1928. — Voinov D., Le Vacuome et l'appareil de Golgi dans les cellules génitales mâles de *Notonecta glauca* L., Arch. Zool. Expér. et Gén., t. 67, 1927. — Weigl R., Untersuchungen über den Golgi-Kopfschen Apparat und dessen Verhältnis zu anderen Strukturen in den somatischen Zellen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Bull. Internat.

Golgi-Apparat und das Vacuome der Gastropoden 237

Acad. Sc. Cracovie. Cl. Sc. Math. et Nat. Série B, 1912. — Zawarzin A.,
Beobachtungen an dem Epithel der Descemetschen Membran. Arch. Mikr.
Anat., Bd. 74, 1909.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden auf der Höhe des Arbeitstisches mit dem Abbéschen Zeichenapparat entworfen.

Tafel 8.

Beim Zeichnen der Figuren wurde folgende Optik zur Anwendung gebracht: bei Fig. 1, 3, 4, 7, 12, Occ. 20 Ölimm. $\frac{1}{18}$ beide vom Leitz; bei Fig. 14, 16, 17, 18, 19, 20 Occ. 20 von Zeiß, Ölimm. $\frac{1}{18}$ von Leitz; bei Fig. 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 15 Occ. 12 Ölimm. $\frac{1}{18}$ beide von Leitz.

Chromosmium-Methode osmiert.

Nr. 1, 2, 3, 4 Epithelzellen aus dem Zwittergang.

Nr. 5. Drüsenzellen aus dem Ovidukt.

Nr. 6. } Epithelzellen aus dem Ovidukt.

Nr. 7. }

Nr. 8. Darmepithelzelle mit Flimmern.

Nr. 9. Flimmerlose Darmepithelzelle.

Nr. 10, 11. Flimmerzellen aus dem Vas deferens.

Nr. 12. Golgi-Apparat und vereinzelte G. A.-Elemente aus dem Vas deferens bei stärkerer Vergrößerung.

Nr. 13. Darmdrüsenzelle.

Nr. 14. Vacuome-Elemente aus Darmepithelzellen.

Nr. 15. Darmepithelzelle.

Nr. 16. Einzelne Golgi-Apparat-Elemente aus Ovidukt-Drüsenzellen.

Nr. 17. Golgi-Apparat-Elemente mit anliegenden, osmiophilen Kügelchen aus Nervenzellen.

Nr. 18, 19, 20. Einzelne Golgi-Apparat-Elemente aus Darmdrüsenzellen.

Tafel 9.

Beim Zeichnen der Figuren wurde folgende Optik zur Anwendung gebracht: bei Fig. 21, Occ. 3. im $\frac{1}{18}$ von Leitz; bei Fig. 39 Occ. 4 Ölimm. $\frac{1}{18}$ von Leitz; bei Fig. 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, Occ. 20 von Zeiss, Ölimm. $\frac{1}{18}$ von Leitz; bei Fig. 44 Occ. 12, Ölimm. $\frac{1}{18}$ beide von Leitz. Chrom-Osmium-Methode osmiert.

Nr. 21. Epithel aus dem Ausführungsgang des Receptaculum seminis.

Nr. 22. Einzelne Golgi-Apparat-Elemente aus dem Ausführungsgang des Receptaculum seminis.

Nr. 23, 24, 25, 26. Golgi-Apparat aus dem Ausführungsgang des Receptaculum seminis.

Nr. 27, 28, 29, 30. Golgi-Apparat aus Bindegewebszellen von *Helix pomatia*.

Nr. 31. Bindegewebszellen von *Helix pomatia*.

238 L. Monné: *Golgi-Apparat und das Vacuome u. s. w.*

Nr. 32, 33, 34, 35, 36. Golgi-Apparat aus Bindegewebszellen und zwei Bindegewebszellen von *Helix lutescens*.

Nr. 37, 38. Bindegewebszellen und Golgi-Apparat aus einer Bindegewebszelle von *Helix pomatia*.

Nr. 39. Epithel vom Receptaculum seminis.

Nr. 40, 41, 42, 43. Golgi-Apparat aus dem Receptaculum seminis in stärkerer Vergrößerung.

Nr. 44. Darmepithelzelle.

Tafel 10.

Lebende Zellen, mittels Neutralrot gefärbt. Beim Zeichnen der Figuren wurde folgende Optik zur Anwendung gebracht: bei Fig. 45, 46, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, Occ. 10 von Zeiss und Ölimm. $\frac{1}{18}$ von Leitz; bei Fig. 47, 48, 49, 50 Occ. 12 von Leitz und Ölimm. $\frac{1}{18}$ ebenfalls von Leitz.

Nr. 45. Epithelzelle vom Zwittergang, von der Seite gesehen.

Nr. 46. Epithelzelle vom Zwittergang, von oben.

Nr. 47. Epithelzelle vom Zwittergang, von der Seite gesehen.

Nr. 48. Flimmerzelle vom Darm.

Nr. 49 u. 50. Darmepithelzellen.

Nr. 51. Epithel vom Ausführungsgang des Receptaculum seminis.

Nr. 52. Epithel vom Receptaculum seminis.

Nr. 53 u. 54. Flimmerzellen vom Vas deferens.

Nr. 55, 56, 57, 58, 59, 60. Bindegewebszellen. Nr. 59. Golgi-Apparat (Idiosom) und Vacuome nebeneinander sichtbar.

Tafel 11.

Lebende Zellen mittels Neutralrot oder Janusgrün gefärbt. Beim Zeichnen der Figuren wurde folgende Optik zur Anwendung gebracht: bei Fig. 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, Occ. 12, Ölimm. $\frac{1}{18}$ Leitz; bei Fig. 71, 72, Occ. 4. Ölimm. $\frac{1}{18}$ Leitz.

Nr. 61, 62. Spermatozyten erster Ordnung der typischen Reihe von *Paludina vivipara*.

Nr. 63, 64. Erste Reifeteilung. Typische Reihe. *Paludina vivipara*.

Nr. 65, 66, 67. Spermatozyten. Typische Reihe. *Paludina vivipara*.

Nr. 68. Spermatozyt. Atypische Reihe. *Paludina vivipara*.

Nr. 69. Erste Reifeteilung. Atypische Reihe. *Paludina vivipara*.

Nr. 70. Zweite Reifeteilung. Atypische Reihe. *Paludina vivipara*.

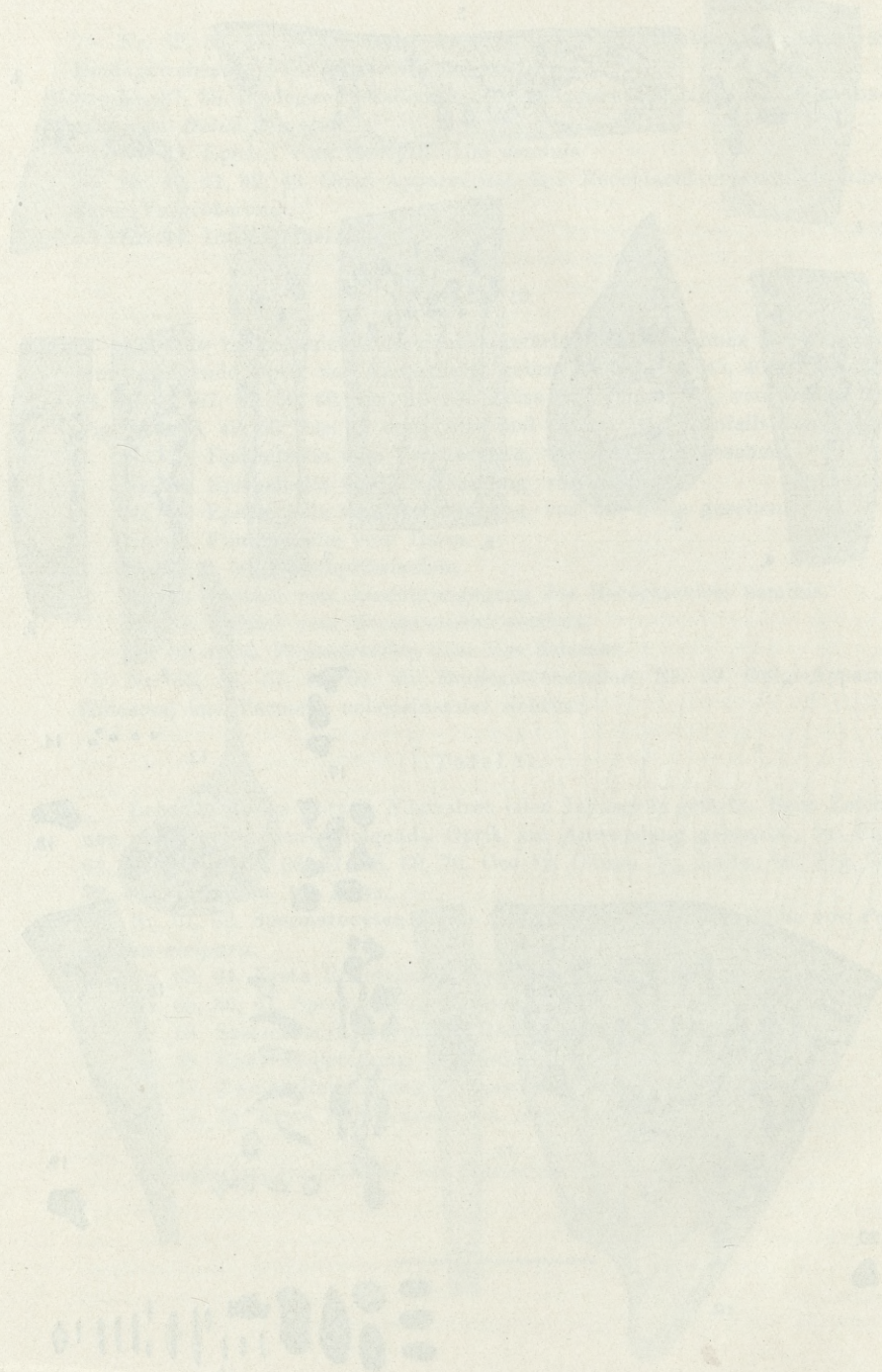
Nr. 71, 72. Erste Reifeteilung von *Helix lutescens*.

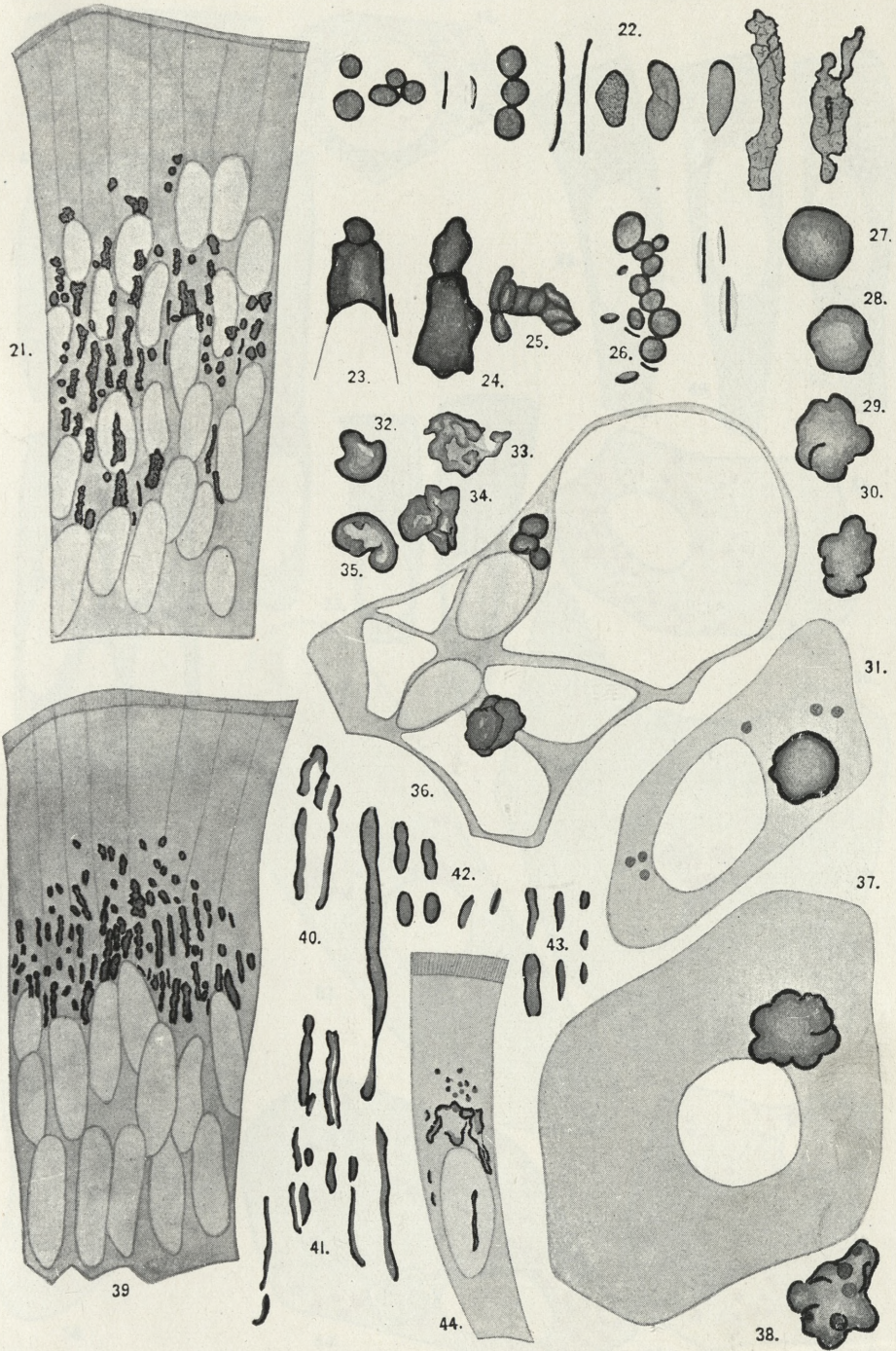
Zoologisches Institut der Jan Kazimierz Universität, Lwów.



L. Monné del.

Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. Uniwersyteckiego 15, 50-131 Wrocław, tel. 71 375 12 12





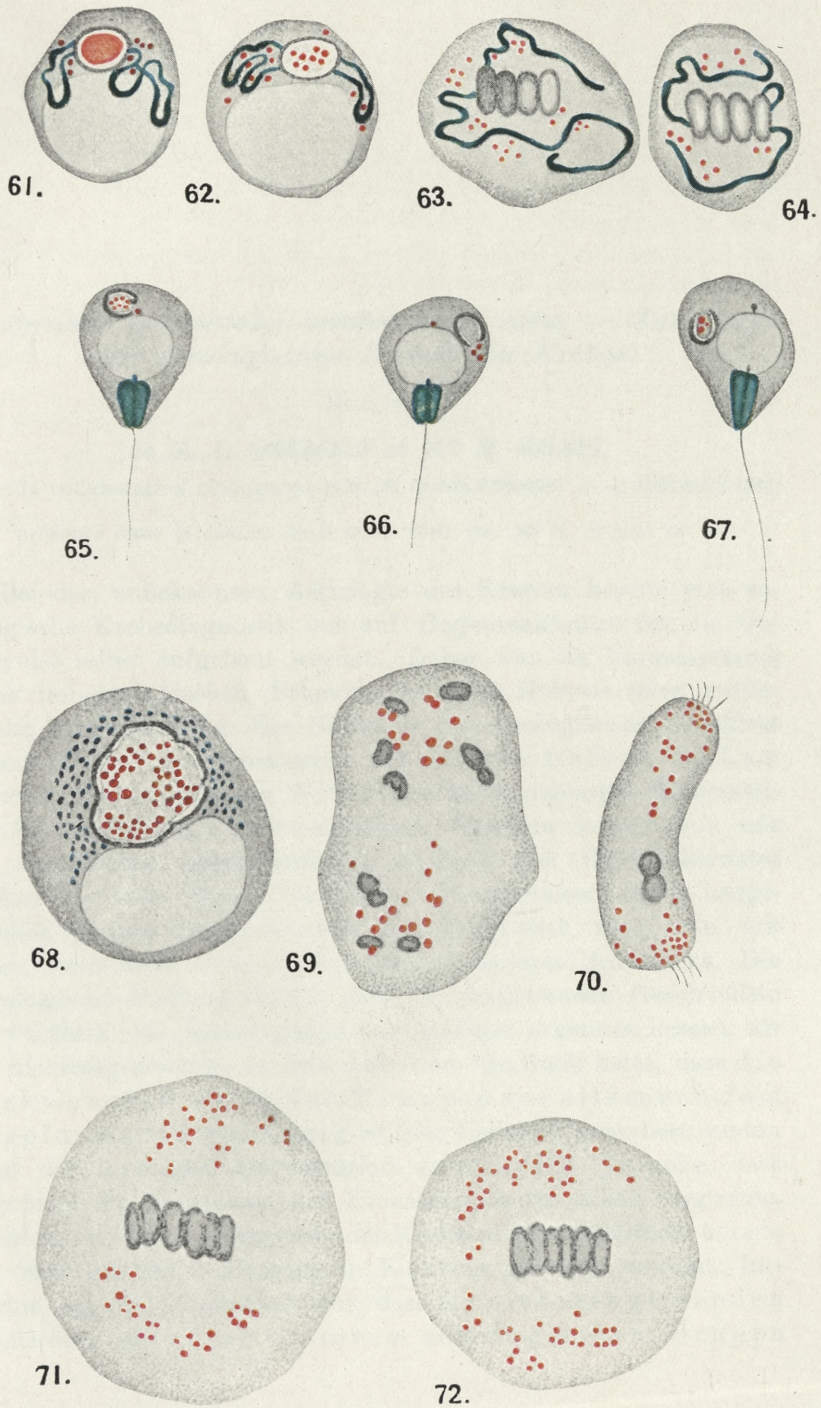
L. Monné del.



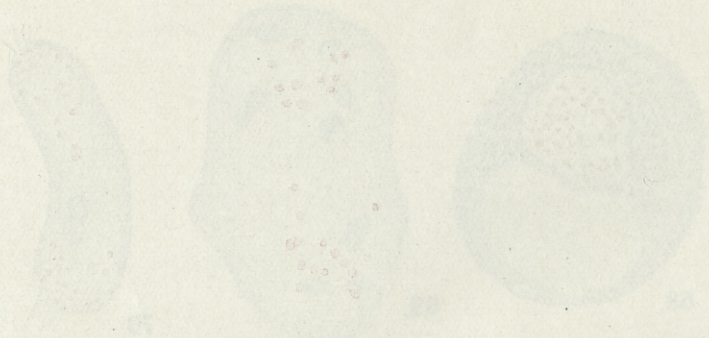
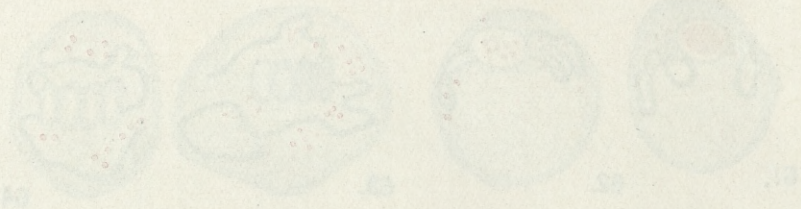


L. Monné del.





L. Monné del.



*W sprawie jednolitości serologicznej raka. — Zur Frage
der serologischen Einheit der Krebse.*

Mémoire

de M. L. HIRSZFELD et M^{lle} W. HALBER,

(avec la collaboration clinique de MM. M. FLOKSZTRUMPF et J. KOŁODZIEJSKI)

présenté dans la séance du 3 mars 1930, par M. K. Klecki m. c.

Bei der unbekanntem Aetiologie des Krebses konnte eine serologische Krebsdiagnostik nur auf Gegenreaktionen für die Geschwulst selbst aufgebaut werden. Daher war die Voraussetzung einer immunologischen Erkennbarkeit des Krebses seine serologische Sonderstellung. Der Nachweis der serologischen Specificität gelang in unserem Laboratorium Hirszfeld, Halber und Lasowski und unabhängig Witebsky im Heidelberger Krebsinstitut. Bei über 60% der untersuchten Tumoren konnte von uns ein spezifisches alkohollösliches Antigen von Haptencharakter entdeckt werden. Unsere Kaninchenkrebsimmunsere waren hauptsächlich gegen Magentumoren gerichtet, doch reagierten mit ihnen, wenn auch seltener, Geschwülste anderer Provenienz. Die histologische Prüfung ergab, dass die reagierenden Geschwülste die Struktur des Ausgangsgewebes häufiger erkennen liessen, als die nichtreagierenden, so dass man den Eindruck hatte, dass die Reaktionsfähigkeit der Tumoren vor allem von dem Anaplasiegrad abhängig ist, also vielleicht einen bestimmten Grad der krebsigen Degeneration anzeigt. Die Tatsache, dass manchmal die Metastasen mit Krebsimmunsere nicht reagierten, trotzdem die Ausgangstumoren das Krebsantigen enthielten, konnte mit einer solchen Auffassung in Einklang gebracht werden. Immerhin lag die Möglichkeit vor, dass die nichtreagierenden Tumoren zu einer anderen serologischen Gruppe

gehören, dass wir also eine Vielheit der Krebsantigene postulieren müssen. Die Bedeutung einer derartigen Auffassung für die serologische Krebsdiagnostik und eine ev. Krebstherapie liegt auf der Hand, denn wenn wir mit einer Typenvielheit zu tun haben, so ist die Zukunft einer ev. Serotherapie an die Erfassung aller Antigenentypen und Verwendung eines typenspezifischen oder polyvalenten Serums gebunden. Witebsky, der eine Reihe sehr interessanter Versuche über die serologische Spezifität der Organe und der Krebse publicierte, neigt zu einer solchen Auffassung und die Protokolle, die er mitteilt, sind in der Tat geeignet, diese Annahme zu stützen.

Die von uns beobachtete Krebsreaktion war geeignet das Problem der Einheit der Krebsantigene gleichsam durch das Gegenbild, nämlich durch die immunologische Antwort des Organismus zu beleuchten. Wie wir in der Klinischen Wochenschrift Nr. 8, 1930 mitteilten, lässt sich die Empfindlichkeit der Krebsantigene durch einen geeigneten Cholesterinzusatz ausserordentlich steigern. Die Empfindlichkeit der Krebsextrakte variiert stark. Sucht man sich die besten Extrakte heraus und sensibilisiert sie noch mit Cholesterin, so erhält man Antigene, die mit Seren der Krebskranken bis über 70% unter Komplementbindung reagieren, während Kontrollfälle nur etwa 5% unspezifische Reaktionen aufweisen. Wir verfügen bereits über das Material von ca 300 Krebsen und über 1000 Kontrollfällen. Da Luessera mit den Krebsextrakten reagieren können, sind wir nicht imstande zu sagen, ob diese unspezifischen Reaktionen unerkannte Lues oder unerkannte Krebssträger sind, bzw. ob manche andere pathologische Zustände, ähnlich wie z. B. Sera der Schwangeren noch mitreagieren können. Ueber die Rolle, die unserer Reaktion bei der Frühdiagnose oder Beurteilung des Recidivs nach der Operation etc. zukommt, müssen zukünftige klinische Beobachtungen entscheiden. In dieser Mitteilung möchten wir mit Hilfe der serodiagnostischen Untersuchungen bei Menschen die Frage ventilieren, ob wir bei Krebs mit einer Vielheit der Antigene oder nur mit einer Krebssubstanz zu tun haben.

Die Anwendbarkeit unserer Reaktion für diese Probleme hängt natürlich davon ab, dass sie eine spezifische Gegenreaktion auf das Krebsantigen darstellen. Wir werden an einem anderen Ort das gesamte experimentelle Material dafür erbringen und hier

begnügen wir uns mit der Aufzählung der Hauptbeweise. Die spezifische Wirkung der Kaninchenimmunsere unterliegt keinem Zweifel und wurde, wie erwähnt, auch von Witebsky beobachtet und von Facius bestätigt. Prüft man nun die mit Kaninchenimmunsere reagierenden und nicht reagierenden Tumorextrakte mit Krankenseren, so bekommt man die gleichen Befunde, so dass keine Anhaltspunkte vorliegen, um die Reagierbarkeit der Tumorextrakte mit Seren von Krebskranken anders zu deuten, als eine immunologische Gegenreaktion des Organismus. Die Krebsantikörper sind thermostabil und verschwinden nicht bei der Verdünnung; damit unterscheiden sie sich von unspezifischen Labilitätsreaktionen, Blutkörperkernkugungen und dergl. Die Krebssera, falls sie Wassermann negativ sind, reagieren nicht mit alkoholischen Extrakten aus normalen Organen, selbst wenn sie auf identische Weise bereitet werden, wie die Krebsextrakte und damit wird wieder die serologische Spezifität der Krebsantikörper sichergestellt. Wir glauben, dass die von uns angegebene Krebsreaktion, sich von den anderen für Krebs mehr oder weniger charakteristischen eben dadurch unterscheidet, dass das spezifische Antigen hier zu Untersuchung kommt. Dadurch ist die Reaktion geeignet, eine Reihe von Problemen, die für die Pathologie des Krebses von Bedeutung ist, zu lösen.

Während also früher, sowohl Witebsky wie wir mit Laszkowski die Frage der Einheit der Krebsantigene mit Hilfe von Kaninchenimmunsere diskutierten, befassen sich unsere jetzigen Versuche mit dem gleichen Problem, aber mit Menschenkrankenseren. Diese Art der Prüfung ist nicht nur experimentell angenehmer (die Herstellung der Kaninchenimmunsere ist schwer und gelingt selten), sondern auch unvergleichlich schärfer, da die artspezifische Komponente bei der Autoimmunisierung der Menschen wegfällt. Die Untersuchung kann auf zweifache Weise geführt werden: entweder prüft man Sera von Krebskranken mit Tumoren fremder Provenienz, also z. B. Uterus-Krebssera mit Magenkrebsextrakten und dergl., oder sucht man sich solche Fälle, wo die extirpierten Krebse *in vitro* sich als reaktionsunfähig erwiesen haben und untersucht, ob die Sera der Menschen, von welchen diese Tumoren stammen, nicht nur mit den homologen Tumoren, sondern auch mit anderen Krebsextrakten reagieren.

Wir verfügen bereits über zahlreiche Erfahrungen, wo Sera von Krebskranken mit den Tumoren anderer Provenienz geprüft wurden, ja, unsere ganze serodiagnostische Untersuchungsreihe wurde schliesslich mit einem Magencarcinomextrakt durchgeführt und wir konnten zeigen, dass Sera von Kranken mit Uterus-, Rectum-, Mammacarcinomen und dergl. mit ihm reagierten.

Die Tabelle I wiedergibt einen Teil unserer Beobachtungen und soll daher zur Demonstration dienen.

TABELLE I.

		Alkoholische Extrakte aus								
Sera	Diagnose	Magenkrebsen			Ca hepatis	Ca pancreatis	Ca colonis	Ca recti	Ca vesic. fell.	Ca mammae
		100	1236	867	820	263	585	426	40	Grin
Jagiel	Ca ventric.	+++	++	+	+++	-	++	-	-	-
867	" "	+++	++	+	++	-	++	+	-	-
890	Ca pylori	+++	+++	-	+++	-	++	-	-	-
973	Ca duodeni	+++	+++		+++					
909	Ca hepatis	+++	+++		+++					
Zielaw	Ca recti	++	++	+	+	-			-	-
Wiśn.	" "	+++	±	-	+++					
Oltas.	Ca uteri	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-	-
Adam.	" "	+++	+++	+	+	-	+	-	-	-
826	Ca mammae	+++	+++		+++					

Bemerkung: Die Wassermannsche Reaktion (mit Herz) war in sämtlichen Fällen negativ.

Diese Tabelle illustriert das o. g. und zeigt, dass nichtreagierende Krebse in der Regel für die Serodiagnostik unbrauchbar sind, dass aber die reagierenden wahllos mit den Seren aller Krebstypen reagieren können.

Schwerer ist es solche Fälle zusammenzustellen, bei welchen die exstirpierten Tumoren mit Menschenimmenserien nicht reagieren, und bei welchen man auch Sera zur Untersuchung bekommt.

Immerhin gelang es uns 5 solche Fälle zu finden. Die alkoholischen Krebsextrakte wurden auf gewöhnliche Weise hergestellt, also 9 Teile 96° Alkohol auf ein Teil Tumorbrei, 9 Tage in Brutschrank, dann durch Papier filtriert; 0·35 ccm des alkoholischen Extraktes = 0·15 alkoholische Cholesterinlösung = 3 ccm NaCl. Es braucht nicht betont zu werden, dass man bei der Prüfung unbekannter Krebsantigene stets eine Kontrolle mit einem bekannten Krebsextrakt mituntersuchen muss. Solche Tumorextrakte müssen mit Krebs- oder Schwangerseren auf Reagierbarkeit geprüft werden, wobei solche Sera benutzt werden dürfen, die keine positive W. R. aufweisen. Sera mit einer positiven W. R., selbst wenn sie von Krebskranken stammen, eignen sich für eine solche Prüfung nicht, denn sie zeigen nicht die Krebsantigene, sondern in erster Linie normale Lipide an.

Die untersuchten 5 Neubildungen waren folgende:

1) 909 Ca hepatis. Das Antigen wurde geprüft mit 7 Krebsseren und zwar: 5 Ca uteri, 1 hepatis und 1 Ca cutis. Reaktion negativ.

2) 1019 Ca pulmonis. Das Antigen wurde geprüft mit 3 Seren und zwar: 2 Ca uteri, 1 Serum der Schwangeren. Reaktion negativ.

3) Krzaczek Ca cutis pedis. Das Antigen wurde geprüft mit 3 Krebsseren: 2 Ca uteri, 1 Ca linguae. Reaktion negativ.

4) 31 Ca ventriculi. Das Antigen wurde geprüft mit 4 Seren: 2 Ca uteri, 1 Ca recti, 1 Serum der Schwangeren. Reaktion negativ.

5) Iwankowicz Ca ventriculi. Das Antigen wurde geprüft mit 3 Seren: 2 Ca uteri, 1 Serum der Schwangeren. Reaktion negativ.

Bemerkung: Sämtliche zur Prüfung verwandte Sera reagierten mit dem Tumorextrakt 100 mit +++ (komplette Hemmung) und gaben eine negative Wassermannsche Reaktion.

Es war nun von grossem Interesse, die Sera der betreffenden Kranken zu prüfen. Wir haben diese Untersuchungen wiederholt vorgenommen, die Sera der betreffenden Kranken waren teilweise so stark, dass wir sie als Kontrollsera häufig verwandten. Die Tabelle II illustriert die Verhältnisse.

Diese Versuche zeigen, dass selbst in den Fällen, bei welchen mit der angewandten Technik die spezifischen Antigene in den Tumoren nicht nachgewiesen wurden, die Sera mit guten Antigenen reagierten. Wir müssen somit annehmen, dass die betreffenden Tumoren nicht zu einer anderen serologischen Gruppe gehörten, da sie bei

TABELLE II.

Reaktionsfähigkeit der Sera von Kranken mit Krebsen, bei welchen das Krebsantigen in vitro nicht nachgewiesen wurde.

Seren	Diagnose	Extrakten aus				Wasserm.	
		100 Ca ventr.	820 Ca hepat.	1359 Ca ventr.	Grin Ca mam.	Herz	Kont.
909	Ca hepatis	+++	+++	+++	—	—	—
Krzaczek	Ca cutis	+++	+++	+++	—	—	—
Iwankowicz	Ca ventriculi	+++	+++	—	—	—	—
1019	Ca pulmonis	+++	—	—	—	—	—
31	Ca ventriculi	+++	+++	—	—	—	—

Bemerkung: Das Serum 31 reagierte mit dem eigenen Tumorextrakt nicht, trotzdem es mit dem Krebsextrakt 100 eine komplette Hemmung gab.

den Kranken den gewöhnlichen Typus der Krebsantikörper hervorgerufen haben. Der mangelnde Nachweis der Krebsantigene in vitro muss somit eine andere Ursache haben, als die Typenfremdheit der Tumoren. Es wäre möglich, dass die betreffenden Tumoren nur über geringe Antigenmengen verfügten, die nicht mehr in vitro, wohl aber in vivo durch Anregung der Antikörper zum Ausdruck gekommen sind. Andererseits wäre möglich, dass tiefere biochemische Ursachen vorliegen, die zwar nicht das Antigen selbst betreffen, wohl aber die Möglichkeit seiner Extraktion beeinflussen.

In Versuchen mit Fr. Kołodziejska konnte gezeigt werden, dass die Krebsantigene mit der Fraktion der Fettsäuren erhalten werden können, also entweder Fettsäuren sind, oder in Fettsäuren gelöst werden. Andererseits zeigten mikrochemische Untersuchungen von Laskowski, dass die nicht-reagierenden Tumoren arm an Lipoiden sind und es muss daher die Möglichkeit diskutiert werden, dass die Krebsantigene lipidlöslich sind und daher mit lipidlösenden Mitteln extrahiert werden können. Entsprechend dieser Auffassung konnte Fr. Kołodziejska bereits mit anderen Methoden Krebsantigene auch aus solchen Neubildungen gewinnen, bei welchen die gewöhnliche Alkoholextraktionsmethode versagte. Ueber diese Versuche haben wir in der Sitzung der Polnischen biologischen Gesellschaft kurz berichtet am 27/1 1930 und behalten uns ihre ausführliche Publikation vor.

Jedenfalls zeigen die Versuche, dass wir nicht mit einem anderen Typus des Krebsantigens zu tun hatten und dass die nicht-

reagierenden Krebse die Krebsantigene zwar enthalten, aber wahrscheinlich in verminderter Menge. Wir möchten mit der Möglichkeit rechnen — trotzdem dies natürlich eine Hypothese ist, — dass die starken, durch Komplementbindung nachgewiesenen Antikörper mit den Krebsantigenen *in vivo* reagierten und zwar auf eine Weise, die die Zerstörung oder Fällung mit nachfolgender Elimination bewirkte. Falls diese Vermutung, wenigstens für manche Fälle, richtig ist, so wäre sie der erste experimentell geführte Beweis, dass die Immunitätsreaktionen bei Menschen serologisch und morphologisch erkennbare Aenderungen an Krebs zu Stande bringen. Die Rolle der Krebsantigene für das Wachstum der Tumoren ist unbekannt. Wir vermuten, dass es sich um wachstumanregende Substanzen handelt (Necrohormone Casparis?) und halten es für möglich, dass ihre Neutralisierung oder Ausfällung zwar nicht die Tumorzelle selbst, sondern ihre Malignität beeinflussen kann. Diese Deutung ist vorderhand hypothetisch, sie gibt uns aber Ansporn im Sinne unserer ersten Mitteilungen zu Versuchen mit Immunitätsreaktionen dem Krebs therapeutisch beizukommen.

Wir möchten auf Grund unserer Versuche eine Vielheit der Krebsantigene nicht definitiv leugnen. Unsere Befunde, dass Sera von Kranken mit Hautkrebsen mit unseren Antigenen meistens nicht reagieren (1 positiver Fall auf 15 negative), könnte z. B. im Sinne einer serologischen Sonderstellung der Hautkrebse gedeutet werden. Unsere Versuche beweisen aber, dass die Sera der meisten Krebskranken auch mit Tumoren anderer Provenienz reagieren und dass wenigstens ein Teil serologisch nicht reagierender Krebse in Realität das gleiche von uns entdeckte Antigen enthalten. Die Krebsdiagnostik lässt sich demnach unter Verwendung eines guten Antigens aufbauen. In wieweit sie durch Anwendung vieler Antigene verbesserungsfähig ist, lassen wir dahingestellt.

Trotzdem somit unsere Erfahrungen mit Seren der Krebskranken für eine Einheit der Krebsantigene sprechen, halten wir für möglich, dass je nach der Art und der Provenienz des Tumors auch andere Antigene in ihm enthalten sind, wie sie anscheinend in den Versuchen von Witebsky mit Krebsglobulinen zum Ausdruck gekommen sind. Es scheint aber, dass es daneben eine bestimmte, allen oder wenigstens sehr vie-

len Tumoren gemeinsame, serologisch fassbare Substanz gibt, der wahrscheinlich tiefere biologische Funktionen zukommen, und die durch die Sera der Krebskranken deutlich nachgewiesen werden kann.

Aus dem staatlichen Hygienischen Institut und der II. chirurgischen Klinik in Warschau.

Mit Unterstützung der Polnischen Akademie der Wissenschaften aus der von weil. Pawel Tyszkowski begründeten Fundation.

Literaturverzeichnis.

1. Hirszfeld, Halber und Laskowski: Polnischer Kongress für Krebsforschung 1929, 27 März. Warszawskie Czasopismo Lekarskie 1929, 16 Maj Nr. 20. — 2. Hirszfeld, Halber und Laskowski: Klinische Wochenschrift Nr. 34 1929. — 3. Hirszfeld, Halber und Laskowski: Zeitschrift für Immunitätsforschung Bd. 64 H. 1/2. 1929. — 4. Witebsky: Habilitationsschrift Gustav Fischer Verlag, 1920. — 5. Witebsky: Klinische Wochenschrift 1930 Nr. 2. — 6. Hirszfeld, Halber, Floksztrumpf und Kołodziejcki: Klinische Wochenschrift Nr. 8, 1930. — 7. Hirszfeld, Halber i Laskowski: Medycyna Doświadczalna T. X z. 5/6. 1929.

Rozwój naczyń krwionośnych w odnózu przedniem u Amblystoma mexicanum Cope. — Die Blutgefäßentwicklung in der vorderen Extremität bei Amblystoma mexicanum Cope.

Mémoire

de M. Z. **GRODZIŃSKI**,

présenté, dans la séance du 7 Avril 1930, par M. H. Hoyer m. t.

(Planches 12—15).

Inhaltsverzeichnis.

1. Allgemeines über Extremitätenentwicklung.
2. Beschreibung der Entwicklungsstadien der Blutgefäße.
 - a) Diskusförmige Anlage der Extremität.
 - b) Lateral gerichteter Extremitätstummel.
 - c) Stadium der Fingerbildung.
 - d) Definitive Verhältnisse.
3. Die prospektive Bedeutung einzelner Gefäßbezirke.
4. Das A. subclavia-Problem.
5. Embryonale Gefäßvariationen.

Allgemeines über Extremitätenentwicklung.

Die Entwicklung der Vorderextremitäten der Amphibien wurde von mehreren Autoren untersucht, die entweder rein descriptiven Zweck hatten oder entwicklungsmechanische Probleme aufklären wollten. Die Ergebnisse beider Arten der Untersuchungen ergänzen sich sehr gut und erläutern befriedigend den sich abspielenden Prozeß.

Die ersten Anlagen der Vorderextremität fand Vogt im jungen Gastrulastadium von *Triton alpestris*, indem er die einzelnen Bezirke der Gastrula mit Vitalfarbstoffen tingierte und nachher beobachtete, wo sich die Farbe in den in der Entwicklung mehr

fortgeschrittenen Larven befindet. Auf diese Weise lokalisierte er das Material für das Mesoderm der Vorderextremität und des Pronephros in dem unterem Rande der 2, 3, 4 und 5 Ursegmente und in den anliegenden Abschnitten der Seitenplatte. Für das Problem der Blutgefäßentwicklung ist es nicht ohne Bedeutung, daß das Material für den Pronephros und die Extremität dicht beieinander angehäuft ist.

Beim Amblystomalarven im Stadium des knospenden Schwanzes befindet sich die Extremitätenanlage nach Swett in der Gestalt eines Diskus im Bereiche des 3, 4, 5 und teilweise des 6 Metameren, etwas unterhalb des Pronephros-Niveaus. Aus dieser Zellenanhäufung sproßt lateralwärts ein rundlicher Extremitätenstummel, der anfangs senkrecht zum Tierleibe steht, so daß es nicht möglich ist, einen radialen und ulnaren Rand in diesem Gebilde zu unterscheiden. Somit ergibt sich ein wichtiger Unterschied zwischen der Entwicklung der Extremitäten von Amblystoma und derjenigen von anderen Wirbeltieren. Bei Selachiern und allen Amnioten besitzt nämlich die Extremitätenanlage die Gestalt einer horizontalen, flachen Falte, deren kranialer Rand als radialer und deren kaudaler als ulnarer bezeichnet wird.

Harrison, der solche und auch ältere Stadien untersucht hat, gibt an, daß die wachsende Extremität beim Axolotl sich dorso-ventral abflacht und zugleich eine Rotation um 45° ausführt. Auf diese Weise verschiebt sich, aus der ursprünglichen horizontalen Lage, der jetzt sichtbare kraniale (radiale) Rand derselben ventralwärts und der kaudale (ulnare) dorsalwärts. Während der späteren Entwicklung schreitet die Rotation um weitere 45° fort und die radioulnare Achse steht senkrecht zur Längsachse des Tieres. Gleichzeitig krümmt sich die Knospe in kaudaler Richtung in der Weise, daß sie mit ihrer flachen Seite die Rumpfhaut berührt.

Während der letzten Etappen dieser Achsenveränderungen verbreitert sich das distale Ende der Knospe schaufelartig. In dieser Schaufel entstehen die Finger in folgender Reihenfolge: zuerst der 1 und 2 und dann der 3 und 4. Sie sprossen nicht knospenartig hervor, sondern werden, wie es Tschernoff ausdrücklich betont, mittels Längsgruben voneinander abgeschnürt.

In der Extremität, deren äußere Gestalt schon gut modelliert ist, verändern sich die praechondralen Skelettelemente in die chon-

dralen. Diese wiederum verknöchern in einer konstanten Reihenfolge, was jedoch für unsere Zwecke keine Bedeutung hat. Viel wichtiger ist es zu wissen, daß das Hineinwachsen von Nerven und Blutgefäßen immer der Chondrifikation der Skelettelemente voraneilt. Diese Tatsache erklärt die merkwürdige Gefäßanordnung in der Karpusgegend.

Beschreibung der Entwicklungsstadien der Blutgefäße.

Diskusförmige Anlage der Extremität.

Bei 11 mm. langen *Amblystomal*arven (Fig. 1, Taf. 12) durchdringen die ersten Blutgefäße die Extremitätenanlage. Sie stammen von dem System der Hautgefäße, in welchem sich Längs- und Quergefäße unterscheiden lassen. Zu den Längsgefäßen gehört die *V. cutanea magna* und die *A. epigastrica* (Fig. 1, Vcl, Ae). Die Arterie liegt dicht unter der Haut im Bindegewebe, an der Grenze zwischen der Längsmuskulatur des Bauches und der Quermuskulatur des Rumpfes. Von vorne mündet in sie ein Ast der *A. segmentalis dorsalis* (Fig. 1, As), dessen Verlauf dem Verlaufe des ventralen Seitenastes der *V. cutanea m* ähnelt. Die Vene verläuft in der seitlichen Mittellinie der Larve und mündet vorne in das *Pronephros*. Auf ihrem ganzen Verlaufe nimmt sie dorsal und ventral metamere Seitenäste auf, die unter der Haut in den Muskelsepten verlaufen. Die ventralen Seitenäste reichen bei diesen Larven bis zu dem anderen Längsgefäße, zu der *A. epigastrica*. Das kaudale Ende beider Längsgefäße interessiert uns nicht.

Die Blutgefäße der Extremitätenanlage stammen von der erwähnten *A. segmentalis d.* (Fig. 1, As), die kaudal von der Anlage verläuft. Von diesem Gefäße dringen in die Anlage einige (2—4) Ästchen, deren Zahl sogar bei demselben Exemplare an der linken und rechten Körperseite verschieden ist. Die Gefäße teilen sich weiter und bilden ein Netz, welches sich zum Bereiche der Anlage begrenzt und kranial von ihm in eine segmental verlaufende Vene mündet (Fig. 1, Vs). Außerdem erreicht das Gefäßnetz direkt das anliegende *Pronephros* (Fig. 1, P) mit einigen Ästchen (2—3). Somit stammt das Blut der Extremität aus der *A. segmentalis*, durchläuft ein Kapillarnetz in der Anlage und ergießt sich in das *Pronephros*, weil auch die kranial von der Anlage liegende *V. segmentalis* in dasselbe Gebilde mündet. Die

nahen Beziehungen zwischen Extremität und Pronephros erscheinen im Lichte der Vogt'schen Untersuchungen ganz natürlich, weil das Material für diese Organe auf derselben Stelle in Gastrula untrennbar lokalisiert ist.

Lateral gerichteter Extremitätstummel.

Die bisher ganz flache Anhäufung der Zellen der Extremitätanlage wächst bei den 13—17 mm. langen Larven sehr schnell (Fig. 2—6, Taf. 12). Sie wölbt die Haut. Die Wölbung verlängert sich in einen rundlichen Stummel, der sich langsam abflacht und sich um seine eigene Längsachse dreht. Die Blutgefäße folgen passiv allen diesen Vorgängen. Die dabei vorkommenden Veränderungen lassen sich in drei Gruppen einteilen: 1) Differenzierung in praevenösen und praearteriellen Kapillaren. 2) Vergrößerung des Gefäßnetzes. 3) Entstehung der proximalen Gefäßstämme der Gliedmasse.

Der Wölbung der Extremität folgend, richtet sich das bis jetzt flach ausgebreitete Kapillarnetz auf (Fig. 2). Dabei behalten seine einzelnen Abschnitte die Verbindungen mit den entsprechenden Arterien und Venen. Es entstehen folglich zwei Systeme der Kapillaren: der eine der kranialen Hälfte der Extremitätknospe mit der Segmentalvene verbunden, — also praevenösen Characters, — und der andere der kaudalen Hälfte der Knospe mit Segmentalarterie verbunden, — praearteriellen Characters (Fig. 3, 4). Nachdem die Gliedmasse eine vollkommene Rotation ausführt und sich nach rückwärts bis zur Berührung mit der Rumpfhaut umbiegt, kommt das praevenöse System nach außen und das praearterielle nach innen zu liegen (Fig. 6). Die beiden Systeme sind immer mit einander verbunden, die Art und Weise dieser Verbindungen wechseln jedoch mit den Fortschritten der Ausbildung der Gefäßstämme.

Mit der Vergrößerung der Extremitätknospe vergrößert sich, wenigstens anfangs, das Kapillarnetz. Wenn wir jedoch die Abbildungen verschiedener Stadien miteinander vergleichen (Fig. 3—6), ergibt sich, daß das Kapillarnetz in den proximalen Teilen der Extremität nicht mehr vorhanden ist, daß es jedoch in den distalen stets in größerem oder kleinerem Umfange auftritt. Theoretisch existieren zwei Möglichkeiten der Erklärung dieses Vor-

ganges. Nach der einen Anschauung wachsen die proximalen Gefäßstämme in die Extremität hinein und verschieben das Kapillarnetz distalwärts. Nach der anderen entwickelt sich das Kapillarnetz im Bereiche der ganzen Knospe, einzelne Strecken in dem proximalen Abschnitte des Netzes erweitern sich in Gefäßstämme und die anderen obliterieren. Obwohl ich zu den Anhängern der zweiten Anschauung gehöre, bin ich nicht im Stande das auf Grund meines Materials zu begründen. Einen einwandfreien Beweis konnte man bringen, wenn man im Stande wäre die Blutgefäßentwicklung in einem einzigen lebenden Exemplare zu verfolgen. Ich habe eine größere Anzahl von injizierten Exemplaren zur Verfügung, ich kann nur die Unterschiede zwischen verschiedenen Stadien feststellen, aber um zu beweisen, wie sich diese Unterschiede entwickeln, liegt außerhalb meiner Möglichkeit.

Dem oben Gesagten folgend, muß ich mich nur auf die Feststellung begrenzen, welche Gefäße erscheinen, und bei Seite lassen, wie das geschieht. Im Bereiche des praearteriellen Kapillarnetzes, welches anfangs in 2—4 Stellen mit der *A. segmentalis* verbunden war, verschwinden diese Verbindungen bis auf eine (Fig. 6, Ab). An der Stelle der proximalen Teilen der Kapillaren, also im künftigen Arme existiert definitiv nur ein Gefäßstamm: die *A. brachialis*. Sie verläuft in der Mitte der kaudalen Hälfte der Extremitätknospe und übergeht mit ihrem distalen Ende in ein Kapillarnetz. Es gibt Ausnahmen in dieser Anordnung, es können zwei *Aa. brachiales* bei viel älteren Larven vorkommen (Fig. 8, Taf. 12). Mit dem Momente, in welchem die *A. brachialis* als ein Stamm von *A. segmentalis* entspringt, verdient die letztere den Namen der *A. subclavia* (Fig. 4, 5, 6, Asu, Taf. 12).

Das Venensystem, welches immer in der Entwicklungsstufe von dem arteriellen überholt wird, ist sogar in den proximalsten Abschnitten der Gliedmasse noch weit von den definitiven Verhältnissen entfernt. Von dem praevenösen Kapillarnetze entstehen 2—3 Stämme (Fig. 4, 5, 6), die in der Längsachse des Armes verlaufen, in der Schultergegend sich zu einem Gefäße vereinigen, welches das Pronephros erreicht. Manchmal existieren in dieser Stelle zwei parallele Verbindungen. Die Oberarmgefäße entsprechen der *V. brachialis*, vorläufig jedoch läßt sich nicht entscheiden, welchen von ihnen dieser Name gebürt, weil sie alle gleich stark sind. Die in das Pronephros mündende Vene ver-

dient den Namen *V. subclavia* (Fig. 4, 5, Vsu.). Ob sie aus dem entsprechenden Abschnitte der, vom ersten Stadium bekannten, Segmentalvene, oder aus einem der Verbindungsäste des Kapillarnetzes mit *Pronephros* stammt, läßt sich nicht entscheiden. Die Abbildung 4 und 5 sprechen für die zweite Annahme, weil da eine Segmentalvene kranial von der Extremitätenanlage immer noch verläuft. Die Gefäßanordnung in den Abbildungen 2, 3 und 9 läßt sich besser mit der ersten Annahme erklären. Vielleicht beiderlei Vorgänge kommen vor.

Stadium der Fingerbildung

In diesem Stadium ist die abgeflachte Extremität nach rückwärts umgebogen. Stufenweise werden in ihr die Finger, sowie der Unterarm und Arm herausmodelliert (Fig. 7—11, Taf. 13, 14). Da die Blutgefäße den Gestaltumbildungen der von ihnen ernährten Organe folgen, soll ihre Entwicklung in den einzelnen Abschnitten der Extremität, und zwar in der Richtung des Blutstromes beschrieben werden, also Arterien des Armes, des Vorderarmes und der Finger, die Venen dagegen im umgekehrter Reihenfolge.

Die *A. subclavia* wird immer stärker und gibt einen Teil des Blutes der *A. epigastrica* ab, den Rest der *A. brachialis* (Fig. 7—11, Ab). Die letztere unterliegt im Bereiche des Armes geringen Veränderungen. Es ändert sich nur ihre Lage durch Verschiebung von der Mittellinie radialwärts, was der Wirkung der sich formierenden Humerus zuzuschreiben ist. Bei älteren Embryonen (Fig. 11, Ab) kommuniziert sie hier mit den Venen mittels der definitiven Kapillaren, die sich hier neu entwickeln.

Im verbreiterten distalen Ende der Extremität zerfällt die *A. brachialis* in ein Kapillarnetz. Wenn der Vorderarm von dem Arm einerseits und vom Karpus und den Fingern anderseits sich abzusetzen beginnt, verlängert sich die *A. brachialis* direkt in einen Stamm, der in der Mittellinie des Vorderarmes liegt und den Namen *A. interossea* besitzt (Fig. 11, Ai). Bei den Larven von 29 mm. Länge beginnt dieselbe Verbindungsgefäße zu den Venen auszuschicken (Fig. 10, Taf. 13).

Komplizierter gestalten sich die Verhältnisse im Bereiche der Fingeranlagen, wo sich die *Aa. digitales* an der radialen und ulnaren Seite der Finger entwickeln (Fig. 9, 10, Adu, Fig. 11. Adu,

Adr). In der Reihenfolge der Entstehung richten sie sich nach dem Entwicklungsgrade der Finger. Bei 20 mm. langen Larven sind die Zellanhäufungen für den ersten und zweiten Finger sichtbar, welche durch eine longitudinale Einsenkung der Gewebe getrennt werden. Von einem Gefäße, das die Basis der Finger erreicht, dringen zwei Gefäßschlingen in die Fingeranlagen (Fig. 7) und verlaufen an den einander zugekehrten Fingerseiten. Es entsteht die *A. digitalis ulnaris I.* und die *A. d. radialis II.*

In ähnlicher Weise entstehen die Arterien zwischen II und III Finger (Fig. 8) und zwischen III und IV (Fig. 9). Dabei lässt sich noch feststellen, daß die *Aa. digitales radiales* denen an der ulnarwärts gerichteten Seite desselben Fingers voraneilen (II Finger — Fig. 7, III Finger — Fig. 8) Verhältnismäßig spät und in einer ganz anderen Weise werden die Außenarterien, die s. g. *Aa. radiomarginalis* und *ulnomarginalis* (Fig. 12, Arm, Aum) des ersten und vierten Fingers angelegt. Die *A. ulnomarginalis* (Fig. 11, Aum) besteht in dem proximalen Abschnitte des Fingers aus einem Längsgefäße, das höchstwahrscheinlich aus dem Netze indifferenter Kapillaren entsprang. Ihr distaler Abschnitt ist noch nicht angelegt. Ähnliches läßt sich an der *A. radiomarginalis* beobachten.

Die ersten entstandenen Fingerarterien nehmen in der zukünftigen *A. interossea* ihren Ursprung und bilden ihre direkte Verlängerung (Fig. 7). Da jedoch auch andere Finger Gefäße aus ihr erhalten, verändert sich die Lage der Arterie zu den Fingern. Ihr Verlauf deckte sich anfangs mit der Längsachse des ersten Fingers, in dem letzten und definitiven Stadium bildet der dritte Finger die Verlängerung ihrer Verlaufsrichtung (Fig. 11, Ai). Infolgedessen entstehen zwei neue Gefäßbildungen: der *Arcus arteriosus dorsalis manus* und drei *Aa. interstitiales dorsales* (Fig. 11, Aus, Aid). Der *Arcus* entspringt aus der *A. interossea* und verläuft quer zum Karpus. Von ihm gehen die *Aa. interstitiales* aus, die zu den Fingerwurzeln verlaufen und sich daselbst in zwei Digitalarterien spalten.

In ähnlicher Weise wie die Fingerarterien werden die Fingervenen angelegt. In jeder Fingerspitze biegt die *A. digitalis* schlingenartig dorsalwärts um und verläuft als gleichnamige Vene proximalwärts, wo sie die entsprechende Vene des Nachbarfingers trifft (Fig. 7). Beide zusammen münden in das praevenöse Kapillarnetz des Karpus. Die Reihenfolge der Entstehung der Digital-

venen ist genau dieselbe wie die der Arterien. Die Venen radiomarginalis und ulnomarginalis treten von Anfang an als einheitliche starke Gefäße auf, was sie von den gleichnamigen Arterien unterscheidet (Fig. 9, 10, 11, Vum, Vrm).

Somit verlaufen in jedem Finger an seiner ulnaren und radialen Seite zwei Gefäße: volar eine Fingerarterie und dorsal eine Fingervene. Die ulnaren sowie die radialen Gefäße stehen auf jeder Fingerseite von Anfang an miteinander in Verbindung (Fig. 7, 8). Erst später (Fig. 9) greifen sie in der Fingerspitze auf die andere Seite über und umgeben die praechondralen Skelettelemente mittels Anastomosen auf der Dorsal- und Ventralseite. Diese Anastomosen verbreiten sich im Bereiche des ganzen Fingers (Fig. 11) aus und bedecken ihn mit einem dorsalen und volaren Kapillarnetze.

Die Venen des Karpus und des Unterarmes unterliegen zwei verschiedenen Einflüssen, indem sie sich einerseits den Fingervenen, andererseits den Armvenen anpassen. Die Zahl der Fingervenvenen wächst bis fünf, von denen die drei mittleren zweigespalten sind. Von den 2—3 Armstämmen bleibt nur ein einziges übrig. In Anpassung an diese Veränderungen kann die weitere Entwicklung verschiedene Wege einschlagen, zumal da in dieser Gegend ein reichliches praevenöses Kapillarnetz vorhanden ist.

In der Regel existieren im Karpus nach vollkommener Anlage der Finger (Fig. 10, 11) fünf Venen, die ihr Blut in die Vorderarmvenen ergießen. Im Vorderarme vereinigen sie sich zu drei, in weiterem proximalen Abschnitte zu zwei Gefäßen, die proximal vom Ellenbogengelenk in eine V. brachialis übergehen (Fig. 9, 10, Vb). Die V. brachialis geht in die V. subclavia über, die in das Pronephrosgefäßnetz mündet (Fig. 7, 11, Vsu, P).

Während im Bereiche des Karpus und Vorderarmes stattfindender Umgestaltung des Venensystems, macht sich die Abhängigkeit der Gefäße von dem Entwicklungszustande der von ihnen versorgten Organe deutlich geltend. Im Stadium, wo nur die drei ersten Finger gut angedeutet sind, ist die wichtigste Vene diejenige, die in der Verlängerung der V. radiomarginalis (Fig. 8) bis zur V. subclavia verläuft. Mit Vermehrung der Fingerzahl gesellen sich zu ihnen später die Venen, die die Fortsetzung der V. interstitialis I und II bilden (Fig. 9), nachher entwickeln sich noch zwei weitere (Fig. 11).

Die Stärke dieser Gefäße variiert beträchtlich. Anfangs ist das dem radialen Extremitätenrande nächstliegende Gefäß das mächtigste. Bald erreichen die Nachbargesäße den gleichen Durchmesser, weil sie die sich entwickelnden Finger versorgen. Der Wettbewerb der Gefäße um die Beförderung des Blutes wird schliesslich zu Gunsten des mittleren (dritten) entschieden (Fig. 11, Vi). Die zweite Vene, vom radialem Rande gerechnet, bleibt die schwächste. Die vierte wird zum Nebenaste der dritten. Die erste und fünfte bleiben im Vorderarme als selbstständige Gefäße übrig, obwohl sie an Bedeutung sehr viel zu Gunsten der dritten Vene eingebüßt haben. Die mittlere trägt den Namen *V. interossea*, die Randvenen: *V. radiomarginalis* und *V. ulnomarginalis*.

Hochstetter hat die Entwicklungsgeschichte der Extremitätengefäße bei *Triton alpestris* und *T. cristatus* untersucht. Er machte seine Beobachtungen an lebendigen Embryonen, was den Vorteil hatte, daß er nach der Richtung des Blutstromes die Arterien von den Venen unterscheiden konnte. Seiner Beobachtung entzogen sich aus technischen Gründen die Gefäße der diskusförmigen Anlage. In älteren Stadien sind die Verhältnisse bei *Amblystoma* viel komplizierter, als es Hochstetter für *Triton* angibt. Außer der *A. interossea*, *V. radiomarginalis* und *ulnomarginalis*, existiert beim Axolotl noch eine *V. interossea* und an jeder Fingerseite je eine Arterie und je eine Vene. Von diesen letzteren gibt Hochstetter nur eine Arterie und eine Vene an, die den Finger schlingenartig umgreifen. Auch sämtliche Kapillaren wurden in seinen Abbildungen nicht berücksichtigt.

Definitive Verhältnisse.

Bei erwachsenen Exemplaren von *Amblystoma* entspringt die *A. subclavia* aus der Aorta im dritten Segmente, von dem Aortenwurzelnach rückwärts gerechnet und dringt zwischen den Muskeln bis zum Schultergürtel vor, an dessen medialer Fläche sie bis zur Achselgegend verläuft (Fig. 12, Asu, Taf. 15). Dort teilt sie sich in mehrere Zweige. Der eine behält seine primäre Richtung bis zur *A. epigastrica* in der Bauchwand bei. Der andere, die *A. dorsalis scapulae* (Fig. 12, Ad), ernährt die Muskeln der dorsalen Fläche des Schultergürtels. Der dritte — die *A. coraco-clavicularis* (Fig. 12, Ace) versieht die gleiche Funktion im kranialen Abschnitte der ventralen Fläche des Schultergürtels.

Der vierte, für uns der wichtigste Zweig — die A. brachialis (Fig. 12, Ab) wendet sich an den radialen Rand des Humerus, verläuft bis zum Ellenbogengelenk, gelangt auf die volare Seite des Vorderarmes und setzt sich dann als die A. interossea (Fig. 12, Ai) zwischen Radius und Ulna bis zum Karpus fort. Dasselbst dringt sie durch eine Spalte zwischen den Knochen Intermedium, Ulnare und Carpale IV auf die dorsale Oberfläche der Hand, wo aus ihr der Arcus arteriosus dorsalis manus (Fig. 12, Aus) hervorgeht.

Das merkwürdige Durchdringen der Arterie durch den Karpus wurde von Zuckermandl bei vielen Amphibien und Reptilien vergleichend anatomisch untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß bei denjenigen Tieren, bei welchen das Os intermedium entweder gänzlich fehlt oder stark reduziert ist, die Perforation ausbleibt. Somit wäre hier die Anordnung der Gefäße von dem Skelette abhängig.

Der Arcus arteriosus dorsalis manus (Fig. 12, Aus) verläuft unmittelbar oberhalb der distalen Reihe der Karpalknochen. Es entspringen von ihm drei Aa. interstitiales dorsales (Fig. 12, Aid), die sich in die Aa. digitales radiales und ulnares (Fig. 12, Adu, Adr) der entsprechenden Finger teilen. Außerdem verbindet sich der Arcus mit der A. ulnomarginalis (Fig. 12, Aum), die schon auf der ganzen Länge des vierten Fingers gut entwickelt ist und sogar bis zum Unterarm reicht. Die A. radiomarginalis (Fig. 12, Arm) übertrifft sogar die entsprechende Arterie des ulnaren Randes, da sie bis zu der Spitze des ersten Fingers reicht und proximal aus der A. brachialis entspringt.

Die Fingervenen (Fig. 12, Vdu, Vdr) liegen dorsal von den gleichnamigen Arterien. Sie vereinigen sich zu den Vv. interstitiales dorsales (Fig. 12, Vid). Die zweite und dritte von ihnen vereinigen sich zur V. interossea (Fig. 12, Vi), die der Ulna in ihrem Verlaufe folgend zum Ellenbogengelenk gelangt. Dort dringt sie zwischen Radius und Ulna von der äußeren an die mediale Fläche des Armes. An dem radialem Rande des Humerus vereinigt sie sich mit anderen Venen des Vorderarmes zur V. brachialis (Fig. 12, Vb).

Die V. ulnomarginalis (Fig. 12, Vum) verläuft neben der gleichnamigen Arterie. Bevor sie jedoch den Ellenbogen erreicht, wendet sie sich unter geradem Winkel radialwärts um, kreuzt die

Unterarmknochen und mündet am radialem Rande der Extremität in die V. radiomarginalis (Fig. 12, Vrm), die auch das Blut der ersten Interstitialvene ableitet. Die so verstärkte V. radiomarginalis vereinigt sich mit der V. interossea zur V. brachialis.

Die letztgenannte verläuft an der äußeren Oberfläche des Humerus bis zur Achselgrube, wo sie V. dorsalis scapulae (Fig. 12, Vd) empfängt und schließlich in die V. subclavia mündet. In dieser Gegend existiert medial vom Schultergelenke ein mächtiges, aus starken Gefäßen gebildetes Netz, welches jedoch in der Abbildung nicht eingetragen ist. Die V. subclavia mündet in die entsprechende V. cardinalis p.

In einem von meinen Präparaten erreicht die V. ulnomarginalis stärkere Dimensionen als V. interossea, mit der sie in direkter Verbindung steht. Die V. radiomarginalis behält ihren normalen Verlauf. Im übrigen sind alle Fingervenene sowie alle Arterien in typischer Weise verteilt.

Die prospektive Bedeutung einzelner Gefäßbezirke

Swett untersuchte mit gutem Erfolge die prospektive Bedeutung einzelner Abschnitte der allerjüngsten Extremitätenanlage. Er teilte den, die Anlage bildenden, Diskus in der Weise in die Quadranten, daß der vordere dorsale kleiner als die hinteren und ventralen sind. Der vordere dorsale und die anliegende Partie des hinteren dorsalen Quadranten bilden die Extensorenseite der Extremität (Abb. 1a, 1b, I + II). Der Rest des hinteren dorsalen Quadranten liefert die Flexorenseite der Extremität (Abb. 1a, 1b, II). Der hintere ventrale beteiligt sich nur in geringem Maße an der Bildung der Schulter, seine Zellen bleiben vorwiegend in der Rumpfwand (Abb. 1a, 1b, III). Der vordere ventrale liefert nur einen kleinen Streifen der Extremität längs seines radialen Randes, der Rest der Zellen beteiligt sich an der Bildung der Rumpfwand (Abb. 1a, 1b, IV).

Wenn wir die Abbildung der Extremitätenanlage mit eingetragenen Gefäßen in die vier Swett'schen Quadranten einteilen (Abb. 1) sind wir im Stande zu beurteilen, welche Teile des Kapillarnetzes in die Extremitätenanlage zugleich mit anderen Mesodermbildungen eindringen, welchen Abschnitt sie mit ihren Verzweigungen einnehmen und welche in der Rumpfwand zurück-

bleiben. Die Kapillaren des mit Nummer I bezeichneten Abschnittes der diskusförmigen Anlage liefern die V. brachialis, V. interossea und die V. ulnomarginalis der fertigen Extremität. Von den Gefäßen des Abschnittes Nr. II nehmen die A. brachialis, die A.

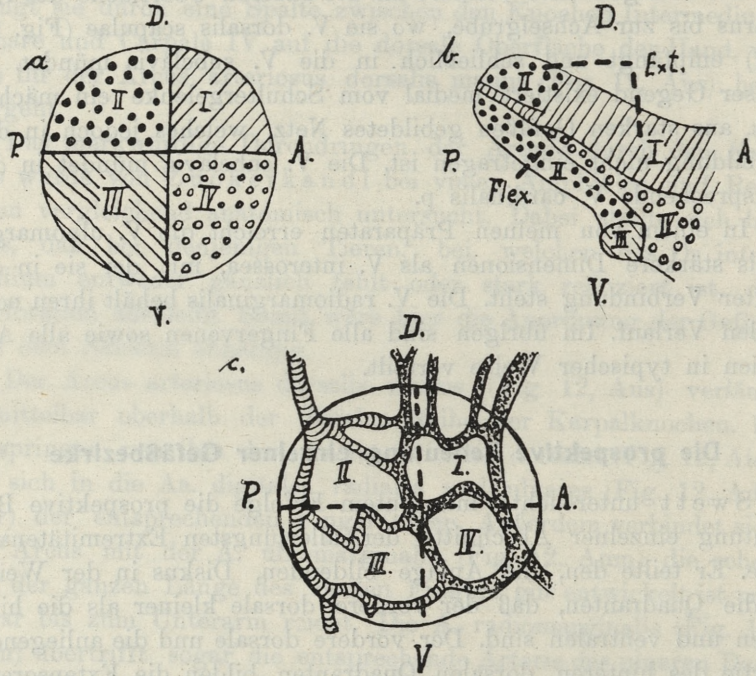


Abb. 1.

a. Prospektive Bedeutung der diskusförmigen Extremitätknospe nach Swett-Harrison. b. Lokalisierung des Materials der diskusförmigen Knospe in einer älteren stummelartigen Knospe nach Swett-Harrison. c. Diskusförmiges Stadium mit eingetragenen Gefäßanlagen. Erklärung der Abkürzungen: A — Vorderrand, D — Dorsalrand, Ext — Extensorenseite, Flex — Flexorenseite, P — Hinterrand, V — Ventralrand. Die römischen Zahlen bezeichnen die Quadranten.

interossea (?) und die A. radiomarginalis ihren Ursprung. Die A. coracoclavicularis, die A. dorsalis scapulae und das reiche Netz unterhalb des Schultergürtels stammen von dem Abschnitte Nr. III. Die Kapillaräste des vierten Abschnittes liefern vielleicht die V. radiomarginalis.

Das Arteria subclavia-Problem.

Die lange Jahrzehnte dauernde Diskussion über die Art und Weise der Entstehung der A. subclavia bei Wirbeltieren gab den Anlaß zu eingehenden Untersuchungen, die das Problem von verschiedenen Standpunkten beleuchteten. Die anfangs diametral entgegengesetzten Anschauungen führten durch die neu entdeckten Tatsachen schließlich zur Ausgleichung dieser Differenzen.

Alle behaupteten einstimmig, daß die A. subclavia zu dem System der Segmentarterien gehört, indem sie aus der Aorta hervorgeht und sehr oft wenigstens teilweise den segmentalen Verlauf beihält. Die Entstehungsweise dieser Arterie war jedoch strittig. Die einen behaupteten, daß nur eine Segmentarterie, beziehungsweise ein Ast von ihr in die Extremitätenanlage hineinwächst und sich dort ausbreitet. Die anderen meinten, daß mehrere solcher Arterien die Extremitätenknospe erreichten. Beide Beobachtungen waren richtig, bezogen sich aber auf verschiedene Entwicklungsstadien. Bei sehr jungen Embryonen existieren mehrere Segmentarterien, die sich in der Extremitätenknospe mittels eines Kapillarnetzes miteinander verbinden (Selachii — Molier 1894, Wetterdal 1921, Lacerta—Svensson 1908, Vögel—Rabl 1906, Müller 1908, Evans 1909, Säuger—de Vriese 1902, Müller 1904, Göppert 1908, Woolard 1924).

Eine von diesen Arterien entwickelt sich stärker als die anderen, sie leitet ihr Blut auch den Kapillaren der benachbarten Segmente zu und vergrößert auf diese Weise ihren Ernährungsbezirk. Gleichzeitig mit der Expansion einer Segmentarterie, verkleinern sich die anderen und verlieren schließlich die Verbindung mit dem Kapillarnetze. Diejenigen Autoren, die gerade dieses Stadium untersuchten, waren überzeugt, daß die A. subclavia nur aus einer Segmentarterie hervorgeht (Selachii—Dohrn 1889, Vögel—Hochstetter 1890, Sabin 1905, Säugetiere—Zucker-kandl 1895).

Hochstetter war jedoch dessen bewußt, daß »ein Ast der entsprechenden segmentalen Arterie auf die Extremitätenanlage übergreift und allmählich an Ausdehnung gewinnt, auch auf Nachbarsegmente übergreift und unter Umständen das Verzweigungsgebiet benachbarter segmentaler Arterien ganz oder teilweise übernimmt, was bei manchen Formen zu einem Schwinden ihrer

Anfangsstücke führen kann«. Mit Recht betonte er weiter, daß die Entstehung einer *A. subclavia* «aus der Verschmelzung von zwei oder gar noch mehr» Segmentalarterien unmöglich ist. Merkwürdiger Weise bleiben diese Bemerkungen Hochstetters von seinen Gegnern unbemerkt. Somit wurde vom Hochstetter nur die Anwesenheit des Kapillarnetzes, eine für die Erklärung des ganzen Prozesses der Entstehung der *A. subclavia* wichtigen Gebildes, nicht anerkannt.

Bei Amphibien (*Amblystoma*) existieren die vollentwickelten Segmentalarterien, bevor die Extremitätenanlage auftritt. Wenn letztere jedoch die entsprechende Größe erreicht hat, erhält sie die ersten Blutgefäße von derjenigen *A. segmentalis* (Fig. 1, *As*), die unmittelbar kaudal von der Anlage verläuft. Aus diesen Gefäßen entsteht während der weiteren Entwicklung die *A. brachialis*. Im proximalen Abschnitte dieser *A. segmentalis* ist die erste Anlage der *A. subclavia* zu sehen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß bei *Amblystoma* nur eine *A. segmentalis* die Extremitätenanlage erreicht, die *A. subclavia* somit nur aus einer einzigen Segmentalarterie entsteht. Es ist dies anders als bei allen Wirbeltieren. Eine Erklärung dieser Tatsache ist in der Entwicklungsweise der Extremität zu suchen. Die Gliedmaßenanlagen treten auf, nachdem die *Aa. segmentales* im Bereiche derselben einen vollkommenen Entwicklungsgrad erreicht haben. Die Anlage selbst, obzwar aus dem Material mehrerer Segmente bestehend (Vogt 1926, Swett 1923) nimmt eine rundliche kompakte Gestalt an. Sie dehnt sich nicht leistenförmig über mehrere Segmente wie bei anderen Wirbeltiergruppen aus, sondern beschränkt sich auf ein Segment, das vorne von einer Vene und hinten von einer Arterie deutlich abgegrenzt ist (Fig. 1, *As*, *Vs*). Infolgedessen dringen in die Anlage nur die Zweige einer einzigen *A. segmentalis* ein.

Es wäre nicht statthaft aus diesem Verhalten der Blutgefäße irgendwelche Schlüsse gegen die Homologie der Amphibienextremität mit denen der anderen Wirbeltieren zu ziehen. Die Blutgefäße passen sich in ihrer Entwicklung an den Gewebsaufbau und die Entwicklungsstufe des entsprechenden Organes an. Anders verhalten sich die Nerven. Sie gelangen, wie schon längst bekannt ist, zur Extremität der *Amblystoma* von mehreren Segmentalnerven. Sie verhalten sich ontogenetisch primitiver als die

Blutgefäße und erreichen die Anlage früher als sie. Während der weiteren Entwicklung der Extremität eilen sie der Blutgefäßentwicklung höchstwahrscheinlich voran.

Embryonale Gefäßvariationen.

Die Blutgefäße der erwachsenen Wirbeltiere zeigen in ihrem Verlaufe individuelle Variationen, die in einer Unmenge von Arbeiten beschrieben worden sind. Die Entstehung der Varietäten wurde verschiedenartig zu erklären versucht. Schwalbe behauptete, daß sie auf direktem Wege angelegt werden, das heißt, die Gefäße schlagen schon bei der Entwicklung einen atypischen Weg ein.

Recht verbreitet war die Anschauung, daß manche Varietäten einen atavistischen Charakter tragen. Wenn zufälliger Weise die Varietäten der Blutgefäße des Menschen beim Vergleich mit den Blutgefäßen verschiedener Wirbeltiere den typischen Verlauf der niederen Wirbeltiere aufwiesen, war man geneigt zu behaupten, daß hier die bei den Ahnen gebahnten Wege zum Vorschein kommen.

Schließlich versuchte man mit Hilfe der Embryologie eine Erklärung zu finden. Badder, Abey und Krause nahmen an, ohne besondere Untersuchungen vorzunehmen, daß junge Embryonen von einem indifferenten Gefäßnetze in allen Richtungen durchdrungen werden. Manche vom Blutstrom bevorzugten Strecken dieses Netzes würden als definitive Stämme übrigbleiben, während die anderen gänzlich verschwinden. Bei Annahme eines solchen Entwicklungsverlaufes würde es sehr viel Gelegenheit zur Bildung von Varietäten geben.

Diese Theorie mußte einigen Beschränkungen unterliegen, nachdem die Arbeiten von de Vriese, Müller, Wetterdal, besonders Evans und vielen anderen veröffentlicht wurden. Sie zeigten, daß indifferente Kapillarnetze im embryonalen Körper wirklich vorkommen, aber daß sie immer eine bestimmte Lage haben und nicht diffus den Körper durchdringen. In diesem Kapillarnetze können viele Varietäten ihren Ursprung nehmen. Aber nicht nur die allerjüngsten Stadien sind für die Entstehung der Varietäten günstig, dasselbe gilt auch für die älteren. Göppert wies dies an den Extremitätenarterien der Maus nach, wo ver-

hältnismäßig starke Stämme obliterieren zu Gunsten der sich ausbreitenden, bis dahin schwachen Anastomosen.

Die verwickelten Verhältnisse der hinteren Hohlvene klärte ferner Mac Clure und Huntington auf, indem sie ein Schema des »composite ontogenetic venous plan« angeben. Auf Grund dessen gelang es ihnen achtzehn Variationsmöglichkeiten im Verlaufe der hinteren Hohlvene anzugeben und entwicklungsgeschichtlich zu deuten.

Die Gefäßvariationen der Vorderextremität wurden bei erwachsenen Axolotlen nicht näher untersucht, kommen aber höchstwahrscheinlich vor, weil die Variationsbreite der embryonalen Gefäße sehr groß ist. Wie ich mich überzeugt habe, lassen sich in jedem Stadium kaum zwei identische Bilder der Gefäßverteilung finden; sogar bei einem und demselben Exemplare gleichen die Gefäße der rechten Extremität nicht denen der linken.

Die Verteilung der Gefäße in dem allerjüngsten Stadium der Gliedmassenknope variiert beträchtlich bei derselben Larve (Abb. 2). Nicht einmal die Segmentalgefäße verlaufen identisch. Die Anordnung ihrer Äste in der Anlage ist gänzlich verschieden, was ein Blick auf die Textabbildung 2 veranschaulicht.

Die Kapillaren und die stärkeren Gefäße zeigen in der stummelartigen Gliedmassenanlage (Fig. 2—6, Taf. 12) auch eine große Variationsbreite bezüglich der Zahl, der Lage und gegenseitiger Verbindung. Eine »Standarisierung« läßt sich nur im Bereiche der A. und teilweise der V. subclavia feststellen. Besonders die Arterie zeigt einen regelmäßigen Verlauf.

Bei älteren Larven, die schon die Fingeranlagen in verschiedenen Entwicklungsstadien aufweisen (Fig. 7—11 Taf. 13, 14), unterliegen der Standarisierung andere Gefäße in der folgenden Reihenfolge: A. brachialis, V. subclavia, V. brachialis, A. interossea. In den Extremitäten desselben Alters zeigen die distalen Gefäßabschnitte eine grosse Mannigfaltigkeit der Anordnung. Es kommt natürlich vor, daß manche Gefäße, die in einem bestimmten Stadium standarisiert sein sollten, noch den atypischen Verlauf (Fig. 8, Ab) haben. Sie können vielleicht noch die Norm erreichen, oder sie können als s. g. Gefäßvariationen bei erwachsenen Tieren zurückbleiben.

Wenn man die Gefäßanordnung der verschiedenen Entwicklungsstadien der vorderen Extremität miteinander vergleicht, ergibt sich, daß bei älteren Larven die Gefäße viel mehr standarisiert

sind als bei jüngeren. Das hängt vielleicht mit dem Zustande des die Anlage bildenden Materials zusammen. Bei den jüngeren ist es homogener und die Blutgefäße wachsen unbehindert hinein. Bei älteren Larven differenzieren sich die Muskeln und die prae-

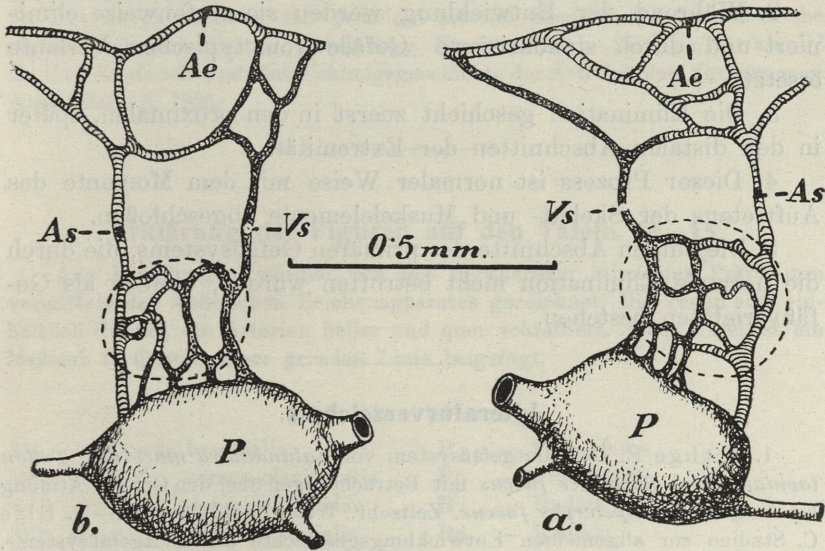


Abb. 2.

Axolotllarve vom 11 mm. Länge. Blutgefäße der diskusförmigen Gliedmassenanlage (a — rechte, b — linke) desselben Tieres. Die Zeichenerklärungen sind in dem Abschnitte »Erklärungen der Tafeln« angegeben.

chondralen Skelettelemente aus, die im Stande sind die Gefäße aus ihren primären Lage zu verschieben und praedeterminieren auf diese Weise einzelne Strecken der Blutbahnen für die stärkere Blutleitung als andere. Die ersten entwickeln sich zu starken Stämmen, die anderen obliterieren gänzlich oder bleiben nur als schwache Gefäße bestehen. Daß bei den erwachsenen Tieren die Blutgefäße einen mehr oder weniger ähnlichen Verlauf haben, hängt mit dem mehr oder weniger standarisierten Bau der Skelettelemente und der Muskeln zusammen.

Es darf jedoch nicht vergeßen werden, daß auch verschiedene Defekte in den Gefäßen zur Entstehung und Persistenz von Varietäten führen können.

Das Problem der Gefäßvariationen der vorderen Extremität des Axolotls läßt sich auf Grund der vorliegenden Untersuchungen folgendermassen präzisieren:

1. Die Gefäßvariationen existieren von Anfang an in den allerjüngsten Extremitätenanlagen.

2. Während der Entwicklung werden sie stufenweise eliminiert und durch standardisierte Gefäße vom typischen Verlaufe ersetzt.

3. Die Elimination geschieht zuerst in den proximalen, später in den distalen Abschnitten der Extremität.

4. Dieser Prozess ist normaler Weise mit dem Momente des Auftretens der Skelett- und Muskelelemente abgeschlossen.

5. Diejenigen Abschnitte des primären Gefäßsystems, die durch die normale Elimination nicht betroffen wurden, bleiben als Gefäßvarietäten bestehen.

Literaturverzeichnis.

1. Bethge E. Das Blutgefäßsystem von *Salamandra maculata*, *Triton taeniatus* und *Spelerpes fuscus* mit Betrachtungen über den Ort der Atmung bei lungenlosen *Spelerpes fuscus*. Zeitschr. Wiss. Zool. 63. 1897. — 2. Elze C. Studien zur allgemeinen Entwicklungsgeschichte des Blutgefäßsystems. I. Arch. Mikrosk. Anat. 82. 1913. — 3. Elze C. Entwickeln sich die Blutgefäßstämme aus »netzförmigen Anlagen« unter dem Einfluße der mechanischen Faktoren des Blutstromes. Verh. Anat. Ges. 44. 1913. — 4. Gaup E. Anatomie des Frosches. Braunschweig 1899. — 5. Goette A. Entwicklungsgeschichte der Unke. Leipzig 1875. — 6. Göppert E. Variabilität im embryonalen Arteriensystem. Verh. Anat. Ges. 32. 1908. — 7. Göppert E. Über die Entwicklung von Varietäten im Arteriensystem. Morphol. Jahrb. 40. 1909. — 8. Gräper L. Entwicklungsmechanik der Wirbeltierextremitäten. Ergeb. Anat. Entwickl. Gesch. 27. 1927. — 9. Harrison R. G. The effect of reversing the medio-lateral or transverse axis of the forelimb in the salamander embryo (*Amblystoma punctatum* Linn.) Roux's Arch. 106. 1925. — 10. Hochstetter F. Über den Ursprung der Arteria subclavia der Vögel. Morph. Jahrb. 16. 1890. — 11. Hochstetter F. Über die Entwicklung der Extremitätenvenen bei den Amnioten. Morph. Jahrb. 17. 1891. — 12. Hoffmann C. K. Klassen und Ordnungen der Amphibien. Bronn's K. u. O. d. Tierreiches. 1873—1878. — 13. Mc Clure F. M. & G. S. Huntington. The mammalian vena cava posterior. The Amer. Anat. Memoir. 15. 1929. — 14. Müller E. Beiträge zur Morphologie des Gefäßsystems. 1. Die Arterien des Menschen. Anat. Heft. 22. 1903. — 15. Steiner H. Hand und Fuß der Amphibien, ein Beitrag zur Extremitätenfrage. Anat. Anz. 53. 1921. — 16. Swett F. H. The prospective significance of the cells contained in the

four quadrants of the primitive limb disc of *Amblystoma*. Journ. Exper. Zool. 37. 1923. — 17. Tschernoff N. D. Zur Embryonalentwicklung der hinteren Extremitäten des Frosches. Anat. Anz. 30. 1907. — 18. Vogt. Über Wachstum und Gestaltungsbewegungen am hinteren Körperende der Amphibien. Verhand. Anat. Gesel. 61. 1926. — 19. Wetterdal P. Beiträge zur Morphologie des Gefäßsystems. Anat. Heft. 59. 1921. — 20. Woollard H. H. The development of the principal arterial stems in the forlimb of the pig. Contribution to the embryology Nr. 70. 1922. — 21. Zuckerkandl E. Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Arterien des Vorderarmes. Anat. Heft. 5. 1895.

Erklärung der Figuren auf den Tafeln 12—15.

Alle Abbildungen wurden von mit Berlinerblau injizierten Präparaten mittels des Abbé'schen Zeichenapparates gezeichnet. Die Venen sind einheitlich dunkel, die Arterien heller und quer schraffiert. Jeder Tafel ist ein Maßstab in Gestalt einer geraden Linie beigegefügt.

Zeichenerklärung:

Ab — Arteria brachialis	P — Pronephros
Acc — » coraco-clavicularis	Pp — Praepollex
Ad — » dorsalis scapulae	R — Radius
Adr — » digitalis radialis	Rd — Radiale
Adu — » » ulnaris	U — Ulna
Ae — » epigastrica	Ur — Ulnare
Ai — » interossea	Vb — Vena brachialis
Aid — » interstitialis dorsalis	Vcl — » cutanea magna
Arm — » radiomarginalis	Vd — » dorsalis scapulae
As — » segmentalis	Vdr — » digitalis radialis
Asu — » subclavia	Vdu — » » ulnaris
Aum — » ulnomarginalis	Vi — » interossea
Aus — Arcus dorsalis manus	Vid — » interstitialis dorsalis
Ca — Carpale	Vrm — » radiomarginalis
Ce — Centrale	Vs — » segmentalis
H — Humerus	Vsu — » subclavia
I — Intermedium	Vum — » ulnomarginalis
M — Metacarpus	I, II, III, IV Römische Zahlen bezeichnen die Reihenfolge d. Finger.

Fig. 1. Axolotllarve von 11 mm. Länge. Extremitätenanlage besteht aus einer diskusförmigen Zellanhäufung. Rechte Körperseite.

Fig. 2. Axolotllarve von 13 mm. Länge. Die rechte Gliedmaßenanlage wölbt die Haut hervor.

Fig. 3. Axolotllarve von 14 mm. Länge. Der rechte Extremitätenstummel wächst senkrecht zur Rumpfseite.

Fig. 4. 5. 6. Axolotllarven von 17 mm. Länge. 4 und 5 linke, 6 rechte Extremität. Bei der letzteren verbreitet sich das distale Ende der Extremitätanlage zu einer Platte.

Fig. 7. Axolotllarve von 20 mm. Länge. Erste Andeutung der Fingeranlagen. Rechte Extremität.

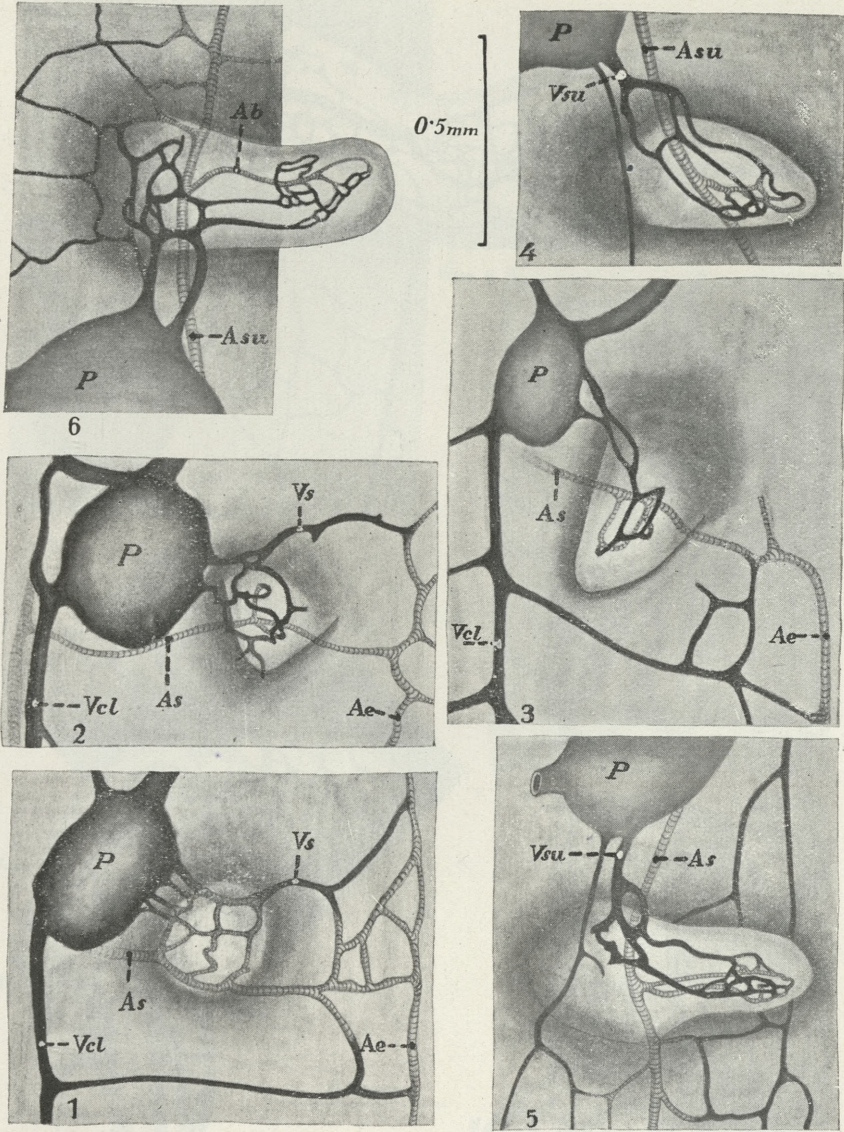
Fig. 8. Axolotllarve von 19 mm. Länge. I und II Finger deutlich differenziert. Rechte Extremität.

Fig. 9. Axolotllarve 25 mm. Länge. Der III und IV Finger ist angedeutet. Rechte Extremität.

Fig. 10. Axolotl von 29 mm. Länge. Rechte Extremität.

Fig. 11. Axolotllarve von 32 mm. Länge. Alle Finger gut entwickelt. Rechte Extremität.

Fig. 12. Skelett und Gefäße der rechten Extremität des erwachsenen Tieres.



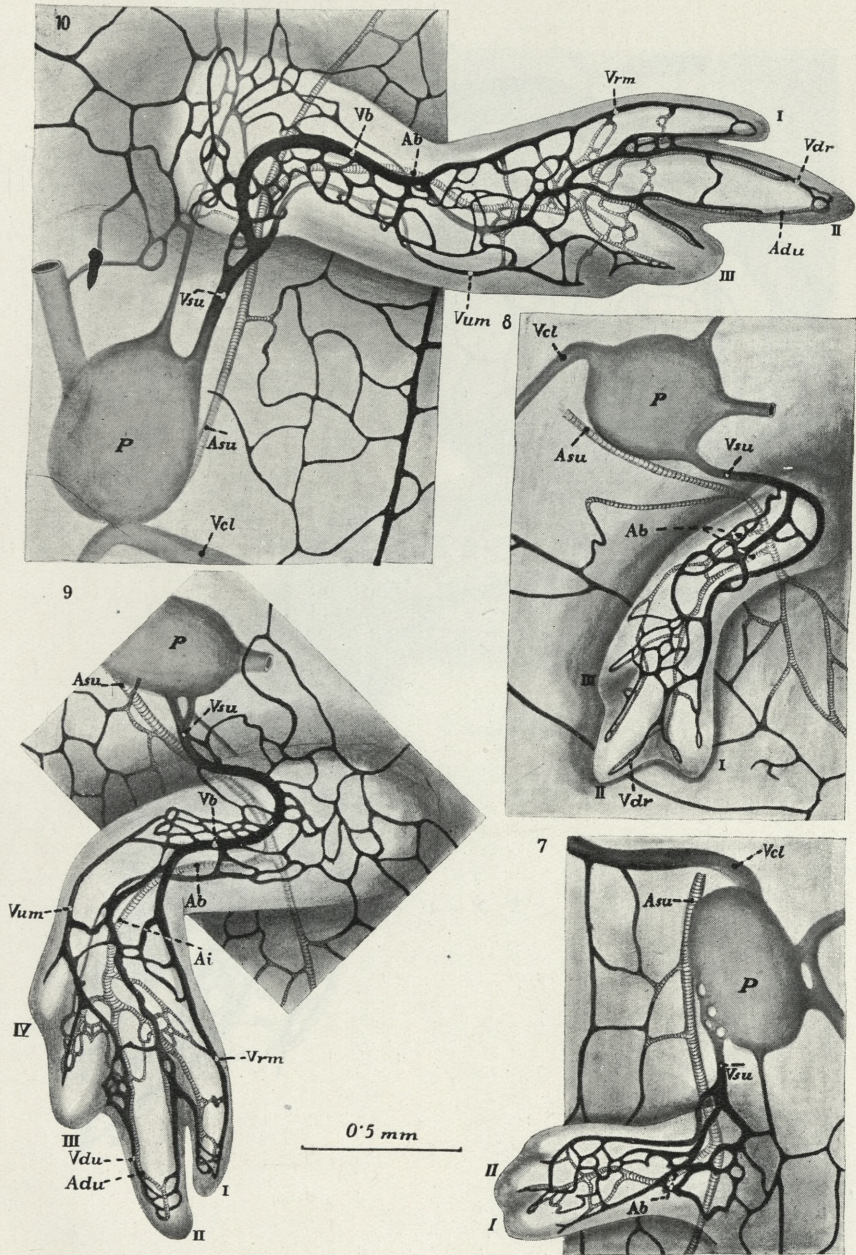
Z. Grodziński del.

Fig. 1. The structure of the ...

The ... of the ... is ...



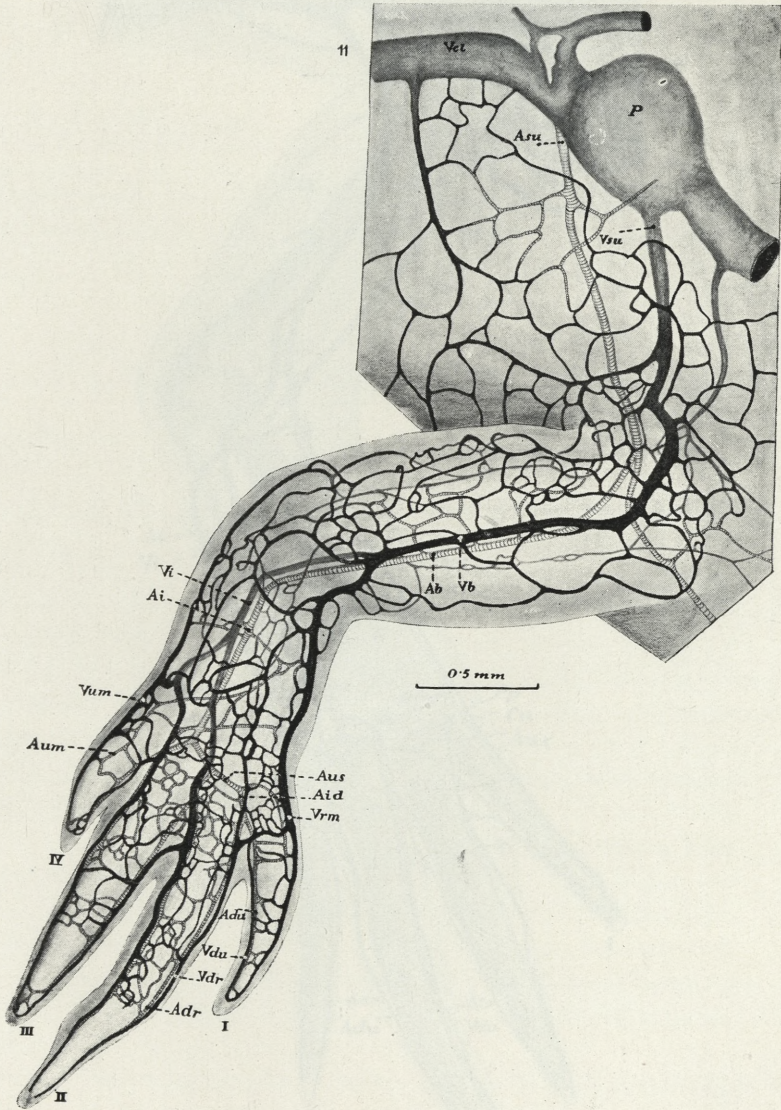
Fig. 1. The structure of the ...



Z. Grodziński del.

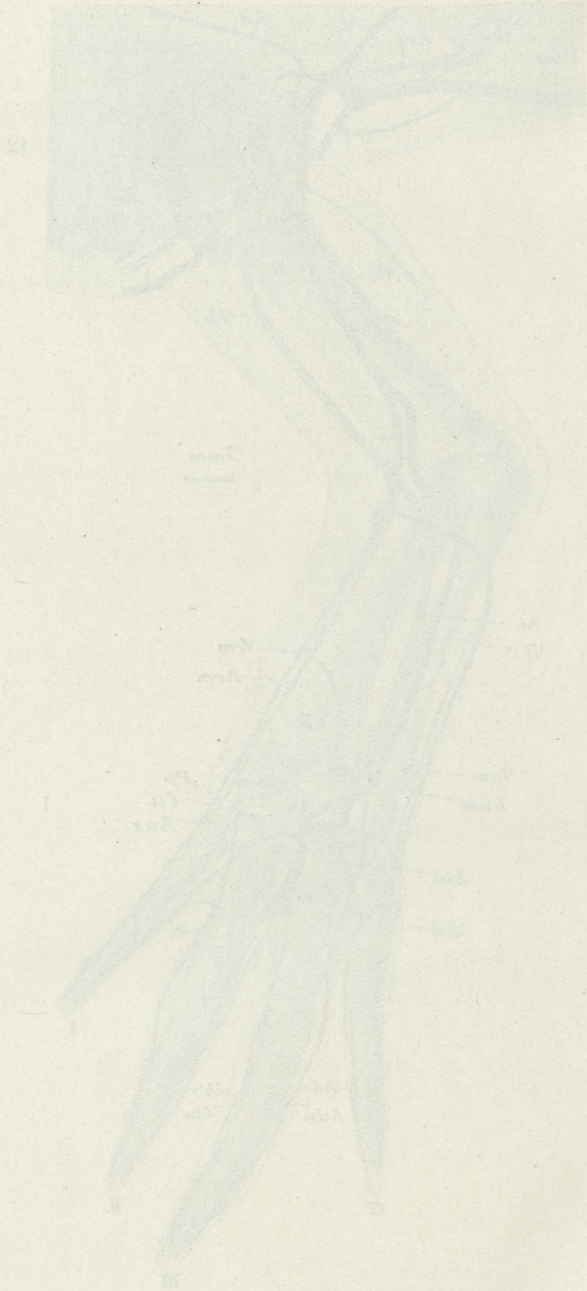


N. G. (1902) 11



Z. Grodziński del.





X. G. G. G. G.

O wytwarzaniu czynników, wzbudzających wzrost tkanek prawidłowych przez tkankę mięsaka w hodowli poza ustrojem. — Über die Produktion von Wachstumsfaktoren durch Sarkomzellen in vitro.

Mémoire

de M. **Z. ZAKRZEWSKI,**

présenté, dans la séance du 7 Avril 1930, par M. K. Klecki m. c.

Mit dem Ausarbeiten der Technik der Gewebezüchtung in vitro war es möglich die Bedingungen kennen zu lernen, in denen das Wachstum von aus dem Organismus isolierten Geweben vereinbart ist. Eine Dauerzüchtung von normalen Gewebezellen, da heist ein über Monate und Jahre lang andauerndes, stätiges Wachstum derselben in vitro, ist nach den Untersuchungen von Carrel (1) nur dann möglich, wenn man ihnen stets frischen Embryonalextrakt zum Medium zusetzt. Dieser enthält, wie allgemein angenommen wird, spezifische Nährstoffe, die gerade zum Wachstum der Zellen unbedingt nötig sind. Carrel nennt diese Stoffe »Trepnone« und stellt sie im Gegensatz zu den Hormonen oder Harmazonen, die zwar das Wachstum aktivieren, die jedoch weder zum Wachstum unbedingt nötig sind, noch ein dauerndes Wachstum gewährleisten können. Die im Embryonalextrakt enthaltenen »Trepnone« sind nicht artspezifisch. Nach Kaufman (2) kann sogar ein artfremder Extrakt manchmal aktiver sein als ein artgleicher.

Spätere Untersuchungen von Carrel (3—6), Carrel und Baker (7—11), A. Fischer und Demuth (12) haben gezeigt, daß Embryonalextrakt durch Extrakt aus Leukocyten oder gewisse, zurzeit noch unbekannte, Eiweißspaltprodukte, sogenannte Proteosen, ersetzt werden kann.

Im Blutserum allein können normale Gewebezellen längere Zeit hindurch nicht wachsen, da dieses nach Carrel(13) für sie kein nutritives Medium darstellt. Ebenso verhalten sich Extrakte der Gewebe erwachsener Tiere. Nur Extrakte von Milz, Knochenmark oder Lymphknoten vermögen, da sie reich an »Trephone« bildenden Lymphocyten sind, Embryonalextrakt ersetzen.

Blutserum und Extrakte erwachsener Gewebe stellen somit für in vitro gezüchtete Normalzellen nur ein protektives Medium dar, das heißt ein Medium, in dem nur ein kurz andauerndes Überleben der Gewebe möglich ist. Die Gewebe wachsen in so einem Medium nur dank ihrer Residualenergie.

Nur Makrophagen und die Zellen einiger Geschwülste weisen in einem Medium, das nur aus dem zum Auswandern der Zellen nötigen Fibringerüst und Blutserum zusammengesetzt ist, ein unbeschränktes Wachstum auf.

Da nun Tumoren in vivo unbeschränkt weiterwachsen, trotzdem der Nachweis von Wachstumsfaktoren in den Gewebesäften eines Tumorträgers nicht zu erbringen ist, so wurde von mehreren Forschern nach einem, im Tumorgewebe selbst sich vorfindenden »Wuchsstoff«, gefahndet. Es wurde der Einfluß von Extrakten und Filtraten aus Tumorgeweben auf das Wachstum von Kulturen sowohl normaler, als auch bösartiger Zellen studiert. Ließe es sich zeigen, daß im Tumorgewebe Wachstumsfaktoren sich vorfinden, so würde das schrankenlose Wachstum der Tumorzelle im Organismus bis zu einem gewissen Grade erklärlich sein, indem angenommen werden könnte, daß die Tumorzellen durch diese Faktoren, die sie selbst bilden, unaufhörbar zum Wachstum angeregt werden.

Carrel und Burrows (14) sahen einen wachstumsteigernden Effekt bei Zusatz von Rous-Sarkom-Extrakten und Filtraten zu Kulturen dieses Sarkoms. Auch normale Hühnerfibroblastenkulturen werden nach Carrel (15) durch den Zusatz von Rous-Sarkom-Extrakt aktiviert. Dieser Extrakt vermag jedoch, wie dies Carrel (16) betont, Embryonalextrakt nicht zu ersetzen, da er nur eine kurz dauernde Wirkung ausübt. Drew (17) fand, daß Extrakte von Sarkom- und Carcinomgewebe das Wachstum von Normalzellenkulturen aktivieren, betont jedoch ebenfalls, sie könnten Embryonalextrakt nicht ersetzen. Auch Mottram (18) gibt an, ein Extrakt von Flexner-Jobling-Carcinom hätte eine

wachstumsteigernde Wirkung auf das Wachstum von Normalgeweben *in vitro*. Bisceglie (19) untersuchte die Wirkung von Carcinomextrakt auf das Wachstum von Kulturen der Normal- und Carcinomzellen und fand, daß nur das Wachstum von Schilddrüsen- und Milzkulturen stark stimuliert wird, während andere Gewebe in ihrem Wachstum sogar gehemmt werden. Carcinomzellenkulturen sollen bei Zusatz »ihres eigenen Extraktes« besser gewachsen sein. Nach Angaben dieses Autors soll der wachstumstimulierende Faktor in den Neoplasmazellen vorhanden sein, soll diese elektiv anregen und soll seiner Natur nach von den in Normalgeweben vorhandenen Wachstumsaktivatoren verschieden sein.

All diese Untersuchungen enthalten eine Fehlerquelle, welche bei dieser Versuchsanordnung jedoch nicht zu umgehen ist. Jedem Tumorgewebe sind nämlich zahlreiche Leukocyten beige-mischt. Wird somit das Tumorgewebe *in toto* extrahiert, so enthält der Extrakt nicht nur die von Tumorzellen stammenden Stoffe, aber auch solche von Leukocyten, die, wie oben erwähnt, schon selbst das Wachstum von Zellen *in vitro* anregen, ja sogar erhalten können.

Die Untersuchungen besagen ebensowenig über die Art der Verbreitung der Wuchsstoffe im Tumorgewebe. Es läßt sich nicht entscheiden, ob die Wuchsstoffe in den Tumorzellen vorhanden sind, wie es Bisceglie annimmt, oder aber von diesen freigegeben werden, wie es Burrows (20) voraussetzt. Nach Burrows soll nämlich das Wachstum von Geweben durch einen, in denselben sich ansammelnden Stoff, den er »Archusia« nennt, bedingt sein. Dieser Stoff soll, wenn er sich nur in einer genug hohen Konzentration im alterierten Gewebe vorfindet, das Wachstum der Gewebe und sogar das Entstehen von Geschwülsten herbeiführen können. Als Beweis für die Richtigkeit seiner Auffassung wird von Burrows angegeben, er könnte durch ein unterbrochenes Waschen von Geschwulstkulturen ein Abschwächen ihres Wachstums erzielen. Er deutet dies als eine Wirkung der Abnahme der Konzentration von Wuchsstoffen im Medium.

Nach A. Fischer (21) ist das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren im Tumorgewebe für das Verständnis des ununterbrochenen Wachstums von diesen *in vivo* gar nicht erforderlich. Da gewisse Tumorzellen im Plasma ohne Embryonalextrakt *in vitro* in Dauerkulturen gezüchtet werden können, so müssen sie,

im Gegensatz zu Normalzellen, die Serumproteine ausnützen können. Es bedarf somit zum Wachstum von gewissen Tumorzellen keiner »Trophone«. Aus diesem Grunde sollen Geschwulstzellen im Organismus schrankenlos wachsen.

Das Züchten von Tumor- und Normalgewebe in einem gemeinsamen Medium ohne Zusatz von Embryonalextrakt, in dem also bloß Tumorzellen wachsen können, könnte Antwort auf die Frage geben, ob die Tumorzellen Wachstumsfaktoren freigeben, wie es Burrows annimmt, sie nicht freigeben, oder auch überhaupt nicht bilden, wie dies aus den Befunden von Bisceglie und A. Fischer hervorgehen soll. Im ersten Fall müßten die Normalzellen in Anwesenheit von Tumorzellen im Medium in ihrem Wachstum aktiviert werden, im zweiten und dritten dagegen wäre es nicht der Fall. Da es nunmehr möglich ist mit Rein- und Dauerkulturen von Geschwulstzellen zu arbeiten, so eignet sich das Züchten von Normal- und Tumorgewebe im gemeinsamen Medium besser zum Studium eventueller, von Geschwulstzellen erzeugter Wachstumsfaktoren, als das Zusetzen von Extrakten oder Filtraten zu den Kulturen, da so der Einfluß von Tumorzellen allein geprüft werden kann und somit die oben erwähnte Fehlerquelle umgangen wird. Außerdem kann man so Geschwulst- auf Normalzellen längere Zeit hindurch einwirken lassen und so prüfen, ob es sich um eine nur vorübergehende Aktivierung handelt, oder aber um eine Erzeugung von wirklichen Wachstumsfaktoren, welche den im Embryonalextrakt enthaltenen »Trophonen« ihrer Wirkung nach analog wären.

Es wurden deshalb von mir die Untersuchungen über den Einfluß von Tumorgeweben auf das Wachstum von Normalgewebe wieder aufgenommen. Es sollte untersucht werden: 1) ob Tumorzellen Wachstumsfaktoren für Normalzellen bilden, 2) ob sich diese Faktoren den Normalzellen auf humoralem oder zellulärem Wege erteilen, 3) ob es sich nur um Aktivatoren, oder auch um wirkliche, den im Embryonalextrakt enthaltenen »Trophonen« analoge, Wachstumsfaktoren handelt, 4) ob Normalzellen unter der Einwirkung dieser Faktoren einer Umwandlung in Tumorzellen erliegen können.

Es wurden nämlich Kulturen des Jensen'schen Rattensarkoms im gemeinsamen Medium mit Geweben junger Ratten oder Hühnerembryonalgewebe, und Kulturen eines Wiener Mäusesar-

koms im gemeinsamen Medium mit Rattenembryonalgewebe gezüchtet. Beide Tumorstämme eignen sich zu diesen Experimenten, da sie in einem Medium ohne Zusatz von Embryonalextrakt längere Zeit hindurch wachsen, ein heterologes Medium nicht verflüssigen und sich somit weder des zu ihrem Wachstum unbedingt nötigen Stützgerüsts berauben, noch zugesetztes Normalgewebe infiltrieren und zerstören.

Technik.

Als Kulturmedium diente ein Gemisch von Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen, mit Zusatz von Rattenserum für Experimentkulturen, oder Hühnerembryonalextrakt für die Kontrollen. Die Plasmagewinnung geschah unter Zusatz von Heparin, oder auch ohne dasselbe in eisgekühlten Zentrifugenröhrchen. Embryonalextrakt wurde nach Angaben von A. Fischer (22) bereitet: 9 bis 10 Tage alte Hühnerembryonen wurden mit Ringerlösung gewaschen und mit einer Schere zu Brei zerschnitten. Der Brei wurde dann bei einer Tourenzahl von zirka 3200 bis 3500 pro Minute 12 Minuten lang zentrifugiert, und der klare Embryonalsaft mit einer sterilen Pasteur-Pipette abgesogen. Es wurde immer nur frisch bereiteter Embryonalsaft gebraucht.

Zu den Experimenten wurden nur Reinkulturen der Jensen-Sarkomfibroblasten genommen. Das Wiener-Sarkomgewebe wurde dem Tiere steril entnommen, in kleine Stückchen von 0.5 bis 1 mm. Seitenlänge mit Lanzettmessern zerschnitten und in Ringerlösung gewaschen. Die Normalgewebe stammten von 2 bis 3 Wochen alten Tieren. Das Präparieren der Gewebe vor dem Anlegen der Kulturen geschah auf ebendieselbe Weise wie das der Tumorgewebe.

Es wurden sowohl Deckglas als auch Flaschenkulturen angelegt. Das Medium der Deckglaskulturen war zusammengesetzt aus einem Tropfen einer Mischung von Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen und einem Tropfen Rattenserum bei Experimentkulturen, Embryonalextrakt oder Ringerlösung bei den Kontrollen. Bevor das Medium coagulierte wurden die Gewebefragmente eingesetzt. Das Fibrinmaschenwerk des Gerninnsels diente den auswandernden Zellen als Stütze, das Serum oder der Embryonalextrakt als Nährmedium. Die Flaschenkulturen wurden

in D. Flaschen von 3 cm. Durchmesser und 10 cm.³ Inhalt angelegt. Das Medium der Flaschenkulturen setzte sich aus 2 Teilen zusammen: einem festen, dem Gerinnsel und einem flüssigen, dem Nährmedium. Der feste Teil bestand aus: 0·25 cm.³ Hühnerplasma, 0·5 cm.³ Ringerlösung und 0·25 cm.³ Rattenserum. Vor eingetretener Gerinnung wurden die Gewebe eingesetzt. Nach völliger Gerinnung wurde das Coagulum mit 6 cm.³ Ringerlösung 30 Minuten lang gewaschen, was nach Carrel (23) genügen soll, um aus dem Gerinnsel das heterologe Serum praktisch völlig zu entfernen. Schließlich wurde der flüssige Teil, der aus 0·75 cm.³ einer 30% Lösung von Rattenserum in Ringerlösung bestand, eingefüllt. Der flüssige Teil wurde je 2 Tage gewechselt, dabei wurde immer der feste Teil, vor dem Einfüllen des neuen Mediums, mit Ringerlösung gewaschen.

Im hängenden Tropfen wurden die Gewebe 48 bis 72 Stunden lang gezüchtet, in Carrelflaschen 12 bis 20 Tage, wonach ein Umsetzen in ein neues Medium vorgenommen wurde.

Die Wachstumsmessung wurde nach Ebeling (24) ausgeführt: die Umrisse der Kulturen wurden gleich nach dem Anlegen der Kulturen und eine bestimmte Zeit danach mit Hilfe des Zeisschen Zeichenapparates gezeichnet. Darauf wurden mit einem Planimeter die Flächen beider Umrisse berechnet. Die Fläche der Kultur nach einer bestimmten Zeit minus Anfangsgröße ergab das absolute Wachstum, dieses dividiert durch die Anfangsgröße die relative Wachstumszunahme.

I.

Einfluß von Jensen-Sarkomzellen auf das Wachstum von Normalgewebe in vitro.

In einer früheren Arbeit (25) konnte gezeigt werden, dass vier Teile einer und derselben Kultur, in analogen Bedingungen gezüchtet so gleichmäßig wachsen, daß die Größenunterschiede ihres Wachstums 10% nicht übersteigen. Jede Veränderung der Wachstumsbedingungen hat eine Änderung ihrer Wachstumsintensität zur Folge, die man zahlenmäßig, mit Berücksichtigung des Versuchsfehlers, angeben kann.

Es wurde nünmehr versucht die Wachstumsintensität von Hühnerfibroblasten in verschiedenen Medien und unter Zusatz von Tumorgewebe zum Medium zu bestimmen.

Eine 4 Wochen lang durch 12 Passagen gezüchtete Hühnerfibroblastenkultur wurde in 4 gleiche Stücke geteilt, a, b, c und d. Jedes dieser Stücke wurde in einem gesonderten, hängenden Tropfen gezüchtet: Kultur a) in einem Tropfen Hühnerplasma mit Zusatz von 60% Hühnerembryonalextrakt; Kultur b) in Hühnerplasma und Ringerlösung; Kultur c) in einem Gemisch von Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen mit Zusatz von Rattenserum; Kultur d) in einem analogen Medium wie c), jedoch mit Zusatz einer Jensen-Sarkomzellenkultur. Nach einer Züchtungsdauer von 72 Stunden wurde die relative Wachstumszunahme sämtlicher Kulturen berechnet.

Es hat sich gezeigt, daß Embryonalextrakt das Wachstum der Fibroblasten am stärksten anregt. Etwas geringer war das Wachstum der Fibroblasten mit Zusatz von Sarkomzellen zum Medium (Kultur c), jedoch wiesen die Zellen keinerlei Degenerationszeichen auf, woraus zu schließen ist, daß das Medium Nährstoffe enthielt. Im Plasma mit Zusatz von Ringerlösung wuchsen die Zellen nur wenig intensiv, da das Medium keine Nährstoffe führte und die Zellen somit mit ihrer Residualenergie wuchsen. Im Plasma mit Zusatz von Rattenserum war das Wachstum der Zellen nur spärlich, sogar geringer als mit Zusatz von Ringerlösung und die Zellen wiesen Degenerationszeichen auf, woraus zu schließen ist, daß das Medium nicht nur nicht indifferent, aber sogar schädlich war, da heterologes Serum giftig wirkt.

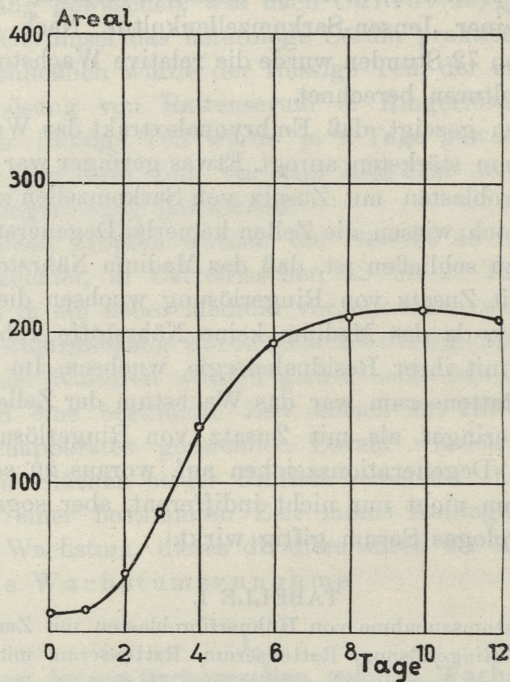
TABELLE I.

Relative Wachstumszunahme von Hühnerfibroblasten mit Zusatz von Embryonalextrakt, Ringerlösung, Rattenserum, Rattenserum mit Zusatz von Jensen-Sarkomzellen zum Medium.

Kultur Nro	Passage Nro	Experimentdauer, Stunden	Embryonal-extrakt	Ringerlösung	Rattenserum	Rattenserum + Jensen-Sarkomzellen
3177	12	72	10.7	2.9	1.5	5.0
3178	12	72	9.5	2.6	0.9	4.6
3179	12	72	9.8	2.2	1.6	6.0
3180	12	72	8.7	2.0	0.5	5.3
Mittelwerte:			9.7	2.4	1.1	5.2

Sarkomzellen hatten somit auf das Wachstum von heterologen normalen Fibroblasten eine deutlich fördernde Wirkung.

Um ein längeres Einwirken der von den Tumorzellen gebildeten Wachstumsfaktoren auf die Normalzellen untersuchen zu können, als auch um zu untersuchen, ob es sich um Kontakt- oder Fernwirkung handelt, wurden Normalgewebe mit Zusatz von Sarkomgewebe in Carrelflaschen gezüchtet.



Kurve I.

Kultur Nr. 4112. Wachstum von Rattenspeicheldrüse in Rattenserum.

Gezüchtet wurden Gewebe von Schilddrüse, Eierstock, Hoden, Speicheldrüse und Niere junger Ratten und Rattenplacenta. Der feste Teil des Mediums bestand nur aus geronnenem Plasma, der flüssige Teil aus mit Ringerlösung verdünntem Rattenserum. Das Medium enthielt somit nicht die Spur von Embryonalextrakt. Kontrollversuche zeigten, daß Normalgewebe allein gezüchtet in solch einem Medium in 10—12 Tagen ihr Wachstum einstellen und absterben. (Siehe Kurve I).

Die Normalgewebe wurden nun entweder dicht am Tumorgewebe, oder auch in einem Abstand von 5–15 mm. von diesem gezüchtet. Das Wachstum der Normalgewebe setzte ein nach einer Latenzzeit von ungefähr 24 Stunden bei den dem Tumorgewebe nahe liegenden Fragmenten, nach etwa 36 Stunden bei den dem Tumorgewebe weiter entfernt liegenden. Das Wachstum der Normalgewebe war etwas schwächer als das des Sarkomgewebes. Aus den Fragmenten des Normalgewebes wuchsen sowohl Epithel- als auch Bindegewebezellen heraus. Sämtliche Zellen waren hell und wiesen keinerlei Degenerationszeichen auf, aus denen man schließen könnte, das Medium wäre arm an Nährstoffen. Das Wachstum der Normalgewebe war intensiver an der dem Sarkomgewebe affrontierten Seite, auch war es intensiver in den Kulturen, die nahe dem Tumorgewebe wuchsen.

Nach 2–3 Wochen wurden die Kulturen in ein neues Medium umgesetzt; dabei wurden sowohl Reinkulturen von Normalgeweben umgesetzt, als auch je zwei Kulturen von Normal- und Tumorgewebe, deren Wachstumsareale zusammengewachsen waren.

Auf diese Art und Weise konnten Reinkulturen von Speicheldrüsen-, Nieren- und Hodengewebe 4 Monate lang gezüchtet werden. Die Wachstumsintensität der Gewebe verminderte sich während der ganzen Zeit gar nicht. Nach 4 Monaten wurden die Kulturen den Ratten eingepflegt, worüber weiter unten berichtet wird.

In mit Sarkomzellen gemischten Kulturen wuchsen: Schilddrüsen- und Hodengewebe 6 Monate lang, Kontrollkulturen in demselben Medium, jedoch ohne Sarkomgewebe 10–14 Tage, Eierstockgewebe mit Sarkomzellen 3 Monate lang, Kontrolle ohne diesen 9–12 Tage, Hodengewebe 5½ Monate lang, Kontrolle 10–12 Tage, Speicheldrüse 7 Monate lang, Kontrolle 10–12 Tage, Niere 4½ Monate lang, Kontrolle 8–10 Tage, Rattenplacenta 5 Monate lang, Kontrolle 16–28 Tage.

Die hier angeführten Zeiten sind Maximalwerte. Ein längeres Untersuchen der Gewebe war nicht durchführbar, da beide Gewebearten so innig miteinander verwachsen waren, daß es nicht mehr möglich war zu erkennen, wo Normal- und wo Sarkomzellen wuchsen. Während der ganzen Untersuchungszeit wiesen die Normalzellen keinerlei Degenerationszeichen auf.

Tabelle II.

Wachstum von Normalgeweben mit Zusatz von Jensen- Sarkomzellen zum Medium.

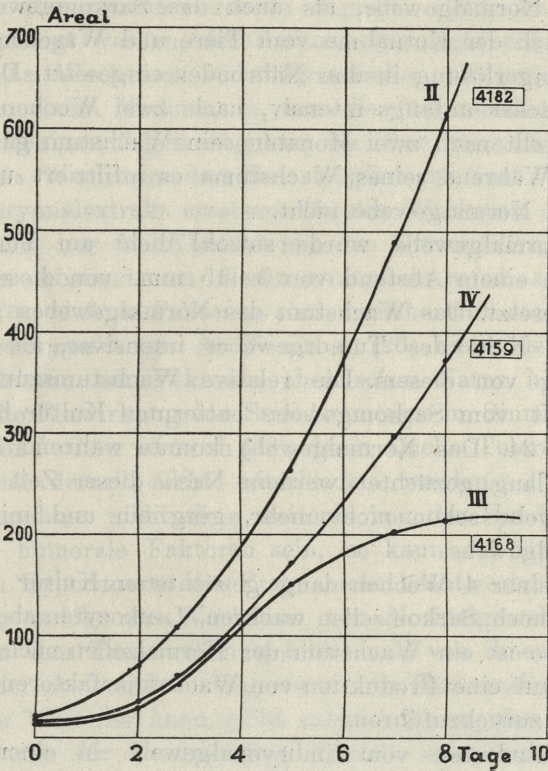
Gewebeart:	Wächst in mit Sarkomzellen gemischten Kulturen:		Wächst in Rattenserum allein — Kontrolle:	
	Maximal	Durchschnittlich	Maximal	Durchschnittlich
Schilddrüse	180 Tage	159 Tage	14 Tage	12 Tage
Eierstock	90 »	87 »	12 »	11 »
Hoden	165 »	141 »	12 »	11 »
Speicheldrüse	210 »	174 »	12 »	10·5 »
Niere	135 »	108 »	10 »	9 »
Placenta	150 »	129 »	28 »	22 »

Um die Wachstumsintensität von Normalzellen in Embryonal-extrakt einerseits, in Rattenserum mit Zusatz von Sarkomzellen andererseits quantitativ messen zu können, wurde Speicheldrüsen-gewebe einer junger Ratte in drei gesonderten Flaschen gezüchtet: mit 1) Embryonalextrakt, 2) Ringerlösung, 3) Rattenserum mit Zusatz von Sarkomzellen. Sowohl Embryonalextrakt als auch Serum wurden in einer Konzentration von 30% im flüssigen Medium gebraucht. Die Versuchszeit betrug 8 Tage.

Auch hier erwies sich Embryonalextrakt als das bessere Medium. Das Wachstum der Kulturen war intensiver als im Serum mit Zusatz von Sarkomzellen, dieses war jedoch charakteristisch für ein Wachstum im nutritiven Medium. In Ringerlösung wuchsen die Kulturen nur schwach und die Wachstumsintensität wurde von Tag zu Tag geringer, da sie mit ihrer Residualenergie wuchsen. (Siehe Kurve II—IV).

Da es denkbar wäre, die Normalzellen könnten sich während der Einwirkung des von den Sarkomzellen gebildeten Faktors in Geschwulstzellen umbilden, so wurden Reinkulturen von Normalgewebe, welche 4 Monate lang im gemeinsamen Medium mit Sarkomzellen gezüchtet waren, Ratten eingepft. Jede Ratte wurde mit 5 Kulturen geimpft. Keine einzige Impfung ging an.

Es liegt somit der Schluß nahe, daß die Normalzellen keiner malignen Umwandlung erliegen waren.



Kurve II-IV.

Wachstum von Rattenspeicheldrüse in Embryonalextrakt — 4182, Rattenserum — 4168 und Rattenserum mit Zusatz von Jensen-Sarkomfibroblasten — 4159.

II.

Einfluß der Zellen eines Wiener Mäusesarkoms auf das Wachstum von Rattenembryonalgewebe in vitro.

Um zu prüfen, ob andere Tumorgewebe das Wachstum von Normalzellen ebenfalls anregen und unterhalten so wie Jensen-Sarkomgewebe, wurde Rattenembryonalgewebe in Carrelflaschen mit Zusatz zum Medium des Gewebes von einem Wiener Mäusesarkom gezüchtet. Als Züchtungsmedium diente, so wie bei den oben beschriebenen Versuchen, ein Coagulum aus Plasma und

Rattenserum als fester Teil, und Rattenserum gemischt mit Ringerlösung im Verhältnis 1:2 als flüssiger Teil des Mediums. Sowohl das Normalgewebe, als auch das Sarkomgewebe wurden sogleich nach der Entnahme vom Tiere und Waschen in körperwarmer Ringerlösung in den Nährboden eingesetzt. Das Sarkomgewebe wächst anfangs intensiv, nach zwei Wochen nur schon langsam, stellt nach zwei Monaten sein Wachstum ganz ein und stirbt ab. Während seines Wachstums es infiltriert und zerstört zugesetztes Normalgewebe nicht.

Das Normalgewebe wurde sowohl dicht am Tumorgewebe, als auch in einem Abstand von 5—15 mm. von diesem ins Medium eingesetzt. Das Wachstum des Normalgewebes war in unmittelbarer Nähe des Tumorgewebes intensiver, als bei einiger Entfernung von diesem. Die relative Wachstumszunahme einer 5 mm. weit vom Sarkomgewebe entfernten Kultur betrug nach 16 Tagen 24. Das Normalgewebe konnte während 5 Passagen 2 Monate lang gezüchtet werden. Nach dieser Zeit wuchs das Sarkomgewebe schon nicht mehr, ging ein und mit ihm auch das Normalgewebe.

Da in einer 4 Wochen lang gezüchteten Kultur dieses Sarkoms nur noch Sarkomzellen wachsen, Leukocyten aber abgestorben sind, so ist ein Wachstum der Normalzellen nach dieser Zeit nur noch auf eine Produktion von Wachstumsfaktoren durch Sarkomzellen zurückzuführen.

Kontrollkulturen vom Embryonalgewebe in einem analogen Medium, jedoch ohne Sarkomgewebe gingen alle binnen 10—15 Tagen ein.

Die Impfung von 2 Monate alter Reinkulturen ging weder auf Ratten noch auf Mäusen an.

Es wurden im Ganzen 229 Kulturen angelegt, in denen Ratten-, und Mäusesarkomzellen mit Normalzellen gezüchtet wurden.

Besprechung der Ergebnisse.

Wie schon erwähnt, wiesen die Experimente der Autoren darauf hin, daß sich in Tumoren Stoffe vorfinden, die das Wachstum von Normal- und Tumorgeweben aktivieren können. Diese Stoffe können jedoch ein längeres Wachstum von Normalgeweben in vitro nicht gewährleisten, da sie anscheinend

keine, für Normalzellen ausreichende, Nährstoffe führen und somit nicht in jeder Hinsicht Embryonalextrakt ersetzen können. In meinen Experimenten konnte dagegen, dank einer anderen Methode, gezeigt werden, daß Sarkomzellen nicht nur vorübergehend das Wachstum von Normalzellen aktivieren, sondern vielmehr in einem Medium, in dem die Normalzellen allein gezüchtet in wenigen Tagen eingehen, ein über monatelang andauerndes Wachstum derselben möglich machen. Sie können somit Embryonalextrakt ersetzen. Da das Wachstum der Normalgewebe nicht nur bei Kontakt mit den Tumorzellen, aber auch bei einigem Abstand von diesen ermöglicht wird, so ist es ein Beweis dafür, daß es Faktoren sind, welche mit den hypothetischen »Desmonen« von A. Fischer (26) nicht identisch sind. Ob es sich nun um Faktoren chemischer Natur handelt, oder auch um die Einwirkung von Strahlenenergie im Sinne von Guillery (27) und Gurwitsch (28), deren Quelle Tumorzellen sein könnten, soll derzeit nicht entschieden werden. Jedenfalls ist letztere Annahme nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen. Sollten es humorale Faktoren sein, so kann auf Grund meiner bisweiligen Experimente die Frage nicht beantwortet werden, ob die Stoffe, welche das Wachstum von Normalgeweben möglich machen, in den Tumorzellen gebildet und von ihnen abgegeben werden, oder auch sich in Gegenwart von Tumorzellen im Serum bilden. Des Weiteren kann nicht entschieden werden, ob es sich um Nährstoffe für Normalzellen handelt, oder auch um Stoffe, die den Normalzellen das Vermögen verleihen Serumproteine zu assimilieren, eine Eigenschaft, die diese sonst nicht aufweisen.

Der von den Sarkomzellen gebildete Faktor weist mit dem im Embryonalextrakt enthaltenen auch insofern eine Ähnlichkeit auf, indem er nicht nur arteigenen, aber auch rasse- und artfremden Zellen das Wachstum ermöglicht.

Schon nach Abschluß dieser Untersuchungen erschien eine Arbeit von A. Fischer, H. Laser u. H. Meyer (29), in welcher die Forscher über eine Aktivierung von Normalgewebe durch Carcinomzellen *in vitro* mitteilen. Die mitgeteilte Aktivierung war nur von kurzer Dauer, da die Carcinomzellen Normalgewebe energisch infiltrierten und zerstörten. Handelt es sich in diesen Versuchen um identische mit den von mir festgestellten Faktoren, so wäre es ein Beweis dafür, daß sowohl Sarkom- wie Car-

cinomzellen einer Produktion von Wachstumsprinzipien fähig sind. Die Erzeugung von Wachstumsfaktoren durch Carcinomzellen wird von den Forschern mit der Stromareaktion in vivo in Zusammenhang gestellt, und als Produktion von, von dem Tumor ausgehenden, Stoffen, respective als »Reiz« der, den Tumorzellen eigenen, Säurebildung aufgefaßt.

Da Normalzellen, welche 4 Monate lang der Einwirkung des von den Sarkomzellen gebildeten Faktors ausgesetzt waren, noch immer anscheinend Normalzellen geblieben sind, so kann wohl geschlossen werden, daß dieser für sich allein wahrscheinlich noch keinen Träger eines »ens malignitatis« darstellt, sei es denn, es könnten nur gewisse Zellarten, wie z. B. Makrophagen, einer Umwandlung in Sarkomzellen unterliegen. Andererseits jedoch kann, solange das gelungene Übertragen auf Tiere, wegen Mangel an besseren biologischen Methoden, als einzig sicheres Anzeichen der Malignität angesehen werden muß, das Fehlen der Malignität mit voller Sicherheit nicht behauptet werden.

Deshalb soll auf eine Deutung der Befunde zurzeit nicht weiter eingegangen werden.

Zusammenfassung.

- 1) Rattennormalgewebe wachsen in einem Medium, das außer dem als Stützgerüst dienenden Fibrinnetz nur Blutserum als einziges Nährmedium führt und in dem sie allein gezüchtet binnen 10–12 Tagen absterben, in Anwesenheit im Medium von Jensen-Sarkomzellen bis 7 Monate lang, in Anwesenheit von Zellen eines Wiener Mäusesarkoms bis 2 Monate lang.
- 2) Die wachstumaktivierende Wirkung des Tumorgewebes tritt nicht nur beim Kontakt von Normal- und Tumorzellen zum Vorschein, sondern auch bei einiger Entfernung zwischen den Kulturen.
- 3) Seiner Natur nach muß der Faktor als unbekannt angesehen werden. Er kann sowohl chemischer, als auch physischer Natur sein.
- 4) Der aktivierende Faktor ist weder rasse- noch artspezifisch dem im Embryonalextrakt enthaltenen Faktor seiner Wirkung nach analog.
- 5) Embryonalextrakt ist in seiner Wirkung aktiver als der durch eine Sarkomkultur erzeugte Faktor, dieser kann jedoch Embryonalextrakt ersetzen.

6) Reinkulturen von Normalzellen, die 4 Monate lang in einem gemeinsamen Medium mit Jensen-Sarkomzellen gezüchtet waren, bleiben nach dieser Zeit anscheinend noch immer Normalzellen.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie des Jagellonischen Universität in Krakau. Direktor: Prof. Dr. K. Klecki. Ausgeführt mit Unterstützung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, aus der Stiftung von weil. Paul Tyszkowski.

Literaturverzeichnis.

- 1) Carrel A. Journ. Exp. Med. 1913, XIV, 17, zitiert nach A. Fischer »Gewebezüchtung« München 1927. — 2) Kaufman L. Pamiętnik Państwowego Instytutu Naukowego Gospodarstwa Wiejskiego w Puławach. 1927, tom VIII, część A, rozprawa Nr. 106. — 3) Carrel A. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1924, XC, 29. — 4) Carrel A. Journ. Exp. Med. 1922. XXXVI, 385. — 5) Carrel A. Proc. Nat. Acad. Sci. 1923, IX, 54, zitiert nach A. Fischer »Gewebezüchtung«, München 1927. — 6) Carrel A. Journ. Am. Med. Assn. 1924, LXXXII, 255, zitiert nach A. Fischer »Gewebezüchtung«, München 1927. — 7) Carrel A. et Baker L. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1926, XCV, 359. — 8) Carrel A. et Baker L. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1926, XCV, 685. — 9) Baker L. and Carrel A. Journ. Exp. Med. 1928, XLVII, 353. — 10) Baker L. and Carrel A. Journ. Exp. Med. 1928, XLVII, 371. — 11) Baker L. and A. Carrel. Journ. Exp. Med. 1928, XLVIII, 532. 12) Fischer A. u. Demuth F. nach A. Fischer »Gewebezüchtung«, München, 1927. — 13) Carrel A. and Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1921, XXXIV, 317. — 14) Carrel A. and Burrows M. T. Journ. of Am. Med. Assn. 1911, LVI, 32. Referat in Bulletin de l'Institut Pasteur, 1911, IX, 268. — 15) Carrel A. Journ. Exp. Med. 1913, XVII, 1. — 16) Carrel A. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1925, XCII, 477. — 17) Drew A. H. Br. Journ. Exp. Pathol. 1922, III, 20, Referat in Journ. de Physiol. et Pathol. générale, 1922, XX, 321. — 18) Mottram. Brit Journ. Exp. Pathol. 1925, VI, 39, zitiert nach Bisceglie »Die Gewebezüchtung in vitro«, Berlin 1928. — 19) Bisceglie V. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1926, XXIII, 340. — 20) Burrows M. T. Journ. Med. Res. 1924, XLIV, 615. Referat in Bulletin de l'Inst. Pasteur, 1925, XXIII, 278. — 21) Fischer A. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1928, XXVI, 461. — 22) Fischer A. »Gewebezüchtung«, München, 1927. — 23) Carrel A. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1927, XCVI, 601. — 24) Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1921, XXXIV, 231. — 25) Zakrzewski Z. Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres 1929. Cl. des Sciences Math. et Natur. Série B. Sciences Naturelles (II). — 26) Fischer A. Acta pathol. et microbiol. Scand. 1925, II, 7, zitiert nach A. Fischer. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1928, XXVI, 234. — 27) Guillery H. Verhandlung der Deutsch. Pathol. Gesellsch. Wiesbaden 1928. — 28) Gurwitsch A. u. L. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1929, XXIX, 220. — 29) Fischer A., Laser H., Meyer H. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1929, XXIX, 270.
-

O odchyleniu dopełniacza z wyciągami alkoholowemi raków w przypadkach raka i ciąży. — Über Komplementbindungsreaktionen mit alkoholischen Krebsextrakten bei Krebskranken und Schwangeren.

Mémoire

de M. L. **HIRSZFELD** et M^{lle} **W. HALBER**

(avec collaboration clinique de M.M. **M. FLOKSZTRUMPF** et **J. KOŁODZIEJSKI**

présenté, dans la séance du 7 Avril 1930, par M. K. Klecki m. c.

Das Prinzip der Serodiagnostik bei Infektionskrankheiten beruht auf Immunitätsreaktionen gegenüber dem ätiologischen Agens. Bei einer ev. serologischen Krebsdiagnostik muß man dagegen nach Reaktionskörpern gegenüber dem Krebsgewebe selbst fahnden. Die Voraussetzung einer serologischen Krebsdiagnostik ist die Möglichkeit das Krebsgewebe von normalem zu unterscheiden. Die Arbeiten des letzten Jahres gaben in der Tat eine wissenschaftliche Grundlage für diese Fragestellung. Hirszfeld, Halber und Laskowski zeigten, daß die Mehrzahl der Krebse spezifische Antigene vom Haptencharakter enthalten, die in Alkohol übergehen. Die Spezifität der Krebsantigene konnte unabhängig von uns in schönen Untersuchungen auch Witebsky feststellen. Neben den alkohollöslichen Substanzen beobachtete Witebsky, daß auch die Krebsglobuline sich von den normalen serologisch unterscheiden, wobei er eine Multiplizität der Globulintypen annahm. Unsere Beobachtungen mit Laskowski zeigten die Existenz spezifischer Krebsantigene in ca 60% der untersuchten Krebse. Wir ließen es vorderhand dahingestellt, ob die übrigen 40% zu einem anderen serologischen Typus gehören. Wir werden diese Frage mit Hilfe serodiagnostischer Prüfung auf Seite 294 ventilieren.

Die Existenz krebsspezifischer Antigene machte es wahrscheinlich, daß sie auch bei Krebskranken spezifische Antikörper hervorrufen werden. A priori war die Frage natürlich nicht zu entscheiden. Wir wissen, daß das arteigene Gewebe zwar Autoantikörper hervorrufen kann, wie man dies an dem Beispiel der Spermaantikörper mit Leichtigkeit nachweisen kann. Die antigene Fähigkeit arteigenen Gewebes ist aber relativ schwach, wie dies auch zuletzt Witebsky betonte. Wir sehen in der Tat, daß das Gewebe von so ausgesprochener serologischer Spezifität, wie Linse oder Gehirn, bei der gleichen Tierart nicht oder schwach antigen wirken. Neben der antigenen Schwäche arteigenen Gewebes könnte noch ein zweites Moment eine Rolle spielen, nämlich eine Insuffizienz des spezifischen Verteidigungsapparates gegenüber den Krebszellen bei Krebskranken. Die bekannten Versuche von Freund und Kaminer könnten in diesem Sinne interpretiert werden. Wir übergangen ältere Arbeiten über die Komplementbindung bei Krebs und möchten lediglich erwähnen, daß im Jahre 1913 höchst interessante Angaben über positive Komplementbindungen bei Krebskranken v. Dungern gemacht hat. Seine Versuche wurden damals nicht allgemein bestätigt, trotzdem müssen sie im Lichte unserer jetzigen Versuche, als besonders bemerkenswert bezeichnet werden. Wir gehen nicht auf die vielen beschriebenen Krebsreaktionen ein, die wohl mehr Stoffwechselstörungen bei Krebskranken, als die bei ihnen feststellbaren Immunitätsreaktionen charakterisierten. Meistens wurden diese Reaktionen nicht im Sinne einer Immunitätsreaktion gedeutet. Sachs führt sie teilweise auf Labilitätsreaktionen zurück im Sinne von Hirszfeld und Klinger, die durch Labilisierung der Globuline normale Sera Wassermannpositiv machen konnten.

All diese Momente waren wohl die Ursache, daß man die so brennende Frage nach einer serologischen Krebsdiagnostik in der letzten Zeit mehr bei Seite ließ, oder ihre Lösung rein empirisch erstrebte. Als wir unsere ersten Komplementbindungsversuche bei Krebskranken selbst mit solchen Krebsextrakten ansetzten, die mit Kaninchenkrebsimmunsereen ausgezeichnet reagierten, so waren sie vollkommen negativ und bestätigten anscheinend den Pessimismus über die Möglichkeit der Feststellung serologischer Reaktionen gegenüber dem Krebs. Nun bestand unsere Technik in der Aufschwemmung getrockneter Tumoralipoide in NaCl, ent-

sprechend etwa dem Antigen von Bordet-Rührens. Nach unserer Erfahrung sind aber diese Antigene weniger empfindlich. Es entstand daher die Notwendigkeit, die Empfindlichkeit der Antigene zu steigern, ohne daß sie Einbuße an der Spezifität erleiden. Eine solche Aufgabe ist für einen geschulten Serologen nicht schwer.

Bekanntlich ist der physikalische Zustand der Lipoidsuspension für die Empfindlichkeit der Wassermannantigene von grosser Bedeutung. Er lässt sich durch mehrere Momente modifizieren: schnellere oder langsamere Verdünnung, Reifung der Lipoidsuspension in Kochsalz oder Wasser, oder durch Zusatz von Cholesterin etc. Durch alle diese Momente lässt sich bekanntlich die Technik der Luesreaktion so gestalten, dass je nach Wunsch schnell oder langsam vor sich gehende, makroskopisch sichtbare oder nur durch Komplementbindung nachweisbare Reaktionen erzielt werden können. Es war a priori anzunehmen, daß die Krebsreaktionen, bei welchen ebenfalls Lipoidsuspensionen benutzt werden, von gleichen Momenten abhängig sein müssen. Es ist uns in der Tat gelungen, alle möglichen Variationen der Reaktionsfähigkeit zu erzielen, von denen wir später berichten werden. Wir haben aber im Augenblick die größte Erfahrung mit der Methode der Komplementbindung mit cholesterinierten Krebsextrakten. Bekanntlich hat Sachs die Cholesterinierung der Wassermannextrakte in die Luesdiagnostik eingeführt und damit der Serodiagnostik der Lues eine tragfähige Unterlage gegeben. Die gleiche Methode, allerdings mit gewissen quantitativen Variationen, erwies sich für die Empfindlichkeit der Krebsantigene von der allergrößten Bedeutung. Wir können die Empfindlichkeit unserer Extrakte durch Cholesterinzusatz 10 bis 100 mal steigern. Die Titer der Antikrebssera sind um entsprechende Werte höher, wenn sie mit cholesterinierten Extrakten geprüft werden.

Experimenteller Teil.

Mit Hilfe der so sensibilisierten Antigene gingen wir an die Aufgabe heran, Krebsantikörper bei Krebskranken zu suchen.

Unsere Versuche zeigen, daß es in der Tat gelingt mit entsprechend ausgesuchten und empfindlichen Antigenen bei Krebskranken Antikörper für alkoholo-

lische Krebsextrakte nachzuweisen. Unsere Technik gestaltete sich folgendermaßen.

Zubereitung der Alkoholextrakte: das Krebsgewebe wird mit einer Schere fein zerschnitten, in eine Flasche mit Glasperlen gebracht, mit 96% Alkohol im Verhältnis 1:10 vermischt, einige Minuten geschüttelt und in den Brutschrank bei 37° gestellt. Es wird täglich einige Male geschüttelt und nach 9 Tagen durch Papierfilter filtriert.

Die Antigene von vielen Tumoren wurden auf unten beschriebene Weise vergleichend geprüft

Zubereitung der Antigenverdünnung: 0·3 oder 0·35 ccm des Alkoholextraktes und 0·2 bzw. 0·15 ccm 1% alkoholischer Cholesterinlösung Kahlbaum werden in einem Röhrchen vermischt. Der Zusatz des Cholesterins variiert bei verschiedenen Tumoren und muß empirisch gefunden werden. Zu dem Antigen-Cholesteringemisch setzt man 3 ccm NaCl mit einer Pipette zu. Der Zusatz geschieht schnell. Man soll keine zu großen Reihen machen, nicht mehr als 7 ccm Antigen auf einmal bereiten und verteilen, da die Antigene sonst selbsthemmend werden.

Ausführung der Komplementbindung: 0·05 ccm inaktivierten Serums 0·2; 0·1; 0·05; 0·025 ccm der Antigenverdünnung 0·25 ccm Komplement, 5 hämolytische Dosen und 0·45 ccm NaCl. Eine Stunde im Brutschrank bei 37° und dann 0·5 ccm 3% sensibilisierter Hammelblutkörperchen.

Für die vergleichende Prüfung der Tumorextrakte wurden die Antigene auf o. e. Weise dargestellt und in der Menge von 0·2 ccm angewandt. Die Reaktion selbst setzen wir quantitativ an und zwar unter absteigender Antigenmenge, da wir bei absteigender Serummenge manchmal Selbsthemmung der Antigene beobachtet haben.

Die ersten Versuche wurden mit Krebsimmunsereen angesetzt. Dann fanden wir eine Parallelität mit geeigneten Seren von Krebskranken. Da die letzten viel leichter zu beschaffen sind, gingen wir dazu über, die Extrakte nur mit Seren von Krebskranken vergleichend zu prüfen.

Wir werden später die Zusammenstellung unserer Erfahrungen im Zusammenhang mit der klinischen Diagnose der Fälle besprechen und jetzt seien nur Versuche mitgeteilt, auf welche Weise gute Antigene gefunden werden können.

Wir besprechen zunächst das Protokoll I—III. Man sieht, daß ein Teil der Krebssera mit Krebsextrakten reagiert, ein anderer nicht. Die positiven Befunde bei einzelnen Krebsextrakten decken sich mit den Ergebnissen, die Hirszfeld, Halber

PROTOKOLL I.

Sera		Alkoholische Extrakte aus Carcinomen														Magen	Niere	Magen			Niere	Wasserm.-Reak.	
Name	Diagnose	100 Ca ven- triculi	1236 Ca ven- triculi	848 Ca ven- triculi	585 Ca colo- nis	922 Ca ven- triculi	159 Ca ven- triculi	402 Ca ven- triculi	263 Ca pan- creatis	Grin. Ca mam- mae	322 Ca ven- triculi	117 Ca ven- triculi	Gol Ca mam- mae	40 Ca vesi- caefelleae	426 Ca recti	826	826	175	185	322	263	Herz	Kon- trolle
Adamczyk	Ca uteri	+++	+++	+	±						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oltarzewska	" "	+++	++	++	+	+++	±	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jagiello	Ca ventric.	+++	++	+++	++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
890	Ca pylori	+++	+++	++	++	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
867	Ca ventric.	++	++	+++	++	+	-	±	-	-	±	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
Sztokniger	Ca oesophagi	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Michaluk	Ca uteri	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	+++	++	-	-	-	-	+++	+++	++	-	+++	+++	-
Gajewska	Ca col. uter.	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Łojek	" " "	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	±	+++	+	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Szostakowski	Ca recti	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	±	+++	+++	-
Zajączkowski	Ca vulvae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrollen 1-5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

8/XI. 1929.

PROTOKOLL II.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:										Magenextrakte			Lunge	Wassermn Reaktion	
Name	Diagnose	100 ventriculi	1236 ventriculi	820 hepatis	867 ventriculi	402 ventriculi	159 ventriculi	263 pancreatis	Grin mammae	848 ventriculi	922 ventriculi	175	185	263	161	Herz	Kontrolle
Jagiello	Ca ventr.	+++	++	+++	+	++	++	—	—	++	+	±	—	—	—	—	—
Zielawska	Ca recti	++	++	+	±	++	±	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
Oltaszewska	Ca uteri	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	++	+	±	±	—	—	—	—
867	Ca ventr.	+++	++	++	+	+	±	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—
890	Ca pylor.	+++	+++	+++	—	±	±	—	—	++	+	—	—	—	—	—	—
Michaluk	Ca uteri	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	±	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—
Gajewska	Ca uteri	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+	—	+++	—
Łojek	Ca uteri	+++	+++	+++	+	++	++	+	+	++	++	++	++	++	±	+++	—
Szostakowski	Ca recti	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	—
Kontrollen 1—5		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

27/XI. 1929.

PROTOKOLL III.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:				Niere	Wasserm.-Reaktion	
Name	Diagnose	100 ventriculi	1236 ventriculi	820 hepatis	Grin mammae	820	Herz	Kontrolle
Krajewska	Ca uteri	+++	+++	+++	—	—	—	—
Wiśniewski	Ca recti	+++	±	+++	—	—	—	—
Piotrowski	Ca ventr.	++	±	+++	—	—	—	—
Cubrzyńska	Ca uteri	++	±	+++	—	—	—	—
826	Ca mammae	+++	+++	+++	—	+++	—	—
909	Ca hepatis	+++	+++	+++	—	++	—	—
820	„ „	++	++	+	—	—	—	—
Gliksberg	Ca uteri	—	—	++	—	—	—	—
973	Ca duodeni	+++	+++	+++	—	++	+	—
Downarowicz	Ca linguae	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
1	Lues	+++	+++	+++	—	+++	+++	—
2—5	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—

2/XII. 1929. PROTOKOLL IV.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:							Niere	Magenextrakte	Wassermn. Reaktion				
Name	Diagnose	100 ven-triculi	1236 ven-triculi	848 ven-triculi	585 colonis	426 recti	159 ven-triculi	402 ven-triculi	263 pancreatis	820	175	185	622	Herz	Kontrolle
Zielawska Luc	Ca recti Ca ventric.	++ —	++ —	++ —	+	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1 2	Lues Kontrolle	+++ —	+++ —	+++ —	+++ —	++ —	++ —	+++ —	+	+++ —	±	++	++	+++	—

12/XII. PROTOKOLL V.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:			Magen	Lun-ge	Niere	Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 ven-triculi	820 hepatis	1359 ven-triculi	172	172	172	Herz	Kontrolle
Glowacka Manes Pieczkowiez Iwankowiez	Ca uteri Sarc. ovarii Ca ventric.	+++ ± ± +++	+++ ± — +++	+++ +++ — +++	— — — +++	— — — +	— — — —	— — — —	— — — —
1—5	Kontrollen	—	—	—	—	—	—	—	—

PROTOKOLL VI.

8/I. 1930.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:			Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 ventri- culi	1017 pulmo- nis	1022 hepatis	Herz	Kon- trolle
Werner	Ca. uteri	+++	+++	+++	—	—
Kulicka	„ „	+++	+	++	—	—
Modzelewska	„ „	+++	+	±	±	—
Olechnowicz	„ „	+++	+	+	—	—
Lewis	Ca linguae	+++	++	++	—	—
1022	Ca hepatis	++	++	++	—	—
1	Lues	+++	—	—	+++	—
2	„	+++	—	—	+++	—
3	„	+++	—	—	+++	—
4	„	+++	±	±	+++	—
5	„	+++	±	±	+++	—
6	„	+++	+++	+++	+++	—
7	„	+++	+++	+++	+++	—
8--12	Kontrollen	—	—	—	—	—

PROTOKOLL VII.

13/I. 1930.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:			Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 ventri- culi	1019 pulmo- nis	1022 hepatis	Herz	Kon- trolle
Wyszyńska	Schwangere	++	—	—	—	—
Przybylska	Ca uteri	++	—	—	—	—
Lewandowska	„ „	+++	++	+++	+++	—
1	Lues	+++	—	+	+++	—
2	Kontrolle	—	—	—	—	—

PROTOKOLL VIII.

3/II. 1930.

Sera		Tumorextrakte aus Ca:				Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 ventriculi	1359 ventriculi	937 duodeni	953 ovarii	Herz	Kontrolle
Iwankowicz	Ca ventric.	+++	+++	—	—	—	—
Kwiatkowska	Ca uteri	+++	+++	+++	—	+	—
Zajac	„ „	+++	+++	+++	±	+++	—
1	Lues	+++	+++	+++	+	+++	—
2—5	Kontrolle	—	—	—	—	—	—

und Laskowski mit Hilfe von Kaninchenimmunsereen gewonnen haben.

So fanden o. e. Autoren, dass die Tumoren 263 (Ca pancreatis), Grin (Ca mammae) und 322 (Ca ventriculi) mit Krebsimmunsereen nicht reagierten; sie reagieren auch mit Seren der Krebskranken nicht. Wir fanden zwar manche Carcinome, die vor einem Jahre mit Kaninchenkrebsimmunsereen reagierten und jetzt mit Menschenimmunsereen sich als nicht oder wenig reaktionsfähig erwiesen haben, z. B. 159 (Ca ventriculi) oder 426 (Ca recti). Ob diese Antigene sich abgeschwächt haben, oder ob unsere Krebssera schwächer sind, als die Immunsere, können wir im Augenblick nicht feststellen. Die Versuche zeigen, daß selbst zwischen den reagierenden Tumoren quantitative Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit bestehen. Die Protokolle sind in dieser Beziehung sehr demonstrativ. Auch die Negativität ist schließlich relativ, manche nichtreagierende Krebsextrakte reagieren mit manchen starken Seren, namentlich mit solchen, die auch mit normalen Organen eine Komplementbindung geben und als Wassermannpositiv bezeichnet werden müssen. Nichtreagierende Tumorextrakte werden auch durch Cholesterinzusatz in stärkerer Konzentration nicht aktiviert und geben mit Seren der Krebskranken keine Komplementbindung. Die Reaktionsfähigkeit der Krebssera beschränkt sich nicht

auf den homologen Tumor; ein Blick auf die Protokolle I—VIII zeigt dies mit aller Deutlichkeit: Sera von Uterus- oder Rektumkrebsfällen reagieren ausgezeichnet mit Magenkrebsen, Magenkrebssera mit Leberkrebsen und dergleichen (Näheres siehe Protokolle).

Zusammenfassend kann man demnach sagen, dass in den Krebsseren Reaktionskörper vorhanden sind, die mit reaktionsfähigen alkoholischen Krebsextrakten unter Komplementbindung reagieren.

Es entsteht die Frage, ob diese Reaktionen Antigen-Antikörperreaktionen sind. Ohne in diesem Zusammenhange die Frage nach dem Wesen der Wassermannschen Reaktion und der Labilitätsreaktionen näher beleuchten zu wollen, möchten wir auf folgende Momente bei der Feststellung der Krebsantikörper in Krebsseren hinweisen. Die spezifische Wirkung der Kaninchenkrebsimmunsera unterliegt keinem Zweifel (siehe auch Witbsky). Wir sehen, daß man mit Hilfe von Krebsseren ungefähr die gleiche Aufteilung der Tumoren bekommen kann, wie mit Hilfe von Immunseren. Es liegt daher vorderhand keine Veranlassung vor, um die Reagierbarkeit mit Seren von Krebskranken anders zu deuten, als eine spezifische Antwort des Organismus auf die Resorption von Krebsgewebe. Die die Krebsreaktion bedingenden Substanzen sind thermostabil und verschwinden nicht bei der Verdünnung; damit unterscheidet sich die Krebsreaktion von unspezifischen Labilitätsreaktionen, Blutkörperchensenkung und dergl. Krebssera, falls sie Wassermannnegativ sind, reagieren nicht mit alkoholischen Extrakten aus normalen Organen, selbst wenn sie auf identische Weise bereitet werden, wie die Krebsextrakte. Die Komplementbindung mit geeigneten Krebsextrakten unterscheidet sich von anderen für Krebs mehr oder weniger charakteristischen Reaktionen dadurch, daß hier das spezifische Antigen benutzt wird.

Unsere Protokolle zeigen, daß Luessera mit den meisten Tumorextrakten reagieren. Wir werden diesen Befund noch später näher besprechen. Es ist nun wichtig festzustellen, daß Krebssera, wie erwähnt, mit Extrakten aus normalen Organen in der Regel nicht reagieren. Manche Krebssera sind aber nach Wassermann positiv und nur diese Sera reagieren regelmäßig auch mit Extrakten aus normalem Gewebe. Namentlich die Protokolle I—II demonstrieren diese Befunde in ausgezeichneter Weise; die ersten Krebsfälle zeigen mit Magenextrakten keine

oder nur spurweise Hemmung, während die letzten nach Wassermann positiv reagierenden Sera auch mit Magenextrakten Komplementbindung geben. Man muß demnach solche Sera unterscheiden, die nur mit Krebsextrakten reagieren und solche, die außerdem auch mit Extrakten aus normalen Organen eine Komplementbindung geben. Die letzten reagieren auch mit Herzextrakt und werden demnach als Wassermannpositiv bezeichnet. Da das Krebsantigen eine streng umschriebene Spezifität hat, so kann man schwerlich die Krebsreagine anders als eine immunologische Antwort auf die Resorption des Krebsantigens auffassen. Bei solchen Fällen, die auch mit normalen Extrakten reagieren, muß man aber die Möglichkeit der Luesinfektion berücksichtigen und sämtliche Theorien, die man zur Erklärung der W. R. aufstellte, heranziehen. Es scheint uns aber, daß gerade die gleiche Reaktionsfähigkeit mit beiden Antigenen es unwahrscheinlich macht, um Reaktionskörper gegenüber alkoholischen Substanzen bei Lues und Krebs anders zu deuten. Es verlangt die Ökonomie des Denkens, um in beiden Fällen eine »Resorption« des Gewebes mit nachfolgender Antikörperbildung zu postulieren, nur daß bei Krebs eine serologische Spezifität des Antigens nachgewiesen werden kann und daher die physikalischen und anderen Erklärungsmöglichkeiten nicht in Betracht kommen. Daher glauben wir, daß man in beiden Fällen eine Zerfallsimmunität postulieren muß, die von der ätiologischen Immunität getrennt werden soll und daß unsere Befunde die von Sachs verfochtene Hypothese der Autoantikörper bei Lues, wenn auch indirekt, in hohem Maße stützen. Wir können aber nicht sagen, ob eine Einschmelzung des normalen Gewebes in unseren Wassermannpositiven Fällen nur durch Lues bewirkt wird, oder ob bei Resorption des Carcinoms auch normale Lipoidantigene wirken. Wir möchten daher die Frage vorlegen, ob eine positive W. R. bei Krebs (d. h. Antikörper gegen das normale Gewebe), die im Krebsserum gelegentlich beobachtet wird, unbedingt auf Lues zurückgeführt werden muß. Wir hatten den Eindruck, ohne daß unser Material sichere Schlußfolgerungen erlaubt, daß gerade in den letzten Stadien der Krebskrankheit das Serum Wassermannpositiv wird. Es wäre notwendig die Reaktionsfähigkeit gegenüber dem normalen und dem Krebsgewebe bei Krebskran-

ken im Verlaufe der Krankheit zu verfolgen. Sollte sich die W. R. während der Entwicklung des Krebses unter Ausschließung einer frischen Luesinfektion einstellen, so wäre die Deutung der W. R. im Sinne von Sachs bei Krebs sichergestellt. Wir möchten aber außerdem aufmerksam machen, daß unsere Uterus- und Mammakrebse unter einer intensiven Radium- oder Röntgenbehandlung standen, die wahrscheinlich auch das gesunde Gewebe zur Einschmelzung gebracht haben. Es könnte sein, daß das relativ häufigere Vorkommen der positiven W. R. bei diesen Krebsformen dadurch zu erklären ist, während die so zu sagen physiologische Resorption des Krebses, eher nur Krebsantikörper bewirkt. Wir neigen zu solchen Erklärungsmöglichkeiten deswegen, weil bei den betreffenden Krebsfällen anamnestisch und klinisch eine Luesinfektion unwahrscheinlich war (viele Kinder, keine Aborte, Gatte Wassermannnegativ etc.). Die Tatsache, daß Luessera mit den Krebsextrakten reagieren, möchten wir darauf zurückführen, daß unsere Tumorextrakte auch solche Substanzen enthalten, die in normalen Organen vorhanden sind und die sich daher in gleicher Weise als Antigene eignen, wie die normalen Organextrakte. Man könnte annehmen, daß unsere Tumorextrakte vielleicht quantitativ besser sind als Normalextrakte, aber daß die gleichen Antigene in beiden Fällen in Betracht kommen, und sie daher auch solche Antikörpermengen anzeigen, die mit normalen Organen nicht nachgewiesen werden können. Mit anderen Worten, daß die Krebsreaktion durch die gleichen Stoffe ausgelöst wird, wie die W. R., aber so empfindlich eingestellt, daß auch manche nicht-Luessera mitangezeigt werden. Unsere Erfahrungen erlauben eine derartige Schlußfolgerung auf mehrere Weise zu widerlegen: durch quantitative Titrierung der Krebssera, durch entsprechende Selektion der Neubildungen, schließlich durch eine chemische Analyse der in Frage kommenden Substanzen. Wir haben in diesen drei Richtungen Versuche unternommen. Was nun die Titrierung der Krebssera anbelangt, so steht ihnen sofern eine gewisse Schwierigkeit entgegen, da unsere konzentrierten und sehr stark cholesterinierten Krebsextrakte leicht selbsthemmend werden. Diese Eigenhemmung wird zurückgedrängt durch 0.05 ccm. Menschenserum, bei größeren Serumverdünnungen kommt sie dagegen häufig zum Vorschein. Immerhin konnten wir bereits mehrere Male solche

Titrierungen vornehmen und wir geben ein Protokoll, welches zeigt, daß bei quantitativer Titrierung die Krebssera meistens stärker mit Krebsantigenen reagieren, während bei Luesseren eine solche Diskrepanz meistens nicht nachweisbar ist. Wir möchten betonen, daß solche Befunde nicht regelmäßig erhoben werden können, da manche Wassermann-schwachpositive Sera mit unseren konzentrierten Antigenen noch angezeigt werden. Es scheint, daß man gerade stark positive Lues- und Krebssera benutzen muß, um dieses Phänomen zu reproduzieren. Immerhin sprechen solche Beobachtungen, wie sie das Protokoll IX wiedergibt, für eine spezifische Affinität der Krebssera zum homologen Antigen.

PROTOKOLL IX.

Quantitative Prüfungen der Krebs- und Luessera mit Krebs- und Herzantigen.

Name	Diagnose	Antigen	Titer der Sera					
			1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640
Jag.	Ca ventric.	Krebs	+++	+++	++	++	+	±
		Herz ¹⁾	—	—	—	—	—	—
Mich.	Ca uteri	Krebs	+++	++	++	+	—	—
		Herz	+++	++	+	—	—	—
Szost.	Ca recti	Krebs	+++	+++	+++	+++	+	±
		Herz	+++	+++	+	±	—	—
867	Ca scirhosum ventr.	Krebs	+++	++	±	—	—	—
		Herz	—	—	—	—	—	—
890	Ca pylori	Krebs	+++	++	+	—	—	—
		Herz	—	—	—	—	—	—
909	Ca hepatis	Krebs	+++	+++	+++	+++	+	—
		Herz	—	—	—	—	—	—
105	Lues	Krebs	+++	+	±	—	—	—
		Herz	+++	+	—	—	—	—
106	Lues	Krebs	+++	+++	+++	±	—	—
		Herz	+++	+++	+++	±	—	—

¹⁾ Cholesterinierte Herzantigene, wie sie für die W. R. benutzt werden.

Wir haben eine ganze Reihe von Tumoren geprüft und blieben schließlich bei dem Magentumor 100 und Lebertumor 820. Immerhin ist es uns aufgefallen, daß manche Extrakte, die noch gut mit Krebsseren reagieren, sich für die W. R. etwas schlechter eignen. Das Protokoll VI zeigt dies, indem der Krebsextrakt 1017 und 1022 mit 6 verschiedenen Krebsseren reagierte, er konnte aber von 7 Wassermannpositiven Seren nur 2 anzeigen. Man beobachtet solche Protokolle allerdings nur gelegentlich, sie weisen aber wieder auf die gewünschte selektive Affinität hin. Schließlich zeigen chemische Untersuchungen, die im Anschluß an unsere Arbeit Fr. Kołodziejska ausgeführt hat, und worüber am anderen Ort berichtet werden soll, daß die wirksamen Antigene zusammen mit den Fettsäuren gewonnen werden können, also vielleicht Fettsäuren sind. Wir konnten nur wiederholt beobachten, daß Krebssera mit dieser Fraktion ausgezeichnet reagieren, während sie mit den Lipoiden nicht reagieren. Die Luessera scheinen dagegen mit beiden Substanzen Komplementbindung zu geben, wobei individuelle Verschiedenheiten beobachtet wurden. Wie erwähnt, werden wir über diese Beobachtungen anderweitig berichten.

Es entsteht die praktisch wichtige Frage, ob Sera der Krebskranken nur mit solchen Tumoren geprüft werden müssen, an welchen der betreffende Patient leidet, oder ob auch Tumoren anderer Provenienz benutzt werden können. Die Kaninchenkrebsimmunsere, die Hirszfeld, Halber und Laskowski benutzten, waren hauptsächlich gegen Magentumoren gerichtet, doch reagierten sie gelegentlich auch mit Geschwülsten anderer Provenienz. Über 40% aller Krebse konnte mit unseren Krebsimmunsere von Kaninchen nicht erfaßt werden und es war daher möglich, daß sie zu einer anderen serologischen Gruppe gehören. Die Protokolle I—VIII zeigen, daß man bei Krebskranken Krebsantikörper auch mit Tumoren anderer Provenienz feststellen kann, so daß eine Spezifität in bezug auf das Ausgangsorgan oder nähere histologische Differenzen nicht vorzukommen scheint. Wir geben diese Deutung natürlich unter dem Vorbehalt, daß sie bei weiterer Erfahrung bestätigt wird. Um so dringender war aber die Untersuchung, wie Sera von solchen Kranken reagieren werden, die an Krebsen leiden, bei denen mit der benutzten Technik die Krebssubstanz nicht nachgewiesen wurde. Es ge-

Komplementbindungsreaktionen bei Krebs 295

PROTOKOLL X.

Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis der Krebsantigene in Neubildungen und der Krebsantikörper im Serum.

Reagierbarkeit des Tumors 909.

Ca hepatis Nr. 909.

Zum Vergleich herangezogen 100 (Ca ventriculi) Nr. 1236 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:			Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	Ca hepatis 909	100	1236	Herz	Kontrolle
Szczepka	Ca uteri	±	++++	+++	+++	—
Modzelewska	" "	—	++++	—	—	—
Przybylska	" "	—	++++	—	—	—
Werner	" "	±	++++	+++	—	—
Kulicka	" "	—	++++	+	—	—
1022	Ca hepatis	—	++	+	—	—
Krzaczek	Ca pedis	—	++++	—	±	—
1	Lues	+++	++++	—	+++	—
2	"	—	++++	±	++++	—
3	"	—	++++	—	++++	—
4	"	—	++++	—	++++	—
5	Kontrolle	—	—	—	—	+

Bem. Zusammenstellung der Versuche von 19/XI, 28/XII 1929, 4/I, 8/I, 9/I 1930.

PROTOKOLL X a.

Krebsantikörper im Serum von 909 (Ca hepatis).

Sera		Alkoholische Extrakte					Wassermn. Reaktion		
Name	Diagnose	100 Ca ventr.	1236 Ca ventr.	820 Ca hepat.	882 Perit	1359 Ca ventr.	Grin. Mam-mae	Herz	Kontrolle
909	Ca hepatis	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—
973	Ca duodeni	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	—
Szesztak	Ca recti	++++	++++	—	—	—	+++	—	—
1	Lues	++++	±	—	—	—	—	+++	—
2	"	++	+	+++	±	—	—	++	—
3	"	++++	—	—	—	++	—	++	—
4	"	+++	—	+++	—	—	—	+++	—
5	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 15/XI, 30/XI, 3/XII, 4/XII 1929.

PROTOKOLL XI.

Reagierbarkeit des Tumors 1019.

Ca pulmonis mit Gehirnmetastasen.

Zum Vergleich herangezogen 100 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:		Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	1019	100	Herz	Kontrolle
Modzelewska	Ca uteri	—	+++	—	—
Przybylska	" "	—	+++	—	—
Wyszyńska	Schwangere	—	+++	—	—
1	Lues	—	+++	+++	—
2	Kontrolle	—	—	—	—

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 28/XII 1929 und 13/I 1930.

PROTOKOLL XI a.

Krebsantikörper im Serum von 1019 (Ca pulmonis).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:		Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100	Herz	Kontrolle	
1019 Przybylska	Ca pulmonis Ca uteri	+++ +++	— —	— —	
1	Lues	+++	+++	—	
2	Kontrolle	—	—	—	

Bem. Versuch vom 20/XII 1929.

PROTOKOLL XII.

Reagierbarkeit des Tumors Krzaczek.

Ca striocellulare pedis.

Zum Vergleich herangezogen Ca 100 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:		Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	Krzaczek	100	Herz	Kontrolle
Lewis	Ca linguae	—	+++	—	—
Olechnowicz	Ca uteri	—	+++	—	—
Kowalczyk	" "	—	+++	—	—
Zajac	" "	—	+++	+++	—
1	Lues	—	+++	+++	—
2	Kontrolle	—	—	—	—

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 11/I und 29/I 1930.

Komplementbindungsreaktionen bei Krebs 297

PROTOKOLL XII a.

Krebsantikörper im Serum Krzaczek (Ca pedis).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:				Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 Ca ventr.	820 Ca hepatis	1359 Ca ventr.	Grin. Ca mammae	Herz	Kontrolle
Krzaczek 973	Ca pedis Ca duodeni	+++ +++	+++ +++	+++ +++	— —	— —	— —
1 2	Lues Kontrolle	+++ —	+++ —	+++ —	± —	+++ —	— —

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 9/XII, 14/XII, 20/XII 1929 und 4/I 1930.

PROTOKOLL XIII.

Reagierbarkeit des Tumors 31.

Ca ventriculi.

Zum Vergleich herangezogen Ca 100 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:		Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	31	100	Herz	Kontrolle
Michalak Soluhub Kowalska Wys.	Ca uteri Ca recti Ca uteri Schwangere	— — — —	+++ +++ +++ +++	— — — —	— — — —
1 2	Lues Kontrolle	— —	+++ —	— —	— —

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 23/I und 29/I 1930.

PROTOKOLL XIII a.

Krebsantikörper im Serum von 31 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:	Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100	Herz	Kontrolle
31 Olechnowicz	Ca ventriculi Ca uteri	+++ +++	++ —	— —
1 2	Lues Kontrolle	+++ —	+++ —	— —

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 14/I und 16/I 1930.

PROTOKOLL XIV.

Reagierbarkeit des Tumors Iwankowicz.

Ca ventriculi.

Zum Vergleich herangezogen Nr. 100 (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:		Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	Iwankowicz	100	Herz	Kontrolle
Werner	Ca uteri	—	+++	—	—
Kulicka	„ „	—	+++	—	—
Lewandowska	„ „	—	+++	+++	—
Wyszyńska	Schrangere	—	+++	—	—
1	Lues	—	+++	+++	—
2	Kontrolle	—	—	—	—

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 18/I und 13/I 1930.

PROTOKOLL XIV a.

Krebsantikörper im Serum von Iwankowicz (Ca ventriculi).

Sera		Alkoholische Extrakte aus Ca:			Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	100 Ca ventriculi	820 Ca hepatis	Grin. Ca mammae	Herz	Kontrolle
Iwankowicz	Ca ventric.	+++	+++	—	—	—
Kocek	Schwangere	+++	+++	—	—	—
1	Lues	+++	+++	—	+++	—
2	Kontrolle	—	—	—	—	—

Bem. Zusammenstellung der Versuche vom 13/XII, 14/XII 1929, 21/I, 27/I 1930.

lang uns in der Tat 5 solche nichtreagierende Neubildungen zu finden, bei denen wir Sera untersuchen konnten. Wir haben die Sera der betreffenden Krebskranken wiederholt geprüft, die Sera waren teilweise so stark, daß wir sie später als Kontrollsera benutzten. Wir geben die Protokolle (Seite 295—298) in gedrängter Form an. Die Anzahl der Versuche, die bei jedem Protokoll vermerkt ist, bedeutet, wie häufig wir die betreffenden Sera auf Antikörpergehalt gegenüber dem Krebsgewebe geprüft haben.

Diese Versuche zeigen, daß selbst in den Fällen, bei welchen mit der angewandten Technik die spezifischen Antigene in den Tumoren nicht nachgewiesen wurden, die Sera mit guten Antigenen reagierten. Wir müssen somit annehmen, daß die betreffenden Tumoren nicht zu einer anderen serologischen Gruppe gehörten, da sie bei den Kranken den gewöhnlichen Typus der Krebsantikörper hervorgerufen haben. Die Nichtreagierbarkeit des Tumors *in vitro* muß somit eine andere Ursache haben, als die Typenfremdheit des Tumors. Diese Vermutung konnte durch chemische Analyse von Fr. Kołodziejska sichergestellt werden. Es gelang nämlich, wie wir dies am anderen Ort berichten werden, in sämtlichen angegebenen 5 nichtreagierenden Krebsseren mit geeigneten Methoden Fettsäuren oder Fettsäurenfraktionen darzustellen, die mit Krebsseren spezifisch reagierten.

Wir möchten diese Befunde nicht verallgemeinern, es wäre möglich, wie dies Witebsky vermutet, daß wir mehrere Typen von Krebsantigenen unterscheiden müssen. Der seltene Nachweis der Antikörper bei Hautkrebsen (siehe später) könnte schließlich in dem Sinne gedeutet werden, daß z. B. Hautkrebs andere Antigene enthalten. Unsere Versuche zeigen aber, daß in den meisten Fällen die Sera der Krebskranken auch mit Tumoren anderer Provenienz reagieren und daß daher auf serodiagnostischem Wege der Nachweis geführt werden kann, daß die meisten Krebse das gleiche Antigen enthalten. Die Krebsdiagnostik läßt sich demnach unter Verwendung eines guten Antigens aufbauen, inwieweit sie durch die Anwendung vieler Antigene verbesserungsfähig ist, lassen wir dahingestellt. Wollen wir untersuchen, wie häufig diese Antikörper bei Krebskranken nachgewiesen werden können und welche Spezifität der Reaktion zukommt.

II. Kapitel.

Über Krebsantikörper bei Krebskranken.

Die im ersten Kapitel mitgeteilten Versuche zeigen, daß man mit Hilfe der dort angegebenen Technik, spezifische Antikörper gegen alkohollösliche Krebsantigene nachweisen kann. Wir haben nun mit Hilfe dieser Reaktion bereits über 200 Krebssera untersucht und möchten jetzt darüber berichten. Es sei bemerkt, daß sämtliche Versuche mit dem Tumor 100 (Ca ventriculi) vorgenommen wurden und zwar in 4 Dosen. (Die Cholesterinierung und Verdünnung des Extraktes 0·35 ccm Extrakt, 0·15 ccm 1% Cholesterinlösung, 3 ccm NaCl). Daneben wurde stets die W. R. angesetzt. Die Wertung der Reaktion geschah nach den üblichen Kriterien, wie bei der W. R. Nur sei bemerkt, daß wir in Kontrollfällen eine schwache Hemmung im ersten Röhrchen, die wir als + bzw. ± definieren, nicht als positiv, sondern als höchstens zweifelhaft betrachten. Bei Krebsfällen werden solche zweifelhaften Reaktionen diagnostisch nicht berücksichtigt. Die Anstellung der W. R. in der gleichen Versuchsreihe ist unbedingt notwendig; bei positiver W. R. ist der Ausfall der Reaktion für die Krebsdiagnose nicht mehr maßgebend. Wir möchten noch einmal daran erinnern, daß die verdünnten Extrakte nicht lange stehen dürfen, sonst wirken sie eigenhemmend. Wir setzen nicht mehr als 7 ccm Extraktverdünnung und verteilen sie sofort. Die Sera in der Menge von 0·05 ccm bringen meist eine ev. Eigenhemmung zum Verschwinden, verdünntere Sera tun es nicht und daher erzielt man manchmal bei kleineren Serumdosen auf einmal Hemmung. Aus diesem Grunde setzen wir die Reaktion mit gleichen Serumengen und absteigenden Antigendosen an.

Neben den Krebsseren wurden stets Kontrollen aus unserer Wassermannstation mituntersucht. Es würde zu weit führen sämtliche Protokolle mitzuteilen und daher begnügen wir uns mit 2 typischen Protokollen, die unsere Arbeitsweise demonstrieren (XV—XVI) und der Zusammenstellung der Befunde.

Bei der Betrachtung dieser Tabelle fällt auf, daß die verschiedenen Krebssera in ungleicher Häufigkeit eine Komplementbindung geben. Bei Vulva- und Vagina-Krebsen waren die Sera stets negativ, bei Ca cutis hatten wir ein positives Ergebnis bei einem Ca pedis, welches sich auf einer Verbrennungsnarbe entwickelte,

Komplementbindungsreaktionen bei Krebs 301

Beispiele eines Versuchsprotokolls zur Serodiagnostik des Krebses.

PROTOKOLL XV.

4/I. 1930.

Sera		Tumorextrakt 100				Wassermn. Reaktion	
Name	Diagnose	0·2	0·1	0·05	0·025	Herz	Kontrolle
Zatamba	Ca uteri	++	±	-	-	-	-
Léwis	Ca linguae	+++	+++	+++	±	-	-
Kwiatkowska	Ca uteri	+++	++	±	-	-	-
Werner	" "	+++	+++	+++	+++	±	-
Olechnowicz	" "	+++	+++	±	-	-	-
Kielmanowicz	Sarc. colli	-	-	-	-	-	-
Cubrzyńska	Ca uteri	++	±	-	-	-	-
Włodecka	Sarc. ossis	-	-	-	-	-	-
Staszewska	Ca uteri	++	±	-	-	-	-
30	Ca ves. fell.	+++	+++	++	±	±	-
Krzaczek	Ca pedis	+++	++	±	-	-	-
H.	Amme	+	±	-	-	-	-
1	Lues	+++	+++	++	-	+++	-
2	"	+++	+++	+	-	+++	-
3-13	Kontrollen	-	-	-	-	-	-

PROTOKOLL XVI.

14/I. 1930.

Zajac	Ca uteri	+++	+++	+++	±	+++	-
Kulicka	" "	++	±	-	-	-	-
Harbut	Ca mammae	+	-	-	-	-	-
Jaszczur	Ca pros.	+++	±	-	-	-	-
Stalusli	Ca oesophagi	-	-	-	-	-	-
31	Ca peritonei	+++	+++	++	+	++	-
H.	Geburt v. 2.	++	±	-	-	-	-
Olechnowicz	Ca col. uteri	+++	±	-	-	-	-
M.	Schwangere	+++	-	-	-	-	-
552	Lues Grim.	+++	+++	++	-	+	-
505	Lues Behand.	+++	+++	+++	+++	+++	-
545	Lues latens	++	+	-	-	±	-
624	" "	+	±	-	-	-	-
1 - 12 Kontrollen		-	-	-	-	-	-

PROTOKOLL XVII.

Reaktionsfähigkeit der Krebssera mit Krebs- und Herzantigenen.

Ursprung des Krebses	Antigene aus				Zahl
	Krebs		Herz		
	+	-	+	-	
Lingua pharynx larynx	4=28%	10	—	14	14
Pulmo	2	—	—	2	2
Oesophagus	3=25%	9	—	12	12
Ventriculus	12=55%	10	1=4%	21	22
Duodenum	2	1	—	3	3
Rectum	8=61%	5	2=15%	11	13
Hepar	1	1	—	2	2
Cutis	2=20%	8	—	10	10
Labia	2=18%	9	1=9%	10	11
Vulva vagina	—	6	—	6	6
Mamma	11=35%	20	2=6%	29	31
Uterus	38=70%	16	9=16%	45	54
Ovarium	—	2	—	2	2
Parotis	—	5	—	5	5
Ves. fellea	1	1	—	2	2
Ves. urinaria	—	1	—	1	1
Vest. oris	1	—	—	1	1
Dermoidcyste	1	—	—	1	1
Myoma	1	1	—	2	2
Sarcoma	1	9	—	10	10
Zusammen 205					

und bei einem Gesichtscarcinom mit ausgedehnten Metastasen. Wir hatten den Eindruck, daß nicht die Provenienz des Tumors, sondern seine mangelnde Resorption das seltene Hervorkommen der Krebsantikörper im Serum bedingte. Bei Krebsen der inneren Organe (Magen, Duodenum, Leber, Rectum, Uterus, Lunge, etc.) sehen wir in etwa 2/3 der Fälle im Serum spezifische Krebsantikörper. Bei Mammakrebsen ist der positive Ausfall der Krebs-

reaktion etwas seltener, weniger als in der Hälfte. Dies entspricht dem Befund, daß Mammakrebse relativ selten die Krebssubstanz enthalten. Vielleicht wird sich der Prozentsatz erhöhen lassen durch die Anwendung homologer Krebse. Die Tabelle ergibt gleichzeitig, daß ein geringer Teil der Krebssera Wassermann-positiv ist. Wir werden später noch darauf zurückkommen, hier sei nur betont, daß solche Fälle mit positiver Wassermannschen Reaktion diagnostisch für Krebs nicht verwertbar sind.

Es fragt sich, worauf das Fehlen der Reaktionen beruhen könnte. Es könnte sein, daß die verschiedenen Krebse besonderen serologischen Typen gehören und daß wir durch die Anwendung einer größeren Anzahl von Antigenen selbst in unseren nicht-reagierenden Krebsseren Antikörper nachweisen können. Unsere Erfahrungen sprechen bis jetzt für serologische Einheit der Krebse; trotzdem möchten wir diese Möglichkeit keineswegs ausschließen und die Entscheidung weiteren Untersuchungen überlassen. Es könnte sein, daß gerade die Hautkrebse bzw. verhornte Neubildungen besondere Antigene enthalten und dergl. Jedenfalls das Fehlen der Antikörper im Serum der Krebskranken könnte darauf beruhen, daß der betreffende Krebs keine bzw. andere Antigene enthält, als die von uns gebrauchten Extrakte. Andererseits muß auch damit gerechnet werden, daß auch die Fähigkeit Immunitätsreaktionen gegenüber Krebs zu entfalten, bei verschiedenen Menschen ungleich ist. Wir hatten in der Tat den Eindruck, daß einerseits bei Ausbreitung des Krebses, also einer vermehrten Resorption, die Reaktion positiv werden kann, andererseits bei stark kachektischen Patienten gleichsam zu einem Zusammenbruch der Immunitätskräfte kommt. Jedenfalls ist es dringend notwendig, nach Zusammenhängen zwischen dem klinischen Verlauf und dem Auftreten bzw. Schwund der Reaktion zu fahnden. Ermöglichen die Krebsantikörper eine Frühdiagnose des Krebses? Ist ein hoher Antikörperspiegel bezeugend für Immunitätsvorgänge und bedeutet er eine relativ gute Prognose? Bedeutet ein Schwund der Antikörper das Zusammenbrechen der Immunitätskräfte und ist prognostisch ungünstig? Verschwindet die Reaktion nach einer radikalen Operation und ist ihr Wiederauftreten ein Zeichen des Recidivs? Mit anderen Worten wird man diese Reaktion zur Richtschnur bei der Behandlung benutzen können ähnlich wie die W. R. bei Lues?

Diese Fragen können nur auf Grund einer längeren Beobachtung beantwortet werden. Wir haben eine derartige Bearbeitung unseres Materials im Gange. Der klinische Bericht über die Wertung der von Hirszfeld und Halber ausgearbeiteten Reaktion von Seiten von Floksztrumpf und Kołodziejcki erfolgt später.

Kontrolluntersuchungen.

Wir haben Kontrollen auf zweifache Weise angesetzt. Zunächst bei einem jeden Versuch wurden stets mehrere Wassermannpositive und negative Sera mituntersucht. Daneben haben wir hunderte von Seren unserer Wassermannstation mit unseren Krebsantigenen in besonderen Versuchsreihen geprüft und zur Kontrolle einige Krebssera mitlaufen lassen. Unser Kontrollmaterial wiedergibt folgende Tabelle.

TABELLE

Zusammenstellung der Kontrolluntersuchungen mit Krebsantigenen.

Ausfall der Luesreaktion		Ausfall der Krebsreaktion						Zusammen
		Positiv		Zweifelhaft		Negativ		
		Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
W. R. — ¹⁾	K. — ²⁾	38	4·8	27	3·5	718	91·7	783
W. R. —	K. +	15	12·6	20	16·6	85	70·8	120
W. R. +	K. +	180	84·1	13	6	21	9·8	214
W. R. ±		3	10·4	12	43	13	46·4	28
Summe								1144

Die Tabelle ergibt, daß Wassermannpositive Fälle in über 80% mit Krebsantigenen reagieren. Bei Wassermannnegativen Seren müssen wir unterscheiden, ob die Fällungsreaktion noch positiv ist. Da die Fällungsreaktionen recht spezifisch sind, so muß man alle Sera mit negativem Wassermann und positiver

¹⁾ W. R. = Wassermannsche Reaktion.

²⁾ K. = Kahnsche oder Cytocholreaktion.

Kahn- oder Cytocholreaktion, als luesverdächtig bezeichnen. Sera, die sowohl nach Wassermann, wie nach Kahn bzw. Cytochol negativ sind, gaben eine positive Krebsreaktion in 5·0% der Fälle. Soweit unsere klinischen Angaben lauten, handelte es sich in der Mehrzahl der Fälle um behandelte Luetiker. Doch war auch darunter ein Epilepsiefall, eine Syringomyelie, ein diffuses Ekzem, 2 Morbus Basedowii etc. Wir sind nicht imstande zu sagen, ob diese positiven Kontrollfälle unerkannte Luetiker oder unerkannte Tumorträger sind, oder ob es noch besondere Krankheitszustände gibt, bei denen die Krebsreaktion wenigstens bei der Benutzung unserer Antigene positiv sein kann. Es wäre notwendig das Kontrollmaterial, namentlich aus den inneren Kliniken, zu benutzen.

Wir sprechen absichtlich von Antikörpern gegen das Krebsgewebe und nicht von einer klinischen Krebsdiagnostik, da die Feststellung, bei welchen Krankheiten identische oder verwandte Antigene ebenfalls kreisen und die gleichen Antikörper erzeugen, erst nach mehreren Jahren möglich sein wird.

Bekanntlich gibt es eine Reihe von pathologischen und physiologischen Zuständen, die mit einer Labilisierung der Globuline einhergehen, bei welchen auch die Blutkörperchensenkung beschleunigt ist, das Serum sich bei der Erhitzung trübt etc. Die Sera bei solchen Patienten geben häufig, namentlich im aktiven Zustande eine unspezifische Fällung mit Lipoiden und die W. R. muß hier besonders vorsichtig gewertet werden. Sachs hat angenommen, daß die meisten bis jetzt beschriebenen Krebsreaktionen einfach auf Labilitätsreaktionen beruhen. Diese Vorstellung ist aber trotz der interessanten Beweisführungen keineswegs zwingend und wurde namentlich von v. Dungern, der über positive Komplementbindungsreaktionen bei Krebs berichtete, nie geteilt. Es liegt in der Tat keine Veranlassung vor, um die antigene Fähigkeit körpereigenen Gewebes zu leugnen. Es gelingt ja bekanntlich mit Leichtigkeit, Spermaantikörper hervorzurufen. Man könnte allerdings dem entgegenhalten, daß das Hodengewebe ein besonders differenziertes Gewebe darstellt, und daß man bei Injektion der Linse und des Gehirnes (die organspezifisch differenziert sind) gerade eine relative antigene Minderwertigkeit des artgleichen Gewebes beobachtet. Wir glauben nicht, daß dieses Argument eine schwerwiegende Bedeutung gegen die spezifische

Auffassung der Reaktionen beanspruchen darf. Man könnte sich vorstellen, daß die normalen Lipide, die in der Art allgemein verbreitet sind, nur über geringere antigene Fähigkeit verfügen. Dieses Argument könnte gegen die Autoantikörpertheorie der W. R. ins Feld geführt werden. Das Krebsgewebe ist aber einerseits serologisch spezifisch, andererseits physiologisch innerhalb der Art nicht verbreitet. Es liegt daher a priori keine Veranlassung vor, die Möglichkeit der Autoantikörper bei Krebskranken zu leugnen.

Trotzdem somit die theoretischen Überlegungen für die serologische Spezifität der Krebsantikörper sprachen, mußte man prüfen, ob bei solchen Zuständen, wo die Labilitätsreaktionen positiv ausfallen, auch eine Reaktion mit den Krebsantigenen nachgewiesen werden kann. Wir haben daher Sera von schwer Tuberkulösen und Schwangeren einer Prüfung unterzogen.

Unsere Erfahrungen zeigen, daß Sera von schwer Tuberkulösen (80 Fälle) nicht reagieren. Dagegen zeigten die Versuche, daß Sera der Schwangeren häufig eine starke positive Reaktion aufweisen. Wir haben meistens sowohl das retroplacentare Blut und das aus der Kubitalvene, sowie das Nabelschnurblut untersucht. Das Nabelschnurblut, wie wir vorwegnehmen möchten, reagierte nicht, so daß ein Übergang etwaiger Antikörper durch die Placenta nicht vorkommt. Wir fanden aber bei Schwangeren starke Antikörper und zwar meistens sowohl im Kubital- wie im Retroplacentarblut, manchmal aber nur in einem oder im anderen. Wir möchten nicht alle Protokolle mitteilen, sondern nur einige typische Tabellen, (Protokoll XVIII) sowie eine allgemeine Zusammenstellung, die das Gesagte illustriert.

Zusammen auf 78 Sera aus der Kubitalvene waren positiv 46, also 59% und auf 68 Sera von Retroplacentarblut waren 41 positiv = 63%.

Die Reaktion kann bereits in den ersten Monaten der Schwangerschaft nachgewiesen werden. Wann sie zuerst auftritt, können wir nicht sagen. Wir fanden sie im zweiten Monate auf 4 untersuchte Sera 3 mal, in dritten Monate auf 3 Fälle 2 mal, im vierten und im fünften Monate je einmal positiv.

Wir sind nicht imstande zu sagen, wie diese manchmal beobachtete Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Reaktion bei Kubital- und Retroplacentarblut zu erklären ist, ob durch manchmal

PROTOKOLL XVIII.

Nr.	Blutart	Krebsextrakte				Wassermn.	
		0·2	0·1	0·05	0·025	Herz	Kon- trolle
100	Kubitalvenenbl.	+++	++	±	—	—	—
	Retroplacentarbl.	+++	+++	+	—	—	—
	Nabelschnurbl.	—	—	—	—	—	—
77	Kubitalvenenbl.	±	—	—	—	—	—
	Retroplacentarbl.	+++	+++	+	—	—	—
	Nabelschnurbl.	—	—	—	—	—	—
42	Kubitalvenenbl.	+++	++	+	±	—	—
	Retroplacentarbl.	±	—	—	—	—	—
	Nabelschnurbl.	—	—	—	—	—	—
59	Kubitalvenenbl.	—	—	—	—	—	—
	Retroplacentarbl.	+++	++	+	±	—	—
	Nabelschnurbl.	—	—	—	—	—	—
38	Kubitalvenenbl.	+++	++	+	±	—	—
	Retroplacentarbl.	—	—	—	—	—	—
	Nabelschnurbl.	—	—	—	—	—	—

Zusammenstellung.

Venöses Blut positiv, retroplacentares Blut positiv	25	Fälle
„ „ „ „ „ negativ	3	„
„ „ negativ „ „ positiv	7	„
„ „ „ „ „ negativ	10	„
„ „ untersucht allein positiv	18	„
„ „ „ „ negativ	15	„
Retroplacentares Blut untersucht allein positiv	9	„
„ „ „ „ negativ	11	„
Zusammen		98 Fälle

auftretende lokale Bildung von Antikörpern, oder ob eine sekundäre Abnahme oder Hemmung, wie wir z. B. manchmal bei den Isoantikörpern beobachten und dergl. Dieses Problem muß durch speziell darauf gerichtete Untersuchungen gelöst werden.

Dagegen möchten wir schon jetzt die Frage kurz berichten, worauf das Wesen der Reaktion beruht. Die Spezifität der Krebsantikörper und des Krebsantigens, die Thermostabilität der bei

Krebskranken und Schwangeren vorhandener Antikörper, macht es unwahrscheinlich, unsere Reaktion als Ausdruck einer Labilität aufzufassen. Es liegt die Annahme näher, daß während der Schwangerschaft Substanzen auftreten, die als Antigene fungieren. Wir wissen in der Tat, daß während der Schwangerschaft eine Bildung von verschiedensten Stoffen, Hormonen etc. stattfindet. Die Tatsache, daß unter Berücksichtigung des Haptenbegriffes wir den Bereich der Antigene erweitern können, die Befunde von Witebsky, daß manche Organe mit wichtigen Funktionen während der Schwangerschaft, wie die Schilddrüse, oder Gehirn, oder Nebenniere organspezifische Antigene enthalten, weist auf unerforschte Gebiete und Erklärungsmöglichkeiten hin. Wir halten somit nicht für ausgeschlossen, daß die Reaktionsfähigkeit der Schwangerensera gegenüber dem Krebsgewebe auf irgendwelche im Blut der Schwangeren kreisenden hormonalen Substanzen von Haptencharakter beruht, am wahrscheinlichsten ist es uns jedoch, daß die identische Reaktionsfähigkeit bei Krebskranken und Schwangeren auf ähnliche oder identische Antigene hinweist und daß diese Antigene in der Frucht gesucht werden müssen. Unsere Bestrebungen, das Krebsantigen im Embryonalgewebe zu finden, mißlang bis jetzt. Der alkoholische Extrakt aus untersuchten Abrasio reagierte mit Krebsseren nicht, ebensowenig die Extrakte von Hühner-, Ratten- oder Meerschweinchenembryonen. Es könnte aber sein, daß wir gerade die wachsenden Fruchtzellen zufällig noch nicht extrahiert haben, und die mangelnde Reaktionsfähigkeit der Krebssera mit Extrakten von tierischen Embryonen könnte durch artspezifische Unterschiede erklärt werden. Trotzdem uns somit nicht gelungen ist das Krebsantigen im Embryonalgewebe nachzuweisen, halten wir vorderhand für das Wahrscheinlichste, daß während des physiologischen oder des pathologischen Wachstums, also sowohl bei der Frucht, wie bei dem Krebs identische Antigene auftreten. Während also Sachs die Tatsache der Mitreagierbarkeit der Sera von Schwangeren durch eine Labilitätsreaktion zu erklären geneigt ist, halten wir für wahrscheinlich, daß das Gemeinsame eben eine Wachstumsreaktion ist. Wie erwähnt, sind wir den experimentellen Beweis dieser Auffassung noch schuldig, da wir das Krebsantigen in der Frucht bis jetzt nicht finden konnten. Falls aber dieser Nachweis gelingt, so würde er zeigen, daß das Krebs-

antigen nicht etwa ein Ausdruck einer krebsigen Degeneration ist, sondern daß es sich um Substanzen handelt, die das abnorme oder das schnelle Wachstum anzeigen und vielleicht auch dieses Wachstum causal bedingen (Necrohormone Caspari und dergl.?)

Diese Auffassung gibt Winkezeige in bezug auf den Chemismus des Wachstums, weist gleichzeitig hin, bei welchen pathologischen Zuständen die Krebsreaktion gesucht werden muß. Denn es wäre durchaus möglich, daß bei Regenerations- und Wachstumsvorgängen, bei Zuständen, bei welchen die produktiven Kräfte des Organismus angespornt werden, besondere Substanzen auftreten, die Gegenreaktionen im Organismus auslösen. Der Krebs ist unter Umständen nur ein dramatisches Zwischenspiel beim Verlauf produktiver Vorgänge im Organismus, die serologisch erfaßt werden können. Daher glauben wir, daß die Kenntnis des Wesens der Komplementbindungsreaktion wird uns eher zu dem ersehnten Ziele der Krebsdiagnostik führen, als eine einfache Empirie, die die Wachstumsvorgänge beim Krebs als einen besonderen, bei anderen Krankheiten nicht vorkommenden Zustand auffaßt.

Ausgeführt mit Unterstützung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, aus der Stiftung von weil. Paul Tyszkowski.

...

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES
ET DES LETTRES
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES
DERNIERS MÉMOIRES PARUS

I.

- I. Turowska.** Etudes sur les conditions vitales des bactéries ferrugineuses Oct. — Déc. 1929
- M. Thomaschewski.** Pollenanalytische Untersuchung der Moore Stangenwalde und Saskoschin im Gebiet der Freien Stadt Danzig (Planches 39—42) Oct. — Déc. 1929
- T. Wiśniewski.** Les associations des Muscinées (Bryophyta) épiphytes de la Pologne, en particulier celles de la forêt vierge de Białowieża (Planches 43—52). Oct. — Déc. 1929
- Wl. Szafer.** The mountain element in the flora of the Polish plain Oct. — Déc. 1929
- F. Górski.** Sur la précision de la méthode de la numération des bulles dans les recherches de photosynthèse. Janv.—Juin 1930

II.

- L. Ejsmont.** Über zwei Schistosomatidengattungen der Vögel Oct. — Déc. 1929
- B. Dybowski.** Zur Kenntnis der Sibirischen Seehunde (Planches 22—24) Oct. — Déc. 1929
- Z. Szantroch.** L'histogénèse des ganglions nerveux du coeur (Planches 25—29) Oct. — Déc. 1929
- Z. Grodziński.** Über die Lymphherzen von fossilen Reptilien. Oct. — Déc. 1929
- B. Dybowski.** Die Polychaeten des Baikalsees Oct. — Déc. 1929
- S. Skowron.** Recherches sur la spermatogénèse in vitro (I-ère Partie) Oct. — Déc. 1929
- A. J. Klisiecki.** On the blood flow and the blood pressure in arteries Janv.—Fév. 1930
- E. Godlewski et I. Latinić.** La croissance ontogénétique et la croissance régénérative chez l'Axolotl Janv.—Fév. 1930
- J. Talko-Hrynciewicz.** Contribution à la craniologie des peuples actuels ou disparus de l'Asie Centrale (Mongolo-Khalchases, Bouriates, métis d'Ourga et peuples ensevelis dans des caisses formées par un assemblage de pièces de bois) (Planches 1—4) Janv.—Fév. 1930
- T. Marchlewski.** Genetic Studies on the domestic Dog (Planche 5) Janv.—Fév. 1930

TABLE DES MATIÈRES.

Mars—Avril 1930.

	Page.
K. KOSTANECKI. Le trajet des caecums de la grande Outarde (Otis tarda) (Planche 6)	147
F. ROGOZIŃSKI et M. STARZEWSKA. Sur le rachitisme expérimental. I. L'influence des rayons ultraviolets sur le métabolisme minéral et sur la composition des os (Planche 7).	157
L. MONNÉ. Vergleichende Untersuchungen über den Golgi-Apparat und das Vacuome in Soma- und Geschlechtszellen einiger Gastropoden (Helix, Paludina, Cerithium) (Planches 8—11)	179
L. HIRSZFELD und W. HALBER. Zur Frage der serologischen Einheit der Krebse	239
Z. GRODZIŃSKI. Die Blutgefäßentwicklung in der vorderen Extremität bei <i>Amblystoma mexicanum</i> Cope (Planche 12—15).	247
Z. ZAKRZEWSKI. Über die Produktion von Wachstumsfaktoren durch Sarkomzellen in vitro	267
L. HIRSZFELD und W. HALBER. Über Komplementbindungsreaktionen mit alkoholischen Krebsextrakten bei Krebskranken und Schwangeren.	283

Le «*Bulletin International*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries. La première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) se divise en deux sous-séries; l'une d'elles «I» contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre «II» est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologiques sur l'homme et les animaux (Anatomie, Biologie générale, Embryologie, Histologie, Pathologie, Pharmacologie, Physiologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

Depuis 1928, le «*Bulletin International*» ne contient que les communications dont l'étendue ne dépasse pas une limite strictement définie; les mémoires de plus vaste envergure sont réunis en un Recueil différent, les «*Mémoires*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles). Les *Mémoires* sont également publiés en deux séries: A et B. Chaque mémoire publié dans les *Mémoires* se vend séparément.

Les abonnements relatifs au «*Bulletin International*» sont annuels et partent de Janvier. Les livraisons de ce Recueil se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à l'Académie ou à la Librairie „Gebethner et Wolff“ Rynek Gł., Cracovie (Pologne).