Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Bern

Herausgeber: Naturforschende Gesellschaft Bern

Band: - (1887)

Heft: 1169-1194

Artikel: Physiologische und mikrochemische Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen in den peripheren Ganglien

Autor: Kotlarewsky, Anna

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-319000

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Anna Kotlarewsky.

Physiologische und mikrochemische Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen in den peripheren Ganglien.

Vorgetragen in der Sitzung vom 6. November 1886.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist eine Fortsetzung der Untersuchungen über die Nervenzellen der peripheren Ganglien, welche auf Anregung von Herrn Prof. Dr. *Flesch* von Frl. *Koneff* *) ausgeführt und publizirt worden sind. Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen sich in Folgendem zusammenfassen.

In den Spinalganglien und dem Ganglion *Gasseri* der Säugethiere existiren nach ihrer Struktur und mikrochemischen Beschaffenheit verschiedene Zellformen. Diese Verschiedenheit kann nicht auf einer postmortalen Veränderung beruhen, da sie auch am absolut frischen Material und am unmittelbar nach dem Tode in Osmiumsäure fixirten Objekten ganz deutlich zu sehen ist.

Weiter haben die Zählungen an verschiedenen Objekten ergeben, dass das Mengenverhältniss der Zellformen an verschiedenen Orten nicht von der Zeit, welche seit dem Tode verflossen ist, beeinflusst wird. Dagegen scheint es, dass das Mengenverhältniss sich im Laufe der Entwickelung ändert. Es ist wahrscheinlich, dass beim

*) *Flesch*, Tageblätter der Naturforscher-Versammlung zu Magdeburg, Seite 196, und Strassburg, Seite 412.

Flesch und *Koneff*, Bemerkungen über die Struktur der Ganglienzellen. Neurologisches Centralblatt, 1886, 1. April.

Koneff, Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen in den peripheren Ganglien. Mittheilung in der Sitzung der Naturforschenden Gesellschaft vom 22. Mai 1886 durch Herrn Prof. *Flesch*. Auch Berner Inaugural-Dissertation.

Embryo dunkel erscheinende Zellen, dass ebenso die Zwischenform der entwickelten Thiere ein indifferentes Entwickelungsstadium der extremen Zellformen darstellen. Von den letzteren sind die grossen hellen als die in der Entwickelung am meisten vorgeschrittenen anzusehen; die Beschaffenheit des Kernes eines Theiles der dunklen Zellen weist darauf hin, dass die dunkelste Form als von Altersveränderungen betroffen aufzufassen ist.

Die weitere Aufgabe ist es, der physiologischen Bedeutung dieser Verschiedenheiten näher zu treten. Zu diesem Zwecke soll in erster Linie versucht werden, Beziehungen des ungleichen Tinctionsvermögens zu den vitalen Eigenschaften der Zellen zu finden.

Es sollte ferner versucht werden, die gegenseitige Beziehung der extremen Zellformen, zwischen denen Mittelformen nachgewiesen waren, zu ermitteln. Die *Koneff*'schen Untersuchungen hatten gezeigt, dass die verschiedene Tinctionsfähigkeit sowohl durch Wachsthums- und Involutions-Vorgänge es als auch durch funktionelle Veränderungen ihre Begründung finden könne. Der Nachweis der wirksamen Einflüsse ist bis jetzt noch nicht erbracht: um ihn zu führen, muss vor Allem die Natur der Einflüsse, auf welchen die ungleiche Tinctionsfähigkeit beruht, beziehungsweise die Bedeutung und Vertheilung der sich ungleich färbenden Substanzen ermittelt werden.

In beiden Hinsichten glauben wir, durch die folgenden Untersuchungen wesentlich vorwärts gekommen zu sein.

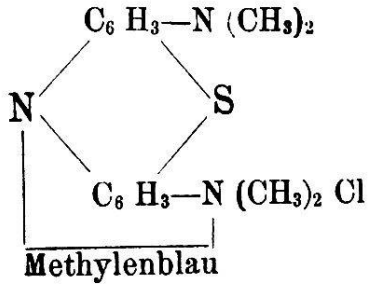
I. Untersuchungen an der lebenden und überlebenden Zelle.

Einen Weg zur Untersuchung der chemischen Unterschiede der lebenden Zellen schienen uns die Unter-

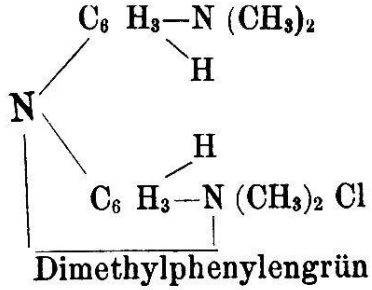
suchungen von *Ehrlich* *) anzudeuten. Bekanntlich hat *Ehrlich* in einer vor Kurzem erschienenen Abhandlung den Nachweis erbracht, dass dem lebenden Körper einverleibtes Methylenblau sich unter günstigen Verhältnissen in der lebenden Nervensubstanz abscheide. Er hat gezeigt, dass diese Abscheidung in bestimmter Beziehung zu der chemischen Struktur jenes Farbstoffes einerseits stehe, dass sie anderseits in gewissen physiologischen Eigenschaften der betheiligten Gewebselemente unter gegebenen äusseren Verhältnissen begründet sei. Dass die chemische Struktur des Farbstoffes eine Bedeutung habe, ging daraus hervor, dass dem Methylenblau verwandte Stoffe (Thionin, Dimethylthionin, Methylenazur) in analoger Weise wirksam waren, Verbindungen also, in welchen zwei bestimmte Affinitäten durch eine zweiwerthige schwefelhaltige Gruppe oder bloss durch Schwefel in Bindung gesetzt waren. Wo die betreffenden Affinitäten, wie im *Bindschedler*'schen Dimethylphenylengrün, durch einwerthige Wasserstoffatome gesättigt waren, traten andere Reactionen ein. *Ehrlich* hat daraus geschlossen, dass die Nervenfärbung durch den Eintritt des Schwefels bedingt sei. **) *Ehrlich*'s

*) *Ehrlich, P.*, Ueber die Methylenblaureaction der lebenden Nervensubstanz. Deutsche medicinische Wochenschrift, Nr. 4, 1886 (Separatabdruck).

**) Ob hier die Anwesenheit von Schwefel oder die Art der Bindung der beiden Affinitäten durch ein zweiwerthiges Radical für die Reaction bedingend



Methylenblau



Dimethylphenylengrün

sei, ist nach Prof. *Flesch* noch festzustellen.

Flesch, Referat über die Arbeit von *Ehrlich*. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, III. Band.

Untersuchungen haben weiter ergeben, dass für das Zustandekommen der Methylenblaureaction alkalische Reaction und wahrscheinlich die Anwesenheit des freien Sauerstoffes massgebend sei. Die Bedeutung der alkalischen Reaction erschloss er daraus, dass einige dem Methylenblau verwandte Farbstoffe, namentlich Thionin, Dimethylthionin und Methylenazur, in der lebenden Nervensubstanz in dem Farbenton deponirt wurden, welchen sie bei alkalischer Reaction annehmen. Die Nothwendigkeit der Anwesenheit des freien Sauerstoffes schien daraus wahrscheinlich zu werden, dass die Färbung der Geschmacksnervenenden des Frosches besonders dann rasch erfolgte, wenn durch künstliches Aufsperren des Maules die Zunge der atmosphärischen Luft ausgesetzt wurde, dieselbe dagegen häufig ausblieb, wenn die Zungenoberfläche andauernd dem Gaumen angelagert blieb.

Da nun *Ehrlich* weiter angiebt, dass auch an den Nervenzellen zuweilen die Färbung beobachtet wird, so trat uns die Frage entgegen, ob vielleicht die eine der uns beschäftigenden Zellformen ausschliesslich oder in höherem Maasse als die andere zur Aufnahme des Farbstoffes geneigt sei. Nach den von *Ehrlich* ermittelten Bedingungen für das Zustandekommen der Reaction konnte, falls beide Zellformen sich verschieden verhielten auf eine ungleiche Reaction derselben, beziehungsweise alkalische Reaction der einen Form, ferner möglicherweise auf grösseren Sauerstoffreichthum ihrer Nachbarschaft geschlossen werden. Die Durchführung der Untersuchung nach dem aus *Ehrlich*'s Mittheilung hervorgehenden Plane konnten wir leider nicht versuchen. Ein Theil der von *Ehrlich* benutzten Farbstoffe war uns nicht zugänglich, so dass wir auf die Anwendung des Methylenblau beschränkt waren. Da aber letzteres eine eigenartige Färbung bei alkalischer

Reaction nicht annimmt, su mussten wir versuchen, die Alkalescenz etwa betheiligter Zellen durch direkte Tinction in geeigneten Farbstoffen zu erproben.

A. Versuche mit Methylenblau. Die Versuche durch Einverleibung des Methylenblau wurden in der Weise angestellt, dass eine Lösung des Farbstoffes in 0,7% Kochsalzlösung in die Lymphsäcke des Rückens oder in die Bauchhöhle eines Frosches injicirt wurde. Einige Zeit nach der Injection wurden die Ganglien möglichst schnell auspräparirt und in Kochsalz oder Glycerin untersucht. Es war nicht ganz gleichgültig, welcher Farbstoff verwendet wurde; das von uns zuerst benutzte, im Herbst 1882 bei Hrn. *König* in Berlin bezogene Präparat wurde weit besser vertragen, als ein neuerdings aus derselben Quelle erhaltenes. Da *Ehrlich* sich der direkten Infusion in die Bauchvene bediente, so können die von uns ermittelten Zeiten für das Zustandekommen der Reaction möglicherweise von den auf dem Wege der Gefässinfusion zu erlangenden differiren.

Das Resultat unserer Versuche war im Wesentlichen die Thatsache, dass schon nach 1 bis 2 Stunden eine Färbung der Zellen vorhanden war, so zwar, dass die kleinen Zellen intensiver gefärbt waren, als die grossen. Es besitzen also die kleinen chromophilen Zellen eine grössere Neigung zur Tinction im lebenden Zustande, als die grösseren chromophoben.

Nach den von *Ehrlich* ermittelten Angaben für die Nerverfasern hätte man also anzunehmen, dass die sich färbenden Zellen alkalisch reagiren. Bei dem ausgesprochenen Gegensatze beider Zellformen mussten wir nun zunächst versuchen, eine saure oder wenigstens neutrale Reaction der chromophoben Zellen zu statuiren. Dies zu ermitteln war der Zweck der folgenden Versuchsreihe.

B. Injection von Alizarinnatriumlösung beim lebenden Thiere. Mittheilungen von *Lieberkühn* *) haben gezeigt, dass an dem Gehirne nach Einverleibung einer 5 % Lösung von Alizarinnatrium in die Vena jugularis eine gelbe Färbung auftritt, wie sie der verwendete Farbstoff bei Behandlung mit Säuren anzunehmen pflegt. *Lieberkühn* hat weiter festgestellt, dass Zusatz von Alkalien die gelb gefärbten Theile roth tingirt, dass somit in der That eine Säurereaction vorliegt. Anknüpfend an diese Versuche haben wir in gleicher Weise, wie nach Einverleibung von Methylenblau, an mit Alizarinnatrium injicirten Fröschen Spinalganglien untersucht. Das Resultat war ein negatives: es konte nie Gelbfärbung konstatirt werden. Allerdings bietet die Untersuchung Schwierigkeiten wegen des reichlichen gelben Pigmentes in den Nervenzellen. Da aber die alkalisch reagirenden kleineren Zellen keinerlei Färbung, weder rothe noch gelbe, zeigten, so mussten wir annehmen, dass überhaupt auf dem von uns betretenen Wege keine Aufnahme des Farbstoffes am lebenden Thiere stattfindet. Zur Controle wurden möglichst frische Spinalganglien in einer sehr verdünnten Lösung von Alizarinnatrium zerzupft; dieselben zeigten violette Färbung eines Theiles, bei langer Einwirkung aller Zellen Dies würde auf eine alkalische Reaction zu beziehen sein.

C. Versuche über die Reaction der Nervenzellen. Nach dem negativen Resultate der mit Alizarinnatrium angestellten Versuche schien es geboten, auf anderem Wege die etwaige saure Reaction der chromophoben Nervenzellen nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurden

---

*) *Lieberkühn*, Ueber die Einwirkung von Alizarin auf die Gewebe des lebenden Körpers. Marburger Sitzungsberichte, Nr. 3, 1874.

frische Präparate in 0,7 % Kochsalzlösung untersucht, in welcher einige der bekannten Reagentien in so starker Verdünnung gelöst waren, dass die Lösung unter dem Mikroskope farblos erschien. Die verwendeten Farbstoffe waren Phenolphtalein (ein gelblich-weisses krystallinisches Pulver, das sich in Alkalien mit fuchsinrother Farbe löst); Lakmoid (uns von Hrn. Prof. *Perrenoud* zur Verfügung gestellt, Reaction gleich der des Lakmuspapieres); Cyanin (blau, wird durch Säuren entfärbt). Es sind die Versuche mit den zwei ersten Reagentien nicht einwandsfrei, weil bekanntlich die meisten Farbstoffe erst nach vollendetem Absterben der Gewebe die Zellen tingiren, weil ferner freie Kohlensäure für beide nicht zur charakteristischen Säurewirkung ausreicht. Für das Cyanin ist in Versuchen von *Certes* *) der Nachweis erbracht, dass es lebende Infusorien ohne Schädigung zu färben vermag; ausserdem genügt die Gegenwart freier Kohlensäure zur Entfärbung. In allen Fällen lassen sich bei sorgfältiger Beobachtung die Veränderungen der Zellen, welche dem vollständigen Absterben vorangehen, rechtzeitig erkennen; es ist die Lokalisation der Farbe nach dem Absterben (Kernfärbung) eine andere, als während der ersten Zeit der Beobachtung. Beides gibt uns eine Sicherung, dass der Zustand der Zelle, in welchem sie zur Beobachtung kam, den vitalen Verhältnissen möglichst entsprach. Die Versuche ergaben: bei Anwendung ganz schwach alkalischer Phenolphtalein-Lösung diffuse Färbung der Zellen, nirgends Entfärbung, wie es bei saurer Reaction zu erwarten wäre; ebensowenig wird Cyanin-

*) *Certes*, Sur un procédé de coloration des Infusoires et des éléments anatomiques pendant la vie. Zoologischer Anzeiger. 14. Jahrgang 1881, Nr. 73, S. 208, 287

lösung entfärbt. Saure Reaction kann sonach für alle Zellen ausgeschlossen werden. Es scheint sonach, dass die sich durch Methylenblau nicht färbenden Zellen neutral oder ganz schwach alkalisch reagiren müssen. Das Lakmoid, welches allerdings sehr giftig wirkt, zeigt, mit dieser Annahme übereinstimmend, überall blaue Tinction, aber von ungleicher Intensität.

Ueber den zweiten Punkt, die Nothwendigkeit der Annahme, dass die Färbung der Zellen auf die Gegenwart freien Sauerstoffs hindeute, haben wir gleichfalls — leider erfolglos — versucht, auf experimentellem Wege Aufschluss zu erhalten. Die betreffenden Versuche, für deren Ermöglichung wir den Herren Prof. *Nencki* und Dr. *Berlinerblau* verpflichtet sind, gingen von dem Gedanken aus, dass grösserer Sauerstoffreichthum eines Gewebetheiles vielleicht durch schnellere Oxydation von Indigoweiss zu Indigoblau nachgewiesen werden könne. Zu diesem Zwecke wurden frische Präparate, an Fäden befestigt, unter Quecksilberabschluss in Indigoweisslösung gebracht, deren Herstellung Hr. Dr. *Berlinerblau* freundlichst übernommen hatte. Leider zeigte sich, dass, in der angewendeten Form wenigstens, eine Durchtränkung des Präparates mit Indigoweiss nicht erfolgte. Wir müssen uns daher auf folgende Betrachtungen beschränken, die allerdings nur zulässig sind unter der Voraussetzung, dass der Stoffwechsel in den Ganglien ähnlichen Bedingungen unterliegt, wie in dem centralen Nervensystem.

Ehrlich *) theilt die Parenchyme des Organismus in drei Gruppen, nämlich: 1) in solche von hoher Sauerstoffsättigung, in denen Indophenolblau erhalten bleibt;

---

*) *Ehrlich*, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin, 1885.

2) in solche, die zwar Indophenol-, nicht aber Alizarinblau reduziren und 3) in Stellen der höchsten Sauerstoffavidität, die Alizarinweiss bilden. Die graue Substanz des Nervensystemes muss zu der ersten, bestversorgten Gruppe gerechnet werden. Die Tinctionsfähigkeit der Nervenzellen für das im lebenden Körper zirkulirende Methylenblau würde sonach in der hohen Sauerstoffsättigung der nervösen Centren eine begünstigende Grundlage finden. Bemerkenswerth erscheint uns in diesem Sinne, dass die Nervenzellen früher die Reaction zeigen, als die Nervenfasern *). Im Weiteren legen die Betrachtungen *Ehrlich's* darauf Gewicht, dass gerade diese Organe, für welche eine maximale Sauerstoffsättigung nachgewiesen ist, auch den Sitz des intensivsten Lebensprozesses darstellen. Dem entsprechend finden wir die Thatsache, die mit den Experimenten *Ehrlich's* im Einklange steht, dass die sich färbenden Zellen zugleich ein weit stärkeres Reductionsvermögen für Ueberosmiumsäure**) — wir können hier zufügen, wahrscheinlich auch für Chromsäure — zeigen, als die chromophilen Zellen.

Als Resultat der vorstehenden Versuche und Betrachtungen glauben wir feststellen zu können, dass die chromophilen und chromophoben Zellen der Spinalganglien schon im lebenden Zustande, sowohl in ihrem chemischen Verhalten, als in der Intensität ihres Stoffwechsels wesentlich differiren. Es ist im hohen Masse wahrscheinlich, dass den chromophilen Zellen eine stärkere Alkalescenz und grössere Sauerstoffsättigung zukommt, als den chromo-

---

*) Die ausführlichen bezüglichen Versuche werden an einer anderen Stelle veröffentlicht.

**) *Koneff*, Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen in den peripheren Ganglien. Seite 29.

phoben; letztere zeigen ferner geringeres Reductionsvermögen, als die ersteren.

II. Mikrochemische Untersuchungen an den erhärteten Nervenzellen.

Bekanntlich sehen wir an unseren gewöhnlichen Tinctionspräparaten nicht ein Produkt der Einwirkung chemischer Agentien auf die lebende Zelle, sondern das Resultat komplizirter Gerinnungsvorgänge der Zellsubstanz durch den Einfluss der Härtungsmittel und der nachfolgenden Einwirkung der Färbemittel auf jene Gerinnungsprodukte. Färbungen lebender Substanz gelingen überhaupt nur in Ausnahmsfällen und selbst wenn sie gelingen, ergeben sie ein ganz anderes Bild, als die Tinction des gehärteten Organes mittelst des nämlichen Farbstoffes. Es ist ferner bekannt, dass die Art der Härtung von wesentlichem Einfluss auf das spätere Verhalten der Gewebe gegenüber Farbstoffen ist. Es würde zu weit führen, wenn wir auf die zahllosen Modifikationen der Härtungs- und Tinctionsmethoden, die zur Erlangung bestimmter Bilder empfohlen werden, eingehen wollten.

Um wirklich brauchbare Schlüsse auf die Beziehungen des jeweiligen mikroskopischen Bildes eines Objektes zu dessen Constitution im lebenden Zustande zu erhalten, müsste man in allen Fällen so vorgehen, wie es in musterhafter Weise *Auerbach* *), allerdings in einer Zeit, in welcher die Zahl der verwendbaren Reagentien noch eine sehr kleine war, für einige Gewebe versucht hat; man müsste am absolut frischen Objekte alle Veränderungen, von der Einwirkung des ersten Reagenz an, direkt unter

*) *Auerbach*, Organologische Studien. Breslau bei Morgenstern. 1. Heft.

dem Mikroskope kontroliren; aus technischen Gründen wird dies in den meisten Fällen unmöglich sein. Selbst wenn wir in der Voraussetzung, dass deren Gewebe sich genau verhielten wie bei Warmblütern, solche Versuche an durchsichtigen Thieren *) anstellen wollten, so würde mit dem ersten Eintritte der Gerinnung die Trübung des Präparates der nöthigen Anwendung der stärkeren Vergrösserung ein unüberwindliches Hinderniss bereiten.

An Stelle der direkten Beobachtung muss daher die Reflexion auf Grund der Vergleiche des in den einzelnen Stadien der Präparation nachweisbaren Befundes und des Vergleiches der verschiedenen Befunde nach Einwirkung, in ihrem Wesen bekannter, verschiedenartiger Agentien treten. Wir können z. B. die Wirkungsweise der Härtungsmittel so verfolgen, dass wir deren chemischen Eigenschaften variiren lassen. Wir können ferner die Einwirkung verwandter Mittel auf ein und dasselbe Gewebe in dessen lebendem Zustande und in verschiedenen Stadien der Härtung mittelst differenter Agention prüfen. Wir haben uns auf diese beiden Variationen der Untersuchungsmethoden in den folgenden Versuchen beschränkt. Dass die möglichen Variationen zahlreicher sind und dass wichtige Rückschlüsse auf die Constitution der lebenden Gewebe auch auf anderem Wege erlangt werden können, soll dabei ausdrücklich betont werden. Beispielsweise können wir den Einfluss der Spannungsverhältnisse eines Gewebes auf dessen Verhalten gegen Tinctionsmittel heranziehen, wie ihn Dr. *Flesch* **) am hyalinen Knorpel kon-

*) Ein geeignetes Objekt dürfte z. B. die von *Weissmann* untersuchte Leptodora hyalina abgeben.

**) *Flesch*, Bemerkungen zur Kritik der Tinctions-Präparate. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Band II.

Flesch, Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. Würzburg 1880. A. Stuber's Verlag.

trolirt hat. Ich selbst habe Versuche gemacht, den Einfluss eines Reagenz auf die Nervenzellen bei Variation der Temperatur des Präparates zu prüfen. Es bedürfen indessen derartige Versuche einer speziellen Durcharbeitung, welche ich in der mir verfügbaren Zeit nicht auf eine grössere Zahl von Fragen ausdehnen konnte.

Die gewöhnlichen, zur Untersuchung des Nervensystemes verwendeten *Härtungsmittel* sind Lösungen gewisser Säuren oder saurer Salze. Die meisten derselben pflegen in der Form, in welcher sie gewöhnlich zur Anwendung kommen ausser der Coagulation der Albuminate und den sonstigen, in den absterbenden Zellen vorgehenden Veränderungen durch die Bildung von Niederschlägen (Reductionsprodukten der Metalle) Nebenwirkungen zu zeigen, welche die weitere mikroskopische Untersuchung erschweren. *) Die Anwendung der Pikrinsäure bietet in dieser Hinsicht einen Vortheil, hat aber mit den Säuren Eines gemeinsam, dass nämlich das von Säurebildung begleitete Absterben der Zellsubstanz in einem Medium von ungleicher Reaction erfolgt. Es darf aber die Pikrinsäure in ihrer Wirkung überhaupt nicht zu den Säuren gerechnet werden. Ihre Reaction ist neutral; die Conservirung der Präparate ist jedenfalls eine bessere, als nach Einwirkung aller anderen Säuren und selbst der sauren Salze, nach welchen stets Schrumpfungserschei-

---

*) Für die Chromsäure und deren Salze kann durch einen von *H. Virchow* eingeführten Kunstgriff dieser Nachtheil beseitigt werden. Näheres darüber enthält:

Virchow, Ueber die Einwirkung des Lichtes auf Gemische von chromsauren Salzen (resp. Chromsäure), Alcohol und extrahirten organischen Substanzen. Technische Mittheilungen. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXIV, 1885, p. 117—119.

nungen wahrnehmbar sind. Es musste demnach interessant sein, die Härtung in sauren Medien zu vergleichen mit der in ausgesprochen alkalischen Flüssigkeiten. Man hätte zu diesem Zwecke an den Alkohol denken können, welchen man durch Zusatz von Alkalien präparirt hätte. Dies lag um so näher, als ja der Alkohol an sich ein nicht unzweckmässiges Conservirungsmittel der Nervenzellen darstellt. *) Wir haben davon abgesehen, weil bei diesem Verfahren man nicht hätte entscheiden können, ob wirklich das zugesetzte Alkali gleichzeitig mit dem, bekanntlich sehr schnell in die Gewebe eindringenden, Alkohol die Gewebetheile erreichen konnte. Auf Vorschlag von Herrn Prof. *Nencki* haben wir daher Versuche mit den Lösungen einiger Metallsalze (Chlorsilberammonium und basisches Bleiacetat) angestellt. Dem entsprechend verfügen wir über eine Versuchsreihe über die Einwirkung einer Anzahl von Härtungsmitteln, deren Ergebnisse sich in der Weise gruppiren lassen, dass wir der Reihe nach die Härtungen in Säuren, sauren Salzen, neutralen Flüssigkeiten und alkalischen Salzen vergleichen können.

Die auf diesem Wege vorbereiteten Objekte haben wir in verschiedener Weise tingirt. Neben der Vergleichung der verschiedenen Farbstoffe musste uns hierbei die Wirkungsweise der einzelnen Farbstoffe unter variirenden Bedingungen (in chemisch verschiedenen Lösungen, beziehungsweise bei Verwendung verschiedener Beizen) interessiren.

A. Härtung in Säuren. Folgende Säuren kamen zur Anwendung: Salpetersäure (3 % Lösung), Chromsäure

*) *Nissl*, Ueber die Untersuchungsmethoden der Grosshirnrinde. Tageblatt der 58. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Strassburg im Elsass. S. 506.

($^1/_2$ %), Osmiumsäure (1 %), Pikrinsäure (1 %), *Flemming*'sche Mischung. Die Osmiumsäure muss von den anderen Säuren getrennt werden, wegen der Eigenfarbe, die in Folge ihrer Reduction in den Geweben auftritt und anderweitige Tinctionen nicht oder nur schwer zur Geltung kommen lässt. In allen Fällen war eine Nachbehandlung mit Alkohol und Celloidin oder Paraffin gebraucht. Diejenige Conservirung, welche dem Bilde der frisch untersuchten Zellen am nähesten kommt, liefert Pikrinsäure; am ungünstigsten hinsichtlich der Form der Zellen verhält sich die *Flemming*'sche Mischung. Allen, aus Säurehärtungen entsprungenen Präparaten gemeinsam ist: scharfe Abgrenzung der Zellen, ausgesprochene Tinctionsfähigkeit des Zellkörpers, geringe Tinctionsfähigkeit des Kernes mit Ausnahme des oder der Kernkörperchen. Die Granulationen des Zellkörpers erweisen sich zum Theile resistent gegen gewisse Farbstoffe. Ausser den Kernkörperchen erscheinen einzelne Granula des Kerngerüstes gefärbt. Härtung der frischen Präparate in Osmiumsäure zeigt in Verbindung mit der Härtung eine ungleiche Reductionskraft der verschiedenen Zellformen. Die Beschaffenheit der Zellen kommt den in Pikrinsäure erhältlichen Präparaten nahe. Die Färbungsunterschiede sind bei den Tinctionsversuchen zu besprechen.

B. Härtung in sauren Salzen. Als Paradigma haben wir hier das doppeltchromsaure Kali in Form der *Müller*'schen Lösung verwendet. Die *Müller*'sche Lösung ergibt unabhängig von jeder Nachbehandlung (Gefrierschnitte) ausgesprochene Differenzirung der chromophilen und der chromophoben Zellen. Gegenüber Farbstoffen verhalten sich die Präparate wie nach Säurebehandlung.

C. Härtung in neutralen Medien. Von neutralen Härtungsmitteln haben wir angewendet neutrales Bleiacetat

und Alkohol. Die Zellformen der mit Bleizucker (10 % Lösung) behandelten Präparate zeigen vorzügliche Conservirung. Gegen Färbungen verhalten sich die Zellen wie nach Härtung in Säuren. Härtung in Alkohol zeigt wenig gute Erhaltung der Zellform (wahrscheinlich wegen der Wasserentziehung).

D. *Härtung in alkalischen Medien.* Verwendet wurde basisches Bleiacetat (das offizinelle Präparat wurde entweder mit Wasser oder mit Alkohol auf das Zehn-, Zwanzig- oder Vierzigfache verdünnt) und ammoniakalische Silberchloridlösung. Letztere war so bereitet, dass die Lösung 1 Theil Silberchlorid in 100 Theile Wasser durch Ammoniakzusatz gelöst enthielt. Wir erhielten das Präparat von Hrn. Staatsapotheker Prof. *Perrenoud.* Beide Lösungen dringen nur langsam in die Präparate ein, so dass nur die oberflächlichen Schichten der Präparate verwendbar sind. Die Controle über die Tiefe, bis zu welcher das Härtungsmittel eingedrungen ist, gibt Behandlung der Schnitte mit Schwefelwasserstoffwasser oder chromsaurem Kali.

Der Nachweis des Silbers ergibt sich aus der nachträglichen Bräunung der Präparate unter dem Einflusse des Lichtes. Für die Ergebnisse müssen wir beide Methoden trennen. Die *Bleisalzlösung* scheint ungleich auf beide Zellformen zu wirken; an Spinalganglien des Kaninchens sind die chromophilen Zellen stark geschrumpft, dabei mehr weniger vom Bleisalz imprägnirt; die chromophoben Zellen erscheinen fast farblos. Auch nachträgliche Färbungen verschiedener Arten bringen die Differenzirung beider Zellformen gut zur Geltung. Dieselbe Thatsache kann an Spinalganglien des Frosches konstatirt werden. Härtung mit *alkalischer Silberchloridlösung* ergibt

vorzügliche Differenzirung beider Zellarten, die sich allerdings an den Präparaten nicht auf die Dauer conserviren lässt; die Conservirung der Zellform ist an beiden Arten eine gute.

Alle Härtungsversuche führen uns zu dem Resultate, dass unter allen Umständen die verschiedenen Formen der Nervenzellen ihren verschiedenen Charakter wahrnehmen lassen; jedoch scheint es, dass die Härtung in alkalischen Medien die besten Bedingungen gibt, um die chemische Differenz des Zellkörpers hervortreten zu lassen. Besondere Beachtung verdient das Verhalten des Zellkörpers gegenüber den Metallverbindungen. Wir konstatiren, dass die chromophilen Zellen ausnahmslose eine grössere Affinität zu den Lösungen der Metalle zeigen, als die chromophoben.

Die *Tinctionsversuche* müssen wir in drei Gruppen scheiden; 1) Behandlung der gehärteten Objekte mit Metallen, 2) Behandlung mit spezifischen Kernfärbemitteln, 3) Behandlung mit Farbstoffen, welche gewöhnlich nur den Zellkörper oder einzelne Bestandtheile des Zellkörpers färben. Ein Theil der Färbungen wurde an Präparaten versucht, welche nach allen verschiedenen, in dem vorigen Abschnitte behandelten Härtungsmethoden hergestellt waren. Die Mehrzahl der Versuche hezieht sich dagegen auf in *Müller*'scher Lösung conservirte Objekte.

A. Behandlung mit Metallen. Osmiumsäure auf in *Müller*'scher Flüssigkeit erhärtete Präparate angewendet, wirkt in erster Linie auf die chromophilen Zellen. Von frisch in Osmiumsäure behandelten Präparaten unterscheiden sich die nachträglich gefärbten sehr wesentlich, weil es sich in den letzteren nur um eine langsam zustandekom-

mende Bräunung handelt. Die Differenzirung der chromophilen und chromophoben Zellen wird nicht wesentlich deutlicher, als vor der Färbung. Das gesammte Präparat ist nur gleichmässig dunkler geworden.

Die Nachfärbung der Nervenzellen durch Silber ist bekanntlich von *Golgi* methodisch verwerthet worden. In unseren Versuchen haben wir uns von dem von *Golgi* geübten Verfahren in der Weise entfernt, dass wir statt mit Silbernitrat mit ammoniakalischer Silberchloridlösung gearbeitet haben; dass wir ferner die Reduktion im Brütofen erfolgen liessen. Wir erhielten so schon nach 24 Stunden gute Bilder; hierbei ist an günstigen Präparaten die Differenzirung der Zellen eine gute und gegenüber dem früheren Zustande gesteigerte. Die Präparate sind nicht haltbar; unzweifelhaft besitzen aber die Nervenzellen der Spinalganglien ebenso wie die der Centralorgane und die peripheren Nervenfasern eine spezifische Eigenschaft, welche (gegenüber anderen Gebilden) an den mit chromsaurem Kalium durchtränkten Präparaten ein starkes Imbibitionsvermögen für das verwendete Silbersalz bedingt.

2. *Behandlung mit Kernfärbemitteln* ergibt überall ein für die histologische Auffassung der Nervenzellen bemerkenswerthes Resultat: durchweg, auch an Gefrierschnitten frischer Objekte (Pikrocarmin) nämlich finden wir, dass die Kernfärbemittel weit fester an den Zellkörpern der Nervenzellen, als an deren Kernen, theilweise sogar als an den Kernen der benachbarten Gewebe haften. Eine Ausnahme bilden nur diejenigen Nervenzellen, in welchen der Kern Formen angenommen hat, die auf Altersveränderungen zu deuten scheinen. Nur das Kernkörperchen zeigt eine ähnliche Affinität zu den Kernfärbemitteln wie der Zellkörper und die Chromatintheile der umge-

benden Kerne. Dass jedoch die Färbbarkeit des Kernkörperchens nicht ganz denselben chemischen Componenten zuzuschreiben ist, wie die des Zellkörpers, geht aus der Ungleichheit der Farbennuancen hervor, die unter Umständen beobachtet werden. So verzeichnen wir an Spinalganglien des Frosches nach Erhärtung in *Flemming*'scher Mischung und Saffraninfärbung dunkle, diffuse Färbung des Zellkörpers, mehr gelbe Färbung des Kernkörperchens in dem blass tingirten Kerngerüste. Sehr bemerkenswerth ist das Verhalten der Granula des Zellkörpers gegenüber den kernfärbenden Farbstoffen; durch einen Theil derselben werden diese Granula gefärbt (Gentianaviolett, Hæmatoxylin nach Säurehärtung). Wesentlich ist jedenfalls hierfür die Anwesenheit einer geeigneten Beize. Carmin in neutraler Lösung färbt die Granula nicht, Boraxcarmin färbt sie sehr intensiv. Da die Differenzirung heller und dunkler Zellen auch an mit neutralem Carmin tingirten Präparaten vorhanden ist, so ist sie nicht von der Menge der Granula abhängig. *) Besonderes Interesse bietet die simultane Wirkung zweier Kernfärbemittel bei Doppelfärbung nach *Merkel*'s Methode mit indigschwefelsaurem Natrium und Carmin in boraxhaltiger Lösung. Dass dieses Verfahren für die Dif-

---

*) Die Menge und Grösse dieser sich färbenden Granula kann eine so beträchtliche werden, dass sie die Eigenfarbe des Zellprotoplasmas, in welches sie eingestreut sind, übertönt. *Benda* (Ueber eine neue Färbemethode des Centralnervensystems und Theoretisches über Hæmatoxylinfärbungen. Separatabdruck aus den Verhandlungen der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin. 1885—86, Nr. 12, 13 u. 14) hat geglaubt, den Unterschied der chromophilen und chromophoben Zellen auf die Menge der vorhandenen Granula zurückführen zu sollen. Durch die oben mitgetheilten Ergebnisse der Carminfärbung wird diese Annahme widerlegt.

ferenzirung der chromophilen und chromophoben Zellen vorzüglich geeignet ist, hat bereits Prof. *Flesch* mitgetheilt.*) Wir haben dieselbe mit besonders günstigem Erfolge an in Bleiessig erhärteten Präparaten angewendet. Gleichzeitige Untersuchungen von Frl. *Gitiss* haben entsprechende Resultate bei anderen Behandlungsmethoden erzielt. Es finden sich nämlich zwischen den rosatingirten chromophoben und den blau gefärbten chromophilen Zellen Zwischenformen, nämlich Zellen mit ungefärbtem Kerne, der von einer blauen Zone umgeben ist, während die Randschicht der Zelle noch die rosarothe Färbung zeigt. Beide Färbungen betreffen die Grundmasse (das Hyaloplasma oder Paraplasma) der Zellsubstanz und nicht die stets intensiv roth gefärbten Granula.

3. Aus unseren *Versuchen mit Farbstoffen, die nicht als Kernfärbemittel wirken*, haben wir hervorzuheben die mit Eosin, Fuchsin und Nigrosin erzielten Ergebnisse.

Eosin an Bleizuckerpräparaten ergab uns im Gegensatz zu anderen Geweben die Kerne der Nervenzellen ziemlich dunkel tingirt innerhalb des gleichmässig diffus gefärbten Zellkörpers. Noch intensiver wird die Kernfärbung bei Bleiessighärtung; auffallend ist jedoch dabei, dass in den chromophoben Zellen die Kerne farblos bleiben. Fuchsinfärbung hat uns an Alkoholpräparaten Interessantes ergeben. Zwischen kleinen, blass tingirten und grösseren, dunkleren Zellen zeigt sich ein Uebergang, indem anscheinend im Anschluss an den Kern ein diffus gefärbter Saum an manchen Zellen sichtbar wird, der sich

---

*) *Flesch*, Notizen zur Technik mikroskopischer Untersuchungen am centralen Nervensystem. Zeitschrift für wissenschaftliche Microskopie und für microskopische Technik. Bd. II, 1886, S. 49—52.

bis zur vollständigen Ueberfärbung des Zellkörpers ausbreitet.

Nigrosin hat uns an Bleiessigpräparaten interessante Bilder ergeben. Der Farbstoff haftet ausschliesslich am Paraplasma, so dass der Zellkörper ein reticulirtes Aussehen zeigt. Je nach der Vertheilung der Tinction zeigen sich folgende Zellformen: *a)* Grosse, chromophobe Zellen mit feiner Granulirung; *b)* kleinere und mittelgrosse, schwach tingirte Zellen mit grobmaschigem Paraplasma, schwacher Kernfärbung; *c)* kleine und mittelgrosse Zellen mit dunklem Kerne, dunkler Färbung des umgebenden Protoplasma's; *d)* kleine und mittelgrosse Zellen mit dunklem Kerne, lichter Färbung des centralen, dunkler des peripheren Protoplasma's; *e)* kleine, mittelgrosse und grosse, durchaus dunkelgefärbte Zellen.

Die Ergebnisse der Tinctionsversuche zeigen uns, dass in den Nervenzellen eine wesentlich andere Vertheilung der Zellsubstanz vorliegt, als in anderen Geweben. Diesen Nachweis glauben wir zu führen, indem wir zeigen, dass die Einwirkungen der verschiedenen Färbemittel auf die eben abgestorbene wie auf die durch Härtung weiter veränderte Nervenzelle konstante Verschiedenheiten gegenüber anderen Gewebeelementen zeigen. Für die Nervenzellen charakteristisch ist die Armuth des Nervenkernes an Chromatinbestandtheilen, die Färbbarkeit ihres Protoplasma's durch verschiedene Agentien. Es muss dahingestellt bleiben, wie weit die letztere abhängig von der vorherigen Imprägnation mit den Metallverbindungen der Härtungsflüssigkeiten ist. Aus den Ergebnissen der Behandlung frischer Ganglien mit Osmiumsäure sehen wir ja, dass der Substanz der Nervenzelle unter Umständen die Fähigkeit zukommt, durch Reduktionsvorgänge Metalle

in ungleichem Maasse zu fixiren. Bemerkenswerth erscheint es, dass Härtungen in alkalischen Medien der Conservirung jener chemischen Differenzen in den Präparaten besonders günstige Bedingungen zu bieten scheint.

Wir haben im ersten Theile der Untersuchung wahrscheinlich gemacht, dass im Leben die von uns behandelten Ungleichheiten der Nervenzellen auf eine Verschiedenheit ihrer Sauerstoffsättigung, also ihres Verhaltens im Stoffumsatz, hinzuweisen schienen. In den Färbungsversuchen ist es uns gelungen, Zwischenformen mittelst der *Merkel*'schen Färbung zu fixiren, bei welchen die in den chromophilen Zellen überwiegende, zur Bindung des Indigo neigende Substanz in bestimmter Lokalisation auftrat und sich mehr weniger weit über die Zelle bis zu völliger Alleinherrschaft ausbreitete. Es berechtigt dies uns zur Vermuthung, dass hier verschiedene durch das Auftreten und die Ausbreitung jener Substanz charakterisirte Zustände im Stoffwechsel der Zelle fixirt worden sind. Dies weiter zu verfolgen und festzustellen, ob wir in jenen Vorgängen den Ausdruck von nutritiven und Wachsthumsvorgängen oder funktioneller physiologischer Veränderungen zu sehen haben, wird die Aufgabe späterer Untersuchungen sein.

Zum Schlusse halte ich es für eine angenehme Pflicht, meinem hochverdienten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Flesch, Privatdocenten der Anatomie an der medizinischen Fakultät, für seine freundliche Leitung und vielfache Unterstützung bei dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.