

AUS DEM ANATOMISCHEN INSTITUT ZU LUND UND DEM LABORATORIUM DER
NERVENKLINIK DES SERAPHIMERLAZARETTS ZU STOCKHOLM.

ÜBER
SPINALGANGLIENZELLEN
UND
MARKSCHEIDEN.

ZUGLEICH EIN VERSUCH DIE WIRKUNGSWEISE
DER OSMIUMSÄURE ZU ANALYSIEREN.

VON
EINAR SJÖVALL,
STOCKHOLM.

Mit 25 Abbildungen auf den Tafeln 13/17.

Gegenstand dieser Untersuchung sind hauptsächlich die eigentümlichen Netzbildungen, welche letzterer Zeit an verschiedenen Zellenarten beobachtet worden sind, und zwar besonders in Nervenzellen; Netzbildungen, welche unter verschiedenen Namen wie: »Binnennetz«, »apparato reticolare interno«, »trophospongium« etc. beschrieben worden sind. Daneben berührt die Untersuchung jedoch auch die Markscheiden der Nervenfasern und zwar, weil sie ein gutes Vergleichsmaterial mit obengenannten Netzbildungen er bieten. Die Beobachtungen, mit welchen ich, wie ich hoffe, auf Grund dieser Untersuchung die Diskussion dieses Gegenstandes bereichern kann, sind im Wesentlichsten auf zwei Wegen gewonnen worden, teils nämlich durch den Versuch zu analysieren, wie die angewandten Behandlungsmethoden — besonders die mit Osmiumsäure — auf die Ganglienzellen und Nervenfasern einwirken, teils auch dadurch, dass ich der embryonalen Entwicklung der fraglichen Bildungen mit verschiedenen Methoden gefolgt bin.

Historische Darstellungen über die genannten Binnennetze liegen wie bekannt schon bei Holmgren (45) und Misch (58) vor. Beide Darstellungen sind besonders ausführlich und vervollständigen einander aufs beste, — indem Holmgren das Problem von seinem besonderen Standpunkte aus betrachtet und untersucht, in welchem Mafse die Beobachtungen anderer Verfasser sich mit seiner Auffassung vereinigen lassen, während Misch im grossen ganzen eine objektive Darstellung der divergierenden Ansichten liefert. Ich will trotzdem nicht ganz unterlassen, selber eine derartige Übersicht zu geben; ich will nämlich den Versuch machen, besonders die Hauptzüge in der betreffenden

Diskussion wie sie sich mir darbieten etwas mehr markiert, als meiner Auffassung nach in den vorhergehenden Historiken geschehen ist, hervorzuheben. Ich konzentriere mich sonach zunächst auf die Entdeckung der Binnennetze und auf die Diskussionen zwischen den verschiedenen Entdeckern, um danach zu zeigen, wie eine ganze Reihe späterer Beobachtungen mehr oder weniger genau mit der einen oder anderen der divergierenden Grundanschauungen übereinstimmen, welche schon vorher bei den Entdeckern zu finden sind, und weise schliesslich auf die neu hinzukommenden Beobachtungen und Anschauungen hin, welche des ferneren dazu beigetragen haben, die Diskussion zu vertiefen — und das Problem zu komplizieren.

I.

Richten wir also unsere Aufmerksamkeit auf die Entdeckung der fraglichen Bildungen in den Nervenzellen, so sehen wir, dass es Golgi (29) ist, dem die Ehre zukommt, der Erste gewesen zu sein, einige Mitteilungen darüber gemacht zu haben. Am 19. April 1898 legte er nämlich der medico-chirurgischen Gesellschaft zu Pavia das Resultat seiner ersten Beobachtungen betr. dieser Bildungen vor. Genau gleichzeitig damit — sogar einen Tag früher (d. 18./4. 1898) — demonstrierte Ballowitz (4) vor der Versammlung der Anat. Gesellschaft zu Kiel einige von ihm entdeckte Bildungen, eine Entdeckung, die zwar nicht die Nervenzellen, sondern die Zellen der Membrana Descemeti betraf, aber doch immerhin mit den Befunden in den Nervenzellen in einen solchen Zusammenhang gebracht wurde, dass sie hier nicht unerwähnt gelassen werden dürfen. Bald darauf kamen, vollständig unabhängig von den Entdeckungen Golgis und Ballowitz', Mitteilungen von Holmgren (39) und Nelis (59) über Struktureigentümlichkeiten in den Nervenzellen,

welche sie — jeder für sich — beobachtet hatten und als vorher noch nicht in der Literatur beschrieben schildern.

Wir sehen sonach, wie nicht weniger als vier verschiedene Forscher ungefähr gleichzeitig bis dahin unbekannte Strukturdetails finden, welche wenigstens soviel Ähnlichkeit zeigen, dass sie miteinander verglichen werden können. Wir fragen nun: Welche ist die Morphologie der neu entdeckten Bildungen, welche Auffassung haben die verschiedenen Entdecker von der Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Befunden, und welche Auffassung haben sie schliesslich von der Bedeutung der fraglichen Struktur?

Hören wir, zur Beantwortung der ersten Frage, die eigene Beschreibung der resp. Verfasser.

Golgi (29) beschreibt seinen Fund als ein elegantes Netz, das eine so charakteristische Morphologie besitzt, dass sogar feine Fragmente, die demselben zugehören, mit Sicherheit identifiziert werden können. Diese charakteristischen Eigenschaften betreffen teils die Farbe, teils die allgemeine Anordnung und teils die einzelnen Teilstücke. Die Farbe, welche die Netzfäden annehmen, ist eine typische, gelbliche (Färbung: siehe unten). Betreffend die allgemeine Anordnung bemerkt man, teils dass das Netz in seinem Ganzen eine mit der zugehörigen Zelle übereinstimmende Konfiguration hat, teils dass es peripherisch um das Netz eine Zellenzone gibt, die beständig frei von Netzteilen ist, und dass die Netze eine gute Abgrenzung gegen diese periphere Zellenzone haben, während in die zentralen Teile der Zellen das Netz Ausläufer verschieden tief einschickt. Es handelt sich sonach um »une particularité d'organisation tout à fait interne des cellules nerveuses«. Was nun das Charakteristische in den Netzfäden selbst betrifft, so besteht dieses in ihren meistens band- oder fadenförmigen Aussehen, ihrer Art sich zu teilen und zu anastomosieren, ihrem oft schlingrenden Verlauf und schliesslich darin, dass in den Knotenpunkten des Netzes

rundliche kleine Platten, die im Zentrum durchsichtig sind, vorkommen. — Golgi stellt diese Netze dar, teils durch seine unveränderte schnelle Chromsilbermethode, teils durch einige kleine Modifikationen derselben.

Die hier gegebene Beschreibung betrifft allerdings nicht Spinalganglienzellen, sondern Purkinje'sche Zellen, aber schon in derselben Mitteilung macht Golgi die Bemerkung, dass er in den ersteren ein analoges Netz konstatiert habe, und im Juli desselben Jahres berichtet Golgi (30) in der medico-chirurgischen Gesellschaft zu Pavia ausführlich über dasselbe. Er betont daselbst die prinzipielle Ähnlichkeit, aber hebt auch gewisse spezielle Verschiedenheiten hervor, besonders die, dass die fragliche Bildung hier vielmehr ein unregelmäßiges Geflecht von Fäden zu bilden scheine. Er beobachtet jedoch auch hier — und zwar um so deutlicher, je älter das Tier ist, von dem die Ganglien stammen — die Verbindungsfäden, die sonach zeigen, dass es sich auch hier um eine Netzstruktur handelt. Auch die speziellen Fäden weisen Ungleichheiten auf; gewisse Teile sind sehr fein und ziemlich regelmäÙig, andere haben charakteristische Erweiterungen und Einschnürungen und sind mit kleinen seitlichen Ausläufern versehen, welche letztere entweder mit einer Anschwellung endigen oder aber sich in anderen Fäden fortsetzen.

Ballowitz (5) hat, wie erwähnt, im Epithel der Membrana elastica posterior des Auges eine Bildung gefunden, die bei Behandlung mit gewöhnlichem Eisenhämatoxylin sichtbar wird und die mit den in den Nervenzellen gemachten Entdeckungen verglichen worden ist. Er findet nämlich in den genannten Zellen stets Zentralkörper und diese von einer grossen, gut markierten Bildung umgeben, die von ihm wie eine Sphäre aufgefasst wird und im übrigen sehr interessante Relationen zum Zellkerne aufweist. Diese Zellensphäre zeigt nun selten einen gleichmäÙig abgerundeten Rand, sondern gewöhnlich »kleinere oder grössere

Vorsprünge, Zacken oder ausgezogene Ecken«, eine Unregelmäßigkeit, die ihren Grund in der eigentümlichen Sphärenstruktur hat, welche der Verfasser gefunden hat. Er zeigt nämlich, dass die Sphäre von einem Gerüst von Fäden und Strängen durchsetzt ist, welche sich verzweigen und anastomosieren, indem sie einen »lockeren Faserkorb« oder ein »Korbgerüst« bilden, das hauptsächlich die peripherische Partie der Sphäre einzunehmen scheint. Die diesen Sphärenkorb aufbauenden Fäden verlaufen grösstenteils in ausgesprochenen Windungen und zeigen nicht selten Winkelbiegungen, so dass scharf hervortretende Ecken entstehen. Sie sind übrigens von verschiedener Dicke und oft mit Verbreiterungen und kleinen plattenartigen Verdickungen versehen.

Was die Beobachtungen Holmgrens betrifft, so teilt er diese erst in einer Nachschrift zu seiner Arbeit über Spinalganglienzellen bei *Lophius* (39) (Mai 1899) mit. Ich beziehe mich jedoch hier auf die ausführlichere Beschreibung, die er etwas später (40) (Juli) in demselben Jahre gibt. Die von ihm gefundenen Bildungen kommen zum Vorschein bei Fixierung mit pikrinsaurem Sublimat und Färbung mit Toluidin-Erythrosin¹⁾, wurden in den Spinalganglienzellen beim Kaninchen beobachtet und bestanden aus feinen, gleichdicken Röhrchen, die zahlreich direkt miteinander kommunizierend, »ein geschlossenes und ziemlich dichtes Netzwerk« bildeten. Hier und da, findet der Verfasser, stehen diese Röhrchennetze in Verbindung mit perizellulär lokalisierten Röhrchen. Die meisten Zellen in den fraglichen Ganglien besitzen solche Netzwerke, doch beobachtet Holmgren besonders in einigen grösseren oder mittelgrossen Zellen, dass die Röhrchen »etwas anders gestaltet« hervortreten und kann danach, wie er später deutlich hervorhebt (45) »zwei verschiedene Modifikationen . . . auseinanderhalten, nämlich

¹⁾ Später hat er diese jedoch mit zahlreichen verschiedenen Fixierungs- und Färbungsmethoden darstellen können.

teils ein vergleichsweise dichteres Netzwerk von feinen parallelwändigen Kanälchen, teils ein mehr lockeres Netz aus teilweise breiten, spaltenähnlichen Röhrchen« (die etwas anders gestalteten Bildungen). Diese beiden Modifikationen sieht er jedoch hier und da mit extrazellulären Spalten zusammenhängen.

Was nun schliesslich den vierten der Entdecker, Nelis, betrifft, erschien seine Mitteilung ebenfalls in der ersten Hälfte des Jahres 1899 (59), und seine Untersuchungen berühren besonders die Spinalganglienzellen beim Hunde nach Sublimatfixierung und Eisenhämatoxylinfärbung. Die neue Bildung, die er beobachtet, besteht laut seiner Beschreibung aus ungefärbten, gleichdicken, auf verschiedene Weise gewundenen, aber niemals winkelförmig gebogenen Fäden, welche niemals miteinander anastomosieren und beständig »une nature intracellulaire« besitzen. — Unter verschiedenen pathologischen Zuständen sollen diese Bildungen bedeutend mehr prägnant hervortreten.

Dies war also in aller Kürze eine Beschreibung des morphologischen Charakters der neu entdeckten Struktureigentümlichkeiten und es dürfte daraus hervorgehen, dass in den Darstellungen der verschiedenen Verfasser nicht wenige und teilweise recht wichtige Unterschiede zu Tage treten. Und wenn wir nun zur Beantwortung der Fragen übergehen, welche Meinung die vier verschiedenen Entdecker von der gegenseitigen Übereinstimmung ihrer Befunde hegen und welche ihre Auffassung von der Bedeutung der neuen Bildungen ist, so finden wir auch, dass es ebensoviele Meinungen wie Autoren gibt, wenigstens insofern, als keiner der vier Entdecker eine Meinung hat, die vollständig mit einer der anderen übereinstimmt.

Kehren wir also zunächst zu Golgi zurück! — Wir finden dann, dass er keineswegs geneigt ist, seine Entdeckung mit den anderen zu identifizieren. Betreffend zunächst Ballowitz' Ansicht, so finden wir, dass Golgi seinen Fund nicht als einen Teil einer Zentrosphärstruktur (34) betrachten will. Ob er jedoch

auch rein morphologisch die Übereinstimmung zwischen den von ihm und den von Ballowitz gefundenen Bildungen gänzlich verleugnet, ist mir unbekannt, da ich leider nur durch Mischs kurzes Referat (58) [S. 355] Gelegenheit hatte, von den Ausführungen Kenntnis zu nehmen, die Golgi gelegentlich der Anatomen-Versammlung zu Lyon 1901 zu vorliegender Frage machte. — Über die Holmgrenschen Befunde dagegen äussert sich Golgi sehr kategorisch (32, 33). Er findet zwar, dass es in der Holmgrenschen Beschreibung so viel Ähnlichkeit mit seiner eigenen Darstellung gibt, dass er es als seine Schuldigkeit betrachtet, die Frage zur Diskussion zu bringen; aber als er darauf einen Vergleich zwischen Holmgrens und seinen eigenen Figuren zieht, findet er, dass: *»un coup d'oeil comparatif . . suffit pour enlever tout fondement ou jugement de vraisemblance rapporté plus haut«*. Eher findet er einen Vergleich mit dem von ihm und Erik Müller gefundenen endo- und perizellulären Kanälchennetzen in den Belegzellen der Magenschleimhaut berechtigt; doch fügt er unmittelbar darauf hinzu: *»on voit une différence tellement énorme que le rapprochement ne peut apparaître autrement que forcé«*. Besonders hebt er den prinzipiellen Unterschied hervor, dass sich diese Kanalnetze sammeln und in die gemeinsamen Ausfuhrkanäle der Drüse auslaufen, während die Bildungen in den Nervenzellen ganz und gar intrazellulär sind — ein prinzipieller Unterschied, der sich auch gegenüber den Holmgrenschen Kanälen findet. — Was schliesslich Nelis' Befunde angeht, nimmt Golgi auch diesen gegenüber einen bestimmten Standpunkt ein. Nelis' Lehrer, van Gehuchten (27), zeigte nämlich Golgi gelegentlich des Anatomen-Kongresses zu Tübingen 1899 eine Anzahl von Nelis' Präparaten, wobei dieser (Golgi) der Ansicht war, dass *»die intrazellulären Kanäle von Nelis etwas ganz anderes als das intrazelluläre Netz von Golgi«* wären.

Zeigt sich Golgi sonach skeptisch gegenüber der Überein-

stimmung zwischen den verschiedenen obengenannten Befunden, so ist er auch ebenso zurückhaltend betreffend die Deutung seiner endozellulären Netze. Er enthält sich nämlich, selbst auf die Gefahr hin der Hypothesophobie beschuldigt zu werden, »absolument de suivre une direction qui, malheureusement, est maintenant en grande faveur même chez les anatomistes«, d. i. die Tendenz auf noch nicht genügend umfassenden Beobachtungen Hypothesen aufzubauen, »qu'on pourrait facilement faire à ce sujet«. »Ce sera«, sagt er, »autant degagné pour la science, si, abandonnant la prétention de construire des édifices, qui trop souvent, se réduisent à des châteaux en l'air, nous nous en tenons, pour le moment, à la modeste tâche d'étudier les faits avec patience!« Warten wir also fernere Studien ab und beruhigen wir uns bis auf Weiteres mit der Gewissheit, dass, nachdem die verschiedenen Untersuchungen sichere Erkenntnis erlangt haben, sie sich wiederfinden werden »réunies dans le but commun vers lequel elles tendent«.

Es ist klar, dass der Grad von Sympathie, den man der strengen Vorbehaltsamkeit Golgis entgegenbringt, ganz und gar von der speziellen Anschauungsweise eines jeden abhängig ist. Doch können auch die mehr »Hypothesophilen« die Sache mit Ruhe nehmen, da ein grosser Teil der übrigen Forscher den Golgischen Prinzipien nicht gefolgt ist — und zwar mit dem Resultate, dass es nun eine schöne Sammlung verschiedener Hypothesen auf dem fraglichen Gebiete auf Lager gibt.

Schon Ballowitz (6), der zweite in der Entdeckerreihe, ist bedeutend mehr sanguinisch als Golgi. Allerdings erwähnt er überhaupt nicht Nelis' Fund und fügt seiner kurzen Erwähnung der Holmgrenschen Entdeckungen ohne Einwendung die Golgische Reservation gegen eine eventuelle Übereinstimmung zwischen diesen und Golgis Netzapparat hinzu. Es will also scheinen, als ob er seinen Standpunkt gegenüber diesen beiden Forschern (Nelis und Holmgren) nicht speziell fixieren

wolle. In so höherem Maße tut er dies jedoch gegenüber Golgi. Allerdings bezieht er sich auf die von Golgis Schüler Negri dargestellten Netzapparate in gewissen Drüsenzellen und glaubt allen Anlass zur Vermutung zu haben, dass diese Bildungen mit den Netzen in den Epithelzellen der Membrana Descemeti analog sind, aber aus seiner ganzen Behandlungsweise dieser Frage geht doch hervor, dass er persönlich vollkommen überzeugt ist von der prinzipiellen Übereinstimmung auch mit Golgis eigenen Befunden in den Nervenzellen.

Wie früher erwähnt, hat nämlich Ballowitz schon in seinen ersten Mitteilungen über seine Netze diese in bestimmte Beziehungen zu den Zentralkörpern und ihre Sphären gebracht und hat schon bei dieser Gelegenheit die Vermutung ausgesprochen, dass diese »Zentroformien«, wie er sie jetzt nennt, eine mehr allgemein vorkommende Struktur seien, obgleich es uns bis jetzt noch nicht gelungen ist, dieselben an anderen Zellen als an den hierfür besonders geeigneten Epithelzellen der Membrana Descemeti darzustellen. Nun findet er, dass sich dieser Gedanke durch die Arbeiten Golgis und seiner Schüler »unerwartet früh erfüllt zu haben scheint«; »jedenfalls« fügt er hinzu, »darf ich wohl den Gedanken Raum geben, dass Golgi und ich hier bisher unbekannten Zellstrukturen, um nicht zu sagen Zellorganen, auf der Spur sind«, Zellorgane, die gewiss »für die Biologie der Zelle von nicht unwesentlicher Bedeutung« sind und deren »Zentroformie«-Natur in der M. Descemeti festgestellt und in den anderen Zellenarten, wenigstens der Drüsenzellen, wahrscheinlich ist.

Spricht sich sonach schon Ballowitz mehr positiv aus, so ist das noch mehr der Fall mit Holmgren. Schon vom Anfang an ist er überzeugt, dass Golgis Netzwerk seinen hellen Kanälchen entspricht; »die Lokalisation ist ungefähr dieselbe, die Breite der verschiedenen Teile der Golgischen Netzwerke entspricht sehr gut der Lumenweite meiner Kanälchen«, sagt er schon in

seiner ersten ausführlicheren Beschreibung (40), und in seiner nächsten Publikation einige Monate später (41) spricht er sich noch bestimmter aus, indem er nun selber mit der Golgischen Methode gearbeitet und durch die damit erhaltenen Bilder sich davon überzeugt hat, dass »die fraglichen Kanälchen auch mit dieser Methode mit extrazellulären Bahnen zusammenhängen«; auch hier ist sonach eine prinzipielle Ähnlichkeit vorhanden.

Auch mit Rücksicht auf die Nelis'schen Bilder nimmt Holmgren denselben kategorischen Standpunkt ein. In einer 1900 (43) erschienenen Arbeit erklärt er diese als »gewiss mit den von mir beschriebenen Kanälchen identisch«, und diese seine Auffassung unterstreicht er noch mehr in seiner Übersicht in Merkel-Bonnets Ergebnisse für 1901 (45), wobei er gleichzeitig hervorhebt, dass Nelis keine Verbindung solcher »Bänder« nach aussen sehen konnte. »Solche Verbindungen«, fügt Holmgren hinzu, »kommen auch nicht in allen Fällen vor, sind jedoch sehr allgemein«.

Was nun die Bedeutung der gefundenen Bildungen betrifft, so hegt Holmgren auch hierin eine bestimmte, positive Auffassung. Allerdings spricht er sich nicht gleich (40) bestimmt aus, hat aber schon jetzt eine bestimmte Auffassung von der grossen morphologischen Ähnlichkeit dieser Bildungen mit den Sekretkapillaren der Drüsenzellen, und es dauert auch nicht lange, bevor Holmgren (41) mitteilt, dass er der ziemlich bestimmten Meinung sei, dass die Kanäle lymphatischer Art sind. Die exaktere Präzission dieser Auffassung geschieht etwas später (43), wo er hervorhebt, dass, seiner Meinung nach, die Nervenzellen von zahlreichen Kapselfortsätzen durchsetzt sind, welche Lymphspalten führen, die in direkter Kommunikation mit analogen extrazellulären solchen stehen, und sicherlich, wie mehrere Umstände andeuten, von Bedeutung für den Stoffwechsel der Zellen sind. Diese Lymphspalten sind die beobachteten »Kanälchen«.

Das waren also in ihren Hauptzügen die Ansichten dreier der Entdecker, und wenn wir nun weiter hinzufügen, dass Nelis, der vierte derselben — nach einer Reservation gegen die Golgische Methode als Mittel die innere Struktur der Nervenzellen zu studieren — darauf hinweist, dass sein Befund dem Golgischen nicht entsprechen kann und dass er sein Unvermögen zugestehen muss, irgend welche Schlussfolgerungen mit Rücksicht auf die chemische und physiologische Natur der gefundenen Bildungen ziehen zu können, so sind wir hiermit am Schlusse der Schilderung der Entdeckung der fraglichen Struktureigentümlichkeiten und des Streites angelangt, der sich betreffend derselben und ihrer Bedeutung zwischen den Entdeckern selbst entwickelt hat. Wir sehen, wie verschieden die Auffassungen sind, die während dieses Streites zu Tage traten, Differenzen, die auch in der kurzen Darstellung, die Retzius (64) im November 1900 über die »mystischen und jedenfalls nur wenig eruierten Zellstrukturen« gab, besonders betont werden. Retzius selbst — ebenso wie Kölliker (53) — neigt sich der Ansicht zu, dass wir es hier mit einer Art intrazellulärer Saftwege zu tun haben, besonders seitdem er — ebenso wie Holmgren — »mehrmals beim Kaninchen Ausläufer der Netze angetroffen hat, die bis an die Zellenoberfläche reichten«; »und bei der Katze habe ich«, fährt er fort, »an solchen Netzen, die als Golgische zu bezeichnen waren, oft derartige Ausläufer gesehen«. Gleichwohl betrachtet Retzius die Frage als noch keineswegs gelöst, ebensowenig wie er die Homologie der Ballowitzschen Netze mit den Golgischen für bewiesen erachtet.

Trotz dieser vielfältig schwankenden Anschauungen glaube ich doch, dass man die verschiedenen Auffassungen — ohne allzugrosse Schematisierung — in drei grosse Hauptgruppen einrangieren kann, von welchen jede den Namen eines Entdeckers tragen kann: 1. die Golgische mit der morphologischen Auffassung Golgis und seinem Skeptizismus betreffend die Funk-

tionen der gesehenen Bildungen; 2. die Holmgrensche mit den Charakteren: helle Züge, darstellbar mit gewöhnlichen Methoden, die Zellenperipherie erreichend und vermutlich »Saftkanälchen«-Natur; 3. die Ballowitzsche mit dem Schwerpunkt: die Netze ein Teil einer Zentrosphärstruktur. — Die Nelische Auffassung will ich kaum als eine besondere Gruppe aufnehmen, teils auf Grund der Kritik, die von seiten van Benedens und van Bambekes (7) gegen dieselbe gerichtet worden ist (eine Kritik, die allerdings van Gehuchters Glauben an die Exaktheit von Nelis Beschreibungen nicht erschüttern konnte), teils auch besonders weil, so weit mir bekannt, keiner der späteren Forscher ausser de Buch und de Moor (16) sich mehr direkt auf Nelis bezieht, und man Beobachtungen dieser Forscher — wie ich gelegentlich früher erwähnte (68) — als wenig dazu geeignet betrachten kann, die Diskussion zu vertiefen.

Wenn ich nun nämlich zu einer Schilderung des letzteren Zeitabschnittes im Streite übergehe, will ich versuchen zu zeigen, dass ein grosser Teil der folgenden Untersuchungen ungesucht in die 3 Hauptanschauungen einrangiert werden kann und also unter Hinweis darauf sehr kurz referiert werden können. So sehen wir, dass die Golgische Anschauung unverändert in den vielen Arbeiten wieder auftaucht, die eine ganze Reihe seiner Schüler ausgeführt hat, und die in der Hauptsache darauf hinausgehen, in verschiedenen Zellenarten Netzstrukturen nachzuweisen, die den der Nervenzellen analog sind. Sie sind, ebenso wie ihr Lehrer (30), augenscheinlich an die Arbeit gegangen »avec l'obstination qui résulte de la conviction qu'on n'entreprend pas une oeuvre inutile« und das Resultat ist auch geworden, dass das Vorkommen dieser Netze betreffs einer grossen Anzahl verschiedener Zellen festgestellt wurde. Von diesen Schülern Golgis will ich hier Veratti erwähnen, und zwar deshalb, weil dieser die Modifikation der Golgi-Methode erfunden hat, welche vielleicht am sichersten die frag-

lichen Netzstrukturen darstellt (81). — Im übrigen ist es besonders Soukhanoff, der verschiedene Nervenzellenarten mit der Golgischen Methodik untersucht hat, und seine Resultate, in einer Anzahl kleinerer Schriften veröffentlicht (70—74), übereinstimmen, sowohl hinsichtlich der morphologischen Schilderung des Golgischen Netzes, wie auch hinsichtlich des Skeptizismus betreffend dessen Funktionen in allen wesentlichen Teilen mit Golgis eigener Anschauung. Doch scheint es, als ob er sich allmählich etwas von derselben entfernt, indem er (74) [1903] eine gewisse Ähnlichkeit mit den Holmgrenschen Kanälen hervorhebt und sich auch der Auffassung nähert, dass die Golgischen Netzwerke »may be analogous to what Nelis calls *état spirémateux*«. — Auch Jaworowski (50) bekennt sich zu den Golgischen Anschauungen.

Auch hinsichtlich der zweiten der Hauptanschauungen, der Holmgrenschen, können wir uns kurz fassen. Allerdings ist die Anzahl der Verfasser, die nach Holmgren die lichten »Kanälchen«-Züge in den Nervenzellen mittelst verschiedener Methoden konstatierten, recht bedeutend und ihre Anschauungen stimmen nicht exakt mit den Charakteren überein, welche diese Gruppe auszeichnen sollten; aber anderseits sind diese Ungleichheiten doch nicht ganz bedeutend. So sind derartige lichte Züge z. B. von Studnicka (76, 77), Bethe (10), Sjöbring (66), mir (67), Smirnow (69), Frau Pewsner-Neufeld (61) u. A. gesehen worden. Da jedoch durch diese Untersuchungen der Diskussion kaum irgend welche Tatsachen von grösserer Bedeutung zugeführt sein dürften, will ich nicht näher auf dieselben eingehen, sondern will des weiteren nur noch eine Sache hervorheben, nämlich dass z. B. von Bethe, Studnicka und mir — wie vorher von Holmgren — hervorgehoben worden ist, dass man zwei Typen der »Kanälchen« beobachten kann und zwar zwei so verschiedene Typen, dass sowohl Bethe wie Studnicka dieselben als ganz verschiedener Art betrachtet

und ich, auch wenn ich dies nicht als erwiesen betrachtete, doch gefunden habe, dass sie »sehr von einander abweichen und keine deutlichen Übergänge in einander zeigen«; der eine stellt sich dar »als eine Bildung, die an einer oder mehreren Stellen der Zelle erscheint, oft recht gross und zuweilen alveolenartig erweitert ist und manchmal wirbelförmige Biegungen zeigt«, während der andere »als eine einfache, gewöhnlich gleichdicke Guirlande, die man mehr oder weniger vollständig um den Kern herum verfolgen kann« erscheint und hier und da mit kleinen Zweigen versehen sein kann.

Bei der dritten Anschauung, der Ballowitzschen, will ich jedoch etwas länger verweilen. Allerdings ist es meine Absicht der Bestätigung der Ballowitzschen Centroformenbefunde durch Totsuka (80) und der Mitteilung Studničkas (77) betreffend eine Beziehung zwischen den Centrankörperchen und den intracellulären Kanälchen in den Nervenzellen von *Lophius piscatorius* nur kurzer Erwähnung zu tun, aber ich glaube, dass es von einigem Interesse sein dürfte etwas ausführlicher auf die Befunde einzugehen, die Fürst (23,24) in den Kopf- und Spinalganglienzellen des Lachses machte. Fürst beobachtet, zuerst bei Lachsembryonen im Alter von 90—150 Tagen, in diesen Zellen nach Fixierung mit Perenyis Flüssigkeit und Färbung mit Eisenhämatoxylin ringförmige, gut begrenzte Bildungen, die in oft sehr charakteristischer Weise in den Zellen lagern. Sie liegen nämlich »im allgemeinen um den Kern herum gruppiert und mit ihrer flachen Seite nach dem Kern zu«; eine Anordnung, die sonach bewirkt, dass man in einem Querschnitt durch Zelle und Kern die Ringe meist im optischen Querschnitt sieht, während man Flächenbilder der Ringe am zahlreichsten trifft, wenn der Schnitt nicht den Zellkern erreicht und man also einen Flächenschnitt der Zelle vor sich hat. Liegt der Kern excentrisch, so sieht man die Ringe in dem cytoplasmareicheren Teile der Zelle liegen, stets aber nach demselben Prinzip geordnet.

(Siehe (24) Fig. 3). Die Ringe finden sich nicht in der äußersten Zone der Zelle und nirgend fand sich eine direkte Verbindung zwischen denselben. — In analogen Zellen des ausgewachsenen Lachses hat Fürst später diese Bildungen wieder gefunden, obgleich nun mit einer der oben erwähnten verschiedenen Lagerung. Die concentrische Gruppierung ist nun verschwunden und anderseits sammeln sich nun die Ringe nicht selten in »dicken, flachen Massen oder in gebogenen und gewundenen, röhrenförmigen Reihen.« Ferner kann man nun ein anderes Element beobachten, nämlich »gewundene Fäden« ohne Verzweigungen oder Anastomosen, welche nach Fürsts Meinung »nicht nur von derselben Art wie die Ringe, sondern auch aus denselben entstanden sind, wenn sie nicht geradezu aus ihnen bestehen.«

Gelegentlich der Deutung dieses Fundes diskutiert Fürst eine Frage, die vorher allerdings von Heidenhain (35) berührt aber erst von Fürst einer gründlichen Prüfung unterzogen wurde. Diese Frage lautet: Inwiefern hat man Recht die verschiedenen oben beschriebenen Funde in Verbindung mit Bendas Mitochondrien und Heidenhains Pseudochromosomen zu stellen? Bei der Beantwortung dieser Frage geht Fürst von seinen eigenen Befunden aus und zeigt sich nicht abgeneigt einen solchen Zusammenhang zuzugeben. Er will nur auf das Bestimmteste hervorheben, dass die Ringe in den Ganglienzellen des Lachses als »ursprüngliche, einfache, nicht aus Körnern zusammengesetzte Gebilde« betrachtet werden müssen und dass diese sonach sehr wohl den Mitochondrien entsprechen können, jedoch nicht — wie man beim ersten Anblick vielleicht geneigt sein könnte anzunehmen — den Chondromiten. Eine andere Tatsache, die für ihre Ähnlichkeit mit den Mitochondrien zu sprechen scheint, ist ihr auffälliges Bestreben sich in Reihen zu ordnen. Die durch Vereinigung dieser Ringe entstandenen Röhren oder Fäden wären sonach mit Chondromiten (den Heidenhainschen Pseudochromosomen) zu vergleichen. Wenn

ein solcher Zusammenhang zwischen Fürsts Befunden einerseits und den Bendaschen und Heidenhainschen andererseits richtig wäre, wenn auch die Heidenhainsche Auffassung richtig wäre, dass die Ballowitzschen Centroformien und Heidenhains Centralkapseln ein und dieselben Bildungen sind, und wenn auch die Ballowitzsche Auffassung richtig wäre, dass die Golgischen Netzstrukturen seinen Centroformien entsprächen, »ja, dann,« fährt Fürst fort, »wären auch nach der Deutung des Centralkapselursprungs von Heidenhain, diese sämtlichen Bildungen identisch aus einem Mitochondriengebilde abzuleiten.« Allerdings ist Fürst nicht ohne Weiteres geneigt z. B. Holmgrens oder Studnickas Funde mit seinen eigenen zu identifizieren, obgleich er sich keineswegs ganz und gar unwillig dem gegenüberstellt. Es scheint sonach laut Fürsts Meinung darauf hinaus gehen zu wollen, dass wir hier bei sämtlichen verschiedenen Befunden »einer Art von Zellkörperbildung gegenüberstehen, die aus Cytomikrosomen (Mitochonderien) entstanden sind und in gewisser Verbindung mit der Sphäre stehen«¹⁾; Zellbildungen von welchen wir jedoch sagen müssen, dass wir noch in vollkommener Unkenntnis über ihre Funktionen schweben.

Wir sehen sonach, dass durch die Untersuchungen der letzten Zeit die Kontraste zwischen den drei Hauptanschauungen keineswegs gemildert worden sind, sondern sich, im Gegenteil, eher verschärft haben! Und wir werden auch sehen, dass die Untersuchungen, über welche noch zu berichten ist, keineswegs zu grösserer Harmonie beigetragen, obgleich sie durch neue Methoden und neue Anschauungen die Diskussion vertieft haben. Es sind nämlich nicht weniger als drei, von einander ganz verschiedene neue Verfahrungsweisen aufgetaucht, die fraglichen Bildungen darzustellen und zwei neue Systeme, dieselben zu deuten. Die ersteren sind von Kopsch, Ramon

¹⁾ Im Original gesperrt.

Cajal und Holmgren, die letzteren von Holmgren und v. Bergen eingeführt worden.

Was nun zunächst Kopsch (55) betrifft, so ist die von ihm erfundene Methode zur Darstellung des fraglichen »Binnen-netzes« in den spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen ausserordentlich einfach. Sie besteht nämlich nur darin, das Untersuchungsmaterial in eine 2%ige Osmiumsäurelösung zu legen, die nach längerer Einwirkung (mehrere Tage) allmählich »genau dieselben Bilder wie mit der Methode Golgis oder der Modifikation seines Schülers Veratti« gibt — obgleich nun schwarz gefärbt. Der Wert der neuen Methode besteht lt. Kopsch darin, dass sie verhältnismässig sicher ist, dass sie die grosse Mehrzahl der Zellen färbt, dass sie meistens sehr vollständig die Netze in den Zellen färbt, und dass sie schliesslich die Anfertigung so dünner Schnitte, wie man wünscht, gestattet. — Durch den Schüler Kopschs, Misch (58) ist diese Methode mit Erfolg an zahlreichen Spinalganglien durch die ganze Vertebratserie (ausgenommenen Fische) hindurch versucht worden. Auch er ist in seiner Auffassung mit Golgi einig. Hinsichtlich der rein morphologischen Charaktere der schwarz gefärbten Netzfäden, sieht Misch diese oft als ein mehr oder weniger vollständig geschlossenes Netzwerk — zuweilen jedoch als Bruchstücke eines solchen mit hier und da lobularer Anordnung. — Die Fäden des Netzwerkes sind bei verschiedenen Tieren von verschiedener Dicke, »häufig machen sie einen knotigen Eindruck oder entsenden seitliche Ausläufer, die in keulenförmigen Verdickungen enden«; »bisweilen bestehen die Netzmaschen nicht aus Fäden, sondern setzen sich aus punktartigen Gebilden allein oder aus solchen abwechselnd mit den Fäden zusammen«.

Bilder, analog den Golgischen intracellulären Netzen, behauptet auch Ramon Cajal teils in Pyramidenzellen bei Vertebraten, teils in verschiedenen Zellenarten bei Evertebraten dargestellt zu haben, und zwar mittels seiner neuen »photo-

graphischen« Methode (17). Morphologisch zeigt sich dabei das Netz als aus moliniformen Fäden bestehend, ein Typus, der bei den Evertebraten (*Lumbricus*) so ausgeprägt erscheint, dass man sieht, »qu'il s'agit de cavités plus ou moins spacieuses, unies les unes aux autres par des tubes étroits, très flexueux et rarement anastomosés«. In gewissen Fällen sind die Vacuolen so dilatiert, dass man im Innern derselben einen lichten Raum sehen kann.

Lassen sich sonach die Kopsch-Mischschen und Cajalschen Befunde mit den Golgischen Anschauungen vereinigen, so geht dies dagegen mit Holmgrens späterer Auffassung noch schlechter als mit seinen früheren, oben geschilderten. Wir sehen nämlich, dass Holmgren nicht bei der Anschauung stehen geblieben ist, die wir früher mit seinem Namen bezeichneten, sondern dass er auf Grund erweiterter Beobachtungen und einer neuen Methodik seine Meinung verändert hat, gerade als zahlreiche andere Forscher sich mehr oder weniger offen seinem ersten Standpunkt näherten. Gleichwohl ist dieser sein »Abfall« meines Erachtens nicht so gross, wie es oft — und nicht selten mit tendenziöser Färbung — hervorgehoben wird, sondern man kann sehr wohl das organische Hervorwachsen der neuen Anschauung aus der alten spüren. Wir sehen, dass Holmgren auch in seiner neuen Hypothese an denselben beiden morphologischen Typen der »Kanälchen« festhält, die er früher geschildert hat, dass er gleichfalls fortwährend deren prinzipiell genommen extracelluläre Natur hervorhebt und dass er auch fortwährend von der trophischen Funktion der beobachteten Bildungen überzeugt ist. Eigentlich existiert zwischen Holmgrens älterer und neuerer Anschauung nur ein Unterschied, — wenn auch von sowohl grosser wie prinzipieller Natur — nämlich, dass [wie ihm die Untersuchung am *Helix* (42) gelehrt hat und später nach Holmgrens Ansicht durch seine neue spezifische Trichlormilchsäure - Fuchsin - Resorcin - Methode auch bestätigt

worden ist betreffs Spinalganglienzellen bei Vertebraten] die Kanälchen nicht Teile eines frei verlaufenden Lymphsystemes, sondern vakuolisierte Ausläufer von Zellen sind, die in der Nähe liegen. Diese »Zellen zweiter Ordnung« schicken sonach zahlreiche Ansläufer in die Nervenzellen hinein, diese verzweigen sich und bilden ein reichliches Netz, das augenscheinlich eine trophische Funktion für diese »Zellen erster Ordnung« hat, deren Plasma sie durchsetzen. Die Kanälchen sind sicherlich der Ausdruck eines derartigen trophischen Aktivitätsstadiums und entstehen durch chemische und physikalische Veränderungen in den Maschen der netzbildenden Ausläufer. Das Netz ist sonach ein »Trophospongium«, die Kanälchen »Trophospongienkanälchen«, die netzbildenden Zellen »Trophocyten«. — In zahlreichen Arbeiten hat Holmgren später diese Auffassung verfochten. Ich verweise zwecks näherer Studien derselben auf die klare und leicht übersichtliche Darstellung, die er am Schlusse einer grösseren Abhandlung im vorigen Jahre (49) giebt.

Derart war die Sachlage, als ich meine Versuche begann die fraglichen Bildungen etwas zu analysieren. Seitdem hat inzwischen v. Bergen (9) eine eingehende Studie über diese Zellstrukturen herausgegeben, die ich schon jetzt erwähnen will. Ich tue dies um so lieber, als ich glaube, dass es die Diskussion meiner mit gleichen Methoden vorgenommenen Untersuchungen erleichtern wird, wenn ich sie direkt in Vergleich mit den v. Bergenschen bringe. Die Beobachtungen und Ansichten, welche wir gemeinsam haben, glaube ich durch derartige Hinweisungen auf Übereinstimmungen in grösserer Kürze mitteilen zu können, während ich mich dadurch mehr in die Gebiete vertiefen kann, wo meine Beobachtungen und Auffassungen von dem v. Bergenschen divergieren. Ich will dabei zeigen, wie die Beobachtungen und Experimente, welche durch diese Diskussion veranlasst wurden, mich schliesslich zu Resultaten führten, die mit den von Bergenschen allerdings in einigen Punkten über-

einstimmen, aber in anderen und zwar in solchen von grösster Wichtigkeit, von ihnen grundverschieden sind.

v. Bergen bedient sich besonders der Kopsch'schen Osmiumsäuremethode und seine Arbeit zerfällt in drei Hauptgruppen: 1) Konstatierung, dass diese Osmiumnetze in so gut wie allen Zellenarten dargestellt werden können, 2) Hervorhebung gegenüber Holmgren, dass das Osmiumnetz ganz und gar intracellulär ist und 3) Bildung einer neuen Hypothese betreffend dieses Netz. Dieser letzte Teil der v. Bergenschen Arbeit ist es, den ich nun etwas ausführlicher referieren möchte.

»Beim Streben danach, eine Deutung für diese Struktur-bilder zu finden,« sagt v. Bergen, »muss einer Tatsache grundlegende Bedeutung zuerkannt werden, der nämlich, dass diese Bildungen fast niemals in allen Zellen einer und derselben Zellenart vorkommen«, und er glaubt Dank der »einfachen Handhabung« der angewandten Kopsch'schen Methode und der »Klarheit der mit ihr gewonnenen Bilder«, zu der Annahme berechtigt zu sein, dass dies ein direkter Ausdruck dafür ist, dass auch in dem lebenden Materiale »derartige Netzapparate nicht gleichzeitig in allen Zellen innerhalb eines und desselben Organs vorkommen«. Man kann, fährt v. Bergen fort, sich dann zwei Möglichkeiten denken: a) dass es 2 verschiedenen gebaute Zellentypen giebt — Zellen mit und Zellen ohne Netzapparat — oder b) dass die Bildungen nicht, wie man sich früher dachte, permanent, sondern vielmehr transitorisch sind, »dass sie bloss temporäre Existenz haben, im Verlaufe des Zellendaseins entstehen und verschwinden können.« v. Bergen schliesst sich unbedingt dieser letzteren Möglichkeit an und dies umsomehr, als er behauptet, sowohl »Entstehungsbilder« wie »Schwundbilder« der Netze konstatiert zu haben. Nach ihm sollten wir es also mit einem cyklischen Verlaufe zu tun haben, wobei die Netzapparate erst als feine Körnchen entstehen; diese ordnen sich in kürzere und später in längere Reihen, die Körnchen-

reihen verschmelzen zu Fäden, welche auf dem Gipfelpunkt der Entwicklung der fraglichen Bildung ein mehr oder weniger vollständiges Netz bilden. Die regressive Phase würde in Bildern bestehen, wo das Netz nicht mehr oder nur teilweise im Stande ist die Osmiumsäure zu reduzieren, und man sonach anstatt eines schwarzen Netzes nun lichte Züge derselben Anordnung wie die des Netzes sieht; schliesslich muss man annehmen, dass die röhrenförmigen Lücken, die durch diese vitalen Veränderungen im Zellenprotoplasma zurückbleiben, allmählich durch Resorption ihres Inhalts schwinden — der Cykel ist abgeschlossen, wir haben wieder eine Zelle ohne Netzapparat.

Ich kann nicht unterlassen, den Eindruck der Einfachheit und des Bindenden in v. Bergens oben angeführter Beweisführung hervorzuheben, den man beim Lesen seiner Arbeit erfährt, und es ist sehr möglich, dass ich es nicht der Mühe wert gefunden hätte, mich gegen diese Beweisführung zu opponieren, wenn ich nicht schon, als v. Bergens Abhandlung zuerst erschien (Aug.—Sept. 1904 in den Verhandlungen der »Upsala läkaresällskap«; die deutsche Übersetzung erschien erst später im Archiv f. mikr. Anat.) in meinen eigenen Untersuchungen schon so weit gekommen wäre, dass ich schon damals die Auffassung hegte, dass die von v. Bergen so gepriesene Kopschsche Osmiummethode allerdings schöne Bilder gäbe, ihr aber doch ein ganzer Teil Eigenheiten anheftete, welche bewirken müssen, dass man auf den verschiedenen Bildern, die man mit dieser Methode erhält, nur mit grösster Vorsicht solche Lehrsätze, wie die v. Bergenschen, aufbauen kann. Die Experimente, welche ich schon damals machte, und welche ich später des Weiteren verfolgt habe, haben mich auch darin immer mehr bestärkt; sie haben meiner Meinung nach einen Einblick in die Einwirkungsweise der Osmiumsäurelösung gestattet, und die Kenntnisse, die ich dadurch erhalten habe, haben mich zu einem von den v. Bergenschen Ansichten verschiedenen Resultate

geführt, indem es mir, gestützt auf die ausgeführten Experimente, auf theoretischem Wege gelungen ist, mich zu einer Methode hervorzarbeiten, die — wenigstens bei dem angewandten Materiale — stets schwarzgefärbte Netze in sämtlichen der vorhandenen Zellen darstellt und wo man sonach konstant »Zellen ohne Netzapparat« wie die sog. Entstehungs- und »Schwundbilder« des Netzes vermisst.

Wenn ich nun schliesslich zu dieser Historik hinzufüge, dass Marengi (57) Golgische Netze in den Hautzellen der *Ammocoetes* gefunden hat und während der verschiedenen Funktionszustände der Zellen verschiedenes Aussehen dieser Netze sehen will, und dass ausserdem Goldschmidt (28) im Anschluss an eine Zahl Beobachtungen bei *Askaris* einen zwar ziemlich hypothetischen aber doch ausserordentlich interessanten Versuch vorgenommen hat, verschiedene im Cytoplasma beobachtete Strukturen — darunter auch Golgis, Ballowitz' und Fürsts obenerwähnte Funde — zusammenzuführen, so glaube ich damit die wichtigsten Daten der hier diskutierten Funde in den Nervenzellen erwähnt zu haben. Ein etwas ausführlicheres Eingehen auf die Goldschmidtsche »Chromidial-Apparat«-Hypothese will ich aufschieben, bis ich über die faktischen Resultate meiner eigenen Untersuchungen berichtet habe und an den Betrachtungen mehr allgemeiner Art angelangt bin, zu welchen diese Veranlassung geben. Ich gehe also nun zu einer Beschreibung meiner eigenen Untersuchungen über.

II.

Bei meinen Untersuchungen habe ich als Material die Spinalganglien der Hühner gewählt und zwar aus zwei Gründen. Erstens einmal ist es von Kopsch und Misch besonders hervorgehoben worden, dass der Unterschied, den sie beständig zwischen den Osmiumnetzen und den Holmgrenschens Kanälen

sehen wollen, nirgendswo so auffallend ist, als gerade bei den Vögeln, wo die letzteren oft »kolossale Dimensionen« annehmen, während die ersteren ausserordentlich fein sind. Nun will ja auf der andern Seite Holmgren, teils gestützt auf die Resultate, die seine Trichlormilchsäure-Fuchsin-Resorcin-Methode ergibt, teils auf Grund eigener und anderer (Retzius, Smirnow) Untersuchungen mit Golgis Methode (siehe z. B. Holmgren [47]) einen deutlichen Zusammenhang zwischen diesen beiden Bildungen sehen, und es erschien mir dann a priori am leichtesten zu beurteilen, welche der beiden Ansichten die richtige ist, wenn ich gerade das Material als Untersuchungsobjekt wählte, durch welches der eventuelle Unterschied am deutlichsten zutage trete. — Anderseits habe ich dieses Untersuchungsmaterial deswegen gewählt, weil es eben bei Hühnern ja besonders leicht ist, genügendes Material zu erhalten, um der Entwicklung der fraglichen Bildungen von den jüngsten Embryonen an bis zu den erwachsenen Tieren hinauf zu verfolgen. Und da es, abgesehen von den speziellen Untersuchungen Fürsts und den mehr vereinzeltten Beobachtungen Smirnows, nur Golgi ist, der der Ontogenese dieser Bildungen ein etwas näheres Studium gewidmet hat, so habe ich schon von Anfang an meine Untersuchungen hierauf eingerichtet.

Die Methode, die ich ebenso wie v. Bergen hauptsächlich angewendet habe, ist die Kopschsche Osmiumsäuremethode gewesen. Man kann, meine ich, Kopsch nicht genug dankbar sein, dass er uns diese Methode geschenkt hat, denn sie hat gegenüber sowohl der Golgischen Methode wie der Holmgrenschen Trichlormilchsäure-Methode zwei ausserordentlich wichtige Vorzüge; sie ist teils besonders einfach, teils leicht berechenbar in ihren Resultaten, und diese beiden Tatsachen sind beinahe unumgänglich notwendig, wenn man, wie ich es versucht habe, sich an eine fixierungs-technische Analyse heranwagen will. In diesem Zusammenhange will ich jedoch auf eine

Tatsache hinweisen, die jedenfalls mit grösserer Schärfe hervor-
gehoben werden muss, als es bisher geschehen ist; ich meine:
der grosse Einfluss, den die Temperatur auf die Zeit für den
Eintritt der Osmiumfärbung ausübt. Wir sehen, wie Kopsch
findet, dass die Osmiumnetze schon nach 5 Tagen auftreten
und meistens nach 8 Tagen den Höhepunkt ihrer Deutlichkeit
erreichen, während v. Bergen im allgemeinen 10—12 tägige
Einwirkung für empfehlenswert ansieht, und Misch mitteilt,
dass er die besten Resultate nach einer 19--22 tägigen Ein-
wirkungsdauer erzielt hat. Misch ist der Meinung, dass
Temperaturdifferenzen die »wahrscheinliche Ursache« derartiger
Verschiedenheiten sind, und es ist auch sehr leicht, sich davon
zu überzeugen, in welch hohem Grade Temperaturverhältnisse
hier eine Rolle spielen. Behandelt man bei 35° C. mit der
Kopsch'schen Osmiumsäurelösung, so tritt Färbung schon nach
2—3 Tagen ein und nach 5—6 Tagen sind sämtliche Zellen
ganz undurchsichtig schwarz gefärbt. Lässt man die Osmium-
säure bei einer konstanten Temperatur von 23° C. einwirken,
so erhält man nach 8—10 Tagen schöne Färbungen, und bei
sinkender Temperatur verlängert sich die Zeit für den Erhalt
solcher ausserordentlich, so dass ich während der Wintermonate,
wo die Temperatur im Laboratorium nachts meistens unter 15° C.
fiel, die Osmiumsäure oft 30—40 Tage einwirken lassen musste
und doch nur recht dürrtge Färbungen erhielt. Lässt man
schliesslich die Osmiumsäure bei noch niedrigerer Temperatur
(7—5° C.) einwirken, entstehen noch nach 2½ monatlicher Ein-
wirkung keine Netzfärbungen. Ich betone dies, weil ich, nach
den vorgehenden Beschreibungen zu beurteilen, solch grosse
Differenzen kaum erwartete, und ich will dies umsomehr hervor-
heben, als ich selbst durch diese Variationen unangenehm über-
rascht worden bin. Ich hatte nämlich während des Sommers
mit gutem Resultate die Zeit berechnet, wann eine gute Netz-
wirkung zu erwarten war und glaubte, gegen den Herbst zu,

diese Zeit nur etwas verlängern zu brauchen, um ebenfalls sichere Resultate zu erhalten. Darin täuschte ich mich jedoch und erhielt mehrmals Resultate, durch welche ich, anstatt der zahlreichen Färbungen, nur spärliche solche erhielt und deswegen auch die Richtigkeit der Überlegung zu bezweifeln anfang, die hinter den gemachten Experimenten steckte. Es zeigte sich jedoch später, dass die spärlichen Färbungen ihren Grund in der zu kurzen Einwirkung der Osmiumsäure hatten. — Das beste ist sonach, die Osmiumsäure bei konstanter Temperatur einwirken zu lassen und so habe ich auch während der letzten Zeit getan, indem ich für meine Osmiumfärbungen stets einen Thermostat anwandte, der auf 23° C. eingestellt war; dass ich diese Temperatur einer höheren von z. B. 35° C. vorgezogen habe, hat seinen Grund darin, dass man bei der letzteren leicht eine Überfärbung erhält, so dass die Zellen undurchsichtig schwarz werden.

Zieht man jedoch auf diese Weise den Einfluss der Temperatur mit in die Berechnung, so hat man sich eigentlich nur einer — übrigens schon von Misch und v. Bergen berührten — Tatsache der Osmiumsäurebehandlung zu erinnern, nämlich, dass man — wenigstens während der ersten Tage der Einwirkung der Osmiumsäurelösung — dieselbe nicht stehen und »schlecht« werden, d. h. in vitro reduzieren lässt, so dass ihre Konzentration allzuviel sinkt. Die Resultate, die man dann erhält, werden nämlich — worauf ich später zurückkommen werde — gewissermaßen andere, als es sonst der Fall gewesen wäre. Nach Verlauf von ein paar Tagen dagegen habe ich keinen andern Einfluss einer solchen Verschwächung der Lösung bemerken können als den, dass die Osmiumschwärzung des Netzes — nach Überführung der Präparate in eine neue Lösung — augenscheinlich schneller auftritt, als wenn die Präparate während der ganzen Zeit einer Lösung von unverminderter Stärke ausgesetzt werden. Es ist dies eine Beobachtung, die ich gelegent-

lich einiger hier später zu erwähnenden Versuche — die ich zu andern Zwecken machte — noch deutlicher machen konnte; Versuche, bei welchen ich die Ganglien während verschieden langer Zeit den Einwirkungen der Osmiumsäure aussetzte, sie darauf eine Zeit lang (Tage) im Wasser liegen liess und sie schliesslich wieder von dort in eine Osmiumsäurelösung überführte.

Auf diese Art habe ich mich sonach der Kopschschen Osmiumsäure-Methode bedient. Was nun aber die Variationen betrifft, die ich zu experimentellen Zwecken mit derselben vorgenommen habe, will ich auf die unten folgenden Beschreibungen dieser Experimente verweisen; diese Variationen stehen nämlich in einem solchen Zusammenhang mit den speziellen Zwecken dieser verschiedenen Experimente, dass sie am besten gleichzeitig mit diesen beschrieben werden. Nach der Osmiumsäurebehandlung habe ich die Ganglien in fliessendem Wasser ausgewaschen, in Paraffin eingebettet, und sie darauf in 5- μ -Serien zerteilt.

Im übrigen habe ich mich der Golgischen Methode in der Form bedient, welche dieselbe durch die Modifikation Verattis erhielt und konnte mich, im Gegensatz zu v. Bergen, guter Resultate erfreuen und zwar sowohl während der embryonalen Periode wie später.

Mit der Holmgrenschen Trichlormilchsäure-Resorsin-Fuchsin-Methode habe ich dagegen keinen Erfolg gehabt. Ich sehe mich daher genötigt, mich bei der Diskussion der von Holmgren mit dieser Methode gewonnenen Resultate teils auf Holmgrens eigene Abbildungen und teils auch auf die Möglichkeiten für Schlussfolgerungen zu stützen, welche die Resultate mit den anderen Methoden ergeben haben.

Schliesslich habe ich verschiedene der gewöhnlichen Fixierungs- und Färbungsmethoden angewendet. Da diese jedoch hier eigentlich zur Diskussion der embryonalen Ganglienzellen-

struktur — besonders der Zentralkörperchenfrage — angewendet wurden, so verweise ich auch was diese Methoden betrifft, auf die später folgende spezielle Beschreibung.

Also: die Golgi-Verattische und vor allem die Kopschische Methode habe ich besonders verwendet und mit beiden, besonders der Kopschischen ist es meiner Auffassung nach sehr leicht, schöne Bilder zu erhalten. Ehe ich jedoch auf eine detaillierte Beschreibung der morphologischen Bilder eingehe, will ich meine Stellung zu der Kardinalfrage markieren: sind die Binnennetze gänzlich intrazellulär oder stehen sie mit einem extrazellulären Elemente irgend welcher Art in Verbindung.

In der Tat könnte ich mich in dieser Frage sehr kurz äussern und zwar indem ich, wie v. Bergen, ganz einfach der Auffassung zustimme, welche die Erfinder der beiden Methoden hegen, und erklären, dass auch ich vergebens nach irgend welcher Verbindung zwischen den Golgi-Kopschischen Netzen und einigen extrazellulären Elementen gesucht habe. Aber ich glaube, es kann nicht schaden, eine solche Behauptung etwas näher zu verdeutlichen. Wenn wir nämlich das grosse Beweismaterial betrachten, welches Holmgren zusammengeführt hat, um seine Trophosphongienhypothese zu beweisen, so finden wir, dass dieses in zwei grosse Gruppen zerfällt. Holmgren will einerseits eigentümliche Verbindungen zwischen gliösen Elementen und den grossen Ganglienzellen bei einigen Evertibraten (47—49) und niederen Vertibraten (z. B. *Lophius* [44, 48, 49]) sehen, andererseits findet er entsprechende Verhältnisse auch bei höheren Vertibraten. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist der, dass die postulierte Verbindung bei den letzteren sich nur durch spezielle Methodik nachweisen lässt, während die Verbindungen bei den ersteren auch mittelst der gewöhnlichen Methoden hervortreten. Es ist nun durchaus nicht meine Absicht, die Richtigkeit der Holmgrenschen Auffassung hinsichtlich der Funde bei Evertibraten und bei *Lophius* zu verleugnen. In Wirklichkeit bin ich

vielmehr der Überzeugung, dass gliöse Elemente hier in unverkennbarer und naher Verbindung mit den Ganglienzellen stehen, und ich habe selbst Gelegenheit gehabt, durch ein paar der Holmgrenschen Originalpräparate diese Auffassung weiter zu festigen. Wir finden auch, dass andere Verfasser, unabhängig von Holmgren, analoge Verhältnisse beobachtet haben. Bochanék (13) beschreibt solche in den Ganglienzellen gewisser Gastropoden (ich verweise auf die Abbildung, die van Gehuchten (27) von einer solchen Zelle bringt), und auch Prenant (62) bildet eine sehr hübsche ähnliche Verbindung an einer analogen Ganglienzelle ab (S. 399). Allerdings ist nun Holmgren entschieden dagegen aufgetreten, dass sein und Bochanéks Fund analog sein solle (44), aber es scheint mir, als ob es eher die Deutung der Funde als die Funde selbst wären, denen die Divergenz gilt. Bochanék will nämlich augenscheinlich — wenigstens nach van Gehuchten's Referat zu urteilen — als seine Meinung hervorheben, dass trotz einer deutlichen nahen Relation zwischen Ganglien- und Kapselzellen, diese Relation doch nur zu bedeuten habe, dass die Kapsel der Ganglienzellen einen unregelmässigen Verlauf hat, oft tiefe Einbuchtungen zeigt, welche dann von Kapselzellen ausgefüllt werden, ohne dass jedoch die Kapsel dadurch ihre Kontinuität verliert, und dass das Ganze also nur der Aufgabe zu dienen hat, bei diesen Riesenzenellen »die Oberfläche des Zellkörpers zu vergrössern und die für die Erhaltung des Lebens der Nervenzelle notwendigen osmotischen Prozesse zu erleichtern.« Holmgren dagegen will eine bedeutend intimere Relation erblicken; die protoplasmatischen Ausläufer der Kapselzellen sollen nach ihm in unmittelbarem Rapport mit dem Ganglienzellenplasma treten und von viel grösserer direkter Bedeutung für die Ganglienzellen sein — nämlich für deren Ernährung. Sie bilden sonach, nach Holmgrens Meinung, ein wirkliches Trophospongium.

Ob nun diese Holmgren'sche Auffassung — welcher sich gewissermaßen auch Held (37) zuneigt — die richtige ist, oder ob Bochanék-van Gehuchters einfachere Erklärung den wirklicheren Verhältnissen mehr entspricht, will ich für meinen Teil dahingestellt sein lassen; was ich aber bestimmt hervorheben will, ist, dass, auch wenn Holmgrens Auffassung richtig ist, wir dadurch jedoch keineswegs das Recht haben, auf Grund dieser Evertbratfunde irgend welche Schlussfolgerungen betreffend die Ganglienzellen der höheren Vertebraten zu ziehen. Eine solche Schlussfolgerung setzt Beweise voraus, die von diesen Tieren selbst geholt worden sind, und solche sind meines Erachtens noch nicht da.

Betrachten wir nämlich die Gründe, auf welche sich Holmgren bei seiner Annahme einer Verbindung zwischen dem Golgi-Kopsch'schen Netze und gewissen extrazellulären Elementen auch bei höheren Vertebraten stützt, so sind diese zwar grossenteils in den Resultaten zu finden, die er mit seiner Trichlormilchsäure-Resorcin-Fuchsin-Methodik erhalten hat, aber er glaubt, auch durch die Golgi'schen und Kopsch'schen Methoden Beweise in derselben Richtung zu erhalten und hinsichtlich der Resultate der beiden letztgenannten Methoden, habe ich also Gelegenheit gehabt, seine Angaben zu prüfen. Holmgren ist nämlich der Ansicht, auch mit diesen Methoden Teile des gefärbten Netzwerkes gefunden zu haben, die bis zur Zellenperipherie vordringen. Sind derartige Verbindungen nun anzutreffen? — Meine Antwort darauf ist, dass wir nicht absolut verleugnen können, dass hier und da einmal ein Teil des Netzwerkes bis zur Zellenperipherie reicht, und ich muss sagen, dass ich in Übereinstimmung mit Retzius (64) nicht immer finden kann, dass die Netze mit der Golgi'schen Methode sich peripherisch so scharf abgrenzen, dass man konstant — wie Golgi behauptet — eine von Netzteilen freie, periphere Zellenzone beobachten kann. Dasselbe gilt meiner Meinung nach hinsicht-

lich der Osmiumnetze. Allerdings trifft man besonders bei jüngeren Tieren zahlreiche solche Netze, wie sie von Bergen auf Fig. 2 abbildet und als Paradigmata der Netzanordnung zu betrachten scheint, aber oft gehen die Netzfäden so nahe der Peripherie, dass man nicht selten geneigt ist, anzunehmen, dass sie dieselbe in Wirklichkeit erreichen.

Indessen muss ja zugegeben werden, dass auch ein derartiger Verlauf keineswegs gegen den lediglich intrazellulären Charakter der Netze zu streiten braucht, und wir sehen, dass Holmgren (47) auch nach anderen Beweisen für seine Ansicht gesucht hat, indem er darauf hinweist, dass auch die Kapselzellen — die Zellen, deren Ausläufer nach Holmgrens Meinung das Trophospongium bilden sollen — bei Anwendung von Osmiumsäure eine schwarze Färbung annehmen. Das ist ohne Zweifel richtig, und ich kann diese Angabe sogar vervollständigen, indem es mir im Gegensatz zu Holmgren gelungen ist, auch mit der Golgi-Veratti-Methode einzelne Kapselzellen gleichzeitig mit den Netzen zu färben und dabei Bilder zu erhalten, bei welchen es nahe liegen konnte, einen Zusammenhang zwischen diesen zu vermuten (Fig. 11). Indessen habe ich an diesen Bildern beständig einen, wenn auch oft sehr feinen Zwischenraum zwischen Kapselzellen und Netzteilen konstatieren können. Was nun die Fähigkeit der Kapselzellen sich mit Osmiumsäure zu schwärzen betrifft, so kann man dabei einige nicht unwesentliche Eigentümlichkeiten wahrnehmen. Zwar nehmen die Kapselzellen nicht selten eine diffuse dunkle Färbung an, aber in diesen Fällen ist die Farbe nicht schwarz, sondern bräunlich und die Zellen noch durchsichtig. Wenn jedoch eine Schwarzfärbung eintritt, so kommt sie, insofern ich es gefunden habe, beständig in Form diskreter Körnchen oder kurzer Fäden vor (Fig. 9). Die Osmiumnetze der Ganglienzellen dagegen weisen niemals eine solche Einteilung in bräunliche und schwarze Teile auf. Zweitens kann man finden, dass der Konzentrations-

grad der Osmiumsäure auf ganz andere Weise auf die Färbbarkeit der Kapselzellen einwirkt als auf die der Netze; während — wie wir sehen werden — eine 0,5%ige Osmiumsäurelösung in der Regel zahlreichere Netze färbt als eine 2%ige, kann man mit der schwächeren Lösung beinahe niemals eine Kapselzellenfärbung erreichen. Schliesslich herrscht ein augenscheinlicher Mangel an Parallelismus zwischen Kapselzellenfärbung und Färbung der Netze in den entsprechenden Ganglienzellen. Die einen sind oft gefärbt, ohne dass die anderen es sind, und man kann hier und da auf Zellen stossen, deren Netzwerk in dem einen Teile der Zelle gefärbt ist, während man gerade um die entgegengesetzten Zellenteile herum eine Kapselzellenfärbung konstatieren kann.

Ich nehme als höchst wahrscheinlich an, dass sämtliche diese Differenzen zwischen Kapselzellen und Netzen gegen eine intimere Verbindung zwischen ihnen sprechen. Holmgren (47), der ebenfalls einen Teil dieser Eigentümlichkeiten konstatiert hat, schreibt sie jedoch der Variabilität der Methode zu, und man muss ja auch zugeben, dass solange wir keine zuverlässigen Kenntnisse von denselben besitzen, eine derartige Annahme natürlicherweise nicht ausgeschlossen werden kann, wenn sie auch nicht besonders wahrscheinlich ist.

Was mir jedoch als ein hinreichender Beweis für die durchaus intrazelluläre Natur der Netze erscheint, ist das Osmiumbild der embryonalen Ganglienzellen. Golgi (31), der zuerst die Netzbildungen bei embryonalen Nervenzellen untersucht hat, findet, dass »dans ce tade, l'appareil se présente d'ordinaire sur un point excentrique des cellules, à côté du noyau, lequel semble déplacé et poussé dans la partie opposée du corps cellulaire«; und später hat Holmgren (43) und auch Fürst (23, 24) ähnliche Anordnung gefunden. In Wirklichkeit tritt nun diese typische Anordnung wenn möglich noch schöner nach der Osmiumsäurebehandlung zu Tage und kann mit der

unveränderten Kopsch'schen Methode von Hühnchenembryonen von 8 Tagen an durch die ganze spätere embryonale Entwicklung hindurch verfolgt werden (Fig. 21 und 25). Der Kern liegt konstant exzentrisch und dicht neben ihm — sich in der grössten Protoplasmamasse ausbreitend — liegt die schwarzgefärbte Netzbildung, auf deren nähere Morphologie ich im Zusammenhang mit den übrigen morphologischen Beschreibungen des fernerer zurückkommen werde. Was ich jedoch schon jetzt hervorheben will, ist, dass, besonders wenn die Zellen eine gewisse Grösse erreicht haben (z. B. bei 13—16 Tage alten Embryonen) es deutlich ist, dass diese schwarzgefärbte Bildung sich zentral im Zellenplasma befindet und von der Zellenperipherie beständig durch eine deutliche, lichte Plasmaschicht geschieden ist. Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Beobachtung finde ich auch in einer Äusserung Golgi's (31), dass gerade bei jungen Zellen — mit der Golgi'schen Methode — die peripherische freie Zone bedeutend deutlicher ist, als bei älteren. Dieses typische Bild ist es, das mich mehr als irgend etwas anderes von dem intrazellulären Charakter der Osmiumnetze überzeugt hat.

In der Tat kann gegen diesen Befund nur ein Einwand erhoben werden — und dieser ist auch von Holmgren (47) ausgesprochen worden. Er hat nämlich den bestimmten Eindruck gewonnen, dass die Färbbarkeit mit Osmiumsäure ausschliesslich an gewisse funktionelle Zustände gebunden ist, und wenn wir nun annehmen dürfen, dass die Teile der Kapselzellen, welche den lebhaftesten Stoffwechsel haben, gerade die Trophospongien [d. h. die netzförmig verzweigten Ausläufer innerhalb der Ganglienzellen] sind, so »ist es leicht begreiflich, dass sie durch eine etwaige Behandlung separat von den ihnen zugehörenden Zellkörpern zur Anschauung gebracht werden können.« Es solle sonach eine Verbindung existieren, obgleich die Osmiumreaktion auf Grund ihrer Unvollständigkeit dieselbe nicht darstellen könne. Ich glaube jedoch, dass es aus meiner

Untersuchung mit voller Klarheit hervorgehen wird, dass diese theoretische Schlussfolgerung nicht stichhaltig ist. Die Färbbarkeit mit Osmiumsäure hat — wie wir sehen werden — ihren Grund in etwas ganz anderem.

Während dieser Diskussion über den intrazellulären Charakter der Netzbildungen will ich des ferneren nur noch eine Sache hervorheben, die ich einer Erwähnung besonders wert erachte, nämlich dass v. Bergen in weissen Blutkörperchen osmiumgefärbte Netze gefunden hat. Wenn man nun auf Grund einer solchen Reaktion wie der Osmiumreduktion das Recht hat, zwei Bildungen mit recht ähnlichem Aussehen zu identifizieren, so ist es ja klar, dass dieser Befund der denkbar exakteste Beweis ist, dass die Netze mit keinen extrazellulären Elementen in Verbindung stehen. Ich für meinen Teil bin lebhaft von der Berechtigung einer derartigen Identifizierung überzeugt, aber auch wenn dies sich als falsch herausstellen würde, glaube ich durch das hier oben Erwähnte das Recht zu haben, trotz gewisser Abweichungen von dem Golgi-Kopschischen Schema für die Anordnung dieser Netzstruktur, mit Bestimmtheit an der Auffassung von derselben als »une particularité d'organisation tout à fait interne des cellules nerveuses« festzuhalten.

Wenn ich nun zu einer näheren Betrachtung der verschiedenen morphologischen Variationen, welche der Netzapparat besonders in den mit Osmiumsäure behandelten Präparaten aufweist, und zu der gegenseitigen Beziehung dieser Variationen übergehe, so glaube ich, wie schon vorher erwähnt, dies am besten zu tun, indem ich einen direkten Vergleich zu der klaren Schilderung ziehe, die v. Bergen gibt. Ich erinnere also zunächst daran, dass er neben mehr oder weniger geschlossenen Netzen gewisse Bilder sehen will, die er als Vorstadien zu Netzapparaten deutet, nämlich osmiumgeschwärzte Körnchen, die teils diffus im Zellenplasma liegen, teils sich zu deutlichen Körnchenreihen ordnen, welche in einer Anzahl Zellen mit

wirklichen Fäden abwechseln können und deren Lage nicht selten an die des ausgebildeten Netzapparates erinnert. Ich brauche, mit Rücksicht auf die ausführliche Beschreibung v. Bergens nicht auf eine weitere Schilderung darüber eingehen, denn betreffend das Vorkommen dieser verschiedenen Zellenbilder bin ich mit ihm völlig einig. Der Deutlichkeit wegen, bilde ich jedoch einige dieser verschiedenen Zellenbilder ab, weil es in der Folge leichter sein wird, auf eine bestimmte Figur zu verweisen, als sich nur auf eine Beschreibung zu stützen (Fig. 1—3).

— Doch kann ich es nicht unterlassen, näher auf die interessanten, entsprechenden Variationen einzugehen, welche das Osmiumbild in embryonalen Spinalganglienzellen aufweist; diese sind ja nämlich vorher niemals geschildert worden (Fig. 21 und 25). Ich habe oben die charakteristische Lage betont, welche das Osmiumgeschwärzte während der embryonalen Periode einnimmt. Der Zellenkern liegt nämlich, so gut wie konstant, stark peripherisch, und in unmittelbarer Nähe der zentralen Partie des Kernes liegt die fragliche Bildung in der grössten Protoplasmamasse. Der Zellenkern zeigt hier und da sogar eine Einbuchtung seines zentralen Teiles, wobei es ganz und gar aussieht, als ob diese Einbuchtung von der osmium geschwärzten Bildung verursacht wäre. Diese letztere zeigt nun den allgemeinen Charakter, dass sie bei genügend intensiver Färbung das Aussehen eines in peripherischer Richtung gut abgegrenzten dunklen Balles hat, der bei 8 Tage alten Embryonen ungefähr $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ Teil der Oberflächengrösse des Kernes ausmacht, bei 13-tägigen Embryonen ziemlich gleich gross mit dem Kerne ist, um später grösser als dieser zu werden. Neben diesen allgemeinen Charakteren hinsichtlich Lage und Aussehen, gibt es nun jedoch eine Zahl Variationen, die ich in allen untersuchten, embryonalen Ganglien beobachten konnte. Es ist nämlich leicht zu konstatieren, dass der beschriebene dunkle Ball aus zwei verschiedenen Teilen besteht, wovon der

eine seinem Aussehen nach konstant, der andere variierend ist. Der erstere bildet sozusagen die Grundsubstanz der Bildung, verleiht dem Balle den homogenen, grauschwarzen Farbenton, welchen dieser mehr oder weniger ausgeprägt annimmt, und kann nicht selten in sämtlichen Zellen eines Ganglions konstatiert werden. Der letztere scheint eine Ausdifferenzierung innerhalb dieser Grundsubstanz zu sein, wird oft vermisst, tritt zuweilen als intensiv schwarz gefärbte, mehr unregelmäßig zerstreute Körnchen auf, und bildet, wenn er am meisten ausgeprägt erscheint, ein mehr oder weniger zusammenhängendes Netz, welches ebenfalls intensiv schwarz gefärbt ist, sich bestimmt von dem helleren Grundton des Balles abhebt und sich mit Vorliebe an den peripherischen Rand des Balles lagert. Es ist offenbar, dass diese körnige oder netzbildende »Ausdifferenzierung« dasselbe ist wie die vorher beschriebenen Osmiumnetze während der postembryonalen Zeit. Wir sehen also auch während der embryonalen Zeit dieselben »Vorstadien« zum Netze wie später, in Form von Körnchen und Körnchenreihen.

v. Bergen will jedoch, wie schon vorher erwähnt, nicht nur Entwicklungs- oder Vorstadien zu den Netzen sehen, sondern auch regressive Veränderungen derselben und bei diesem Teile seines Fundes müssen wir uns etwas ausführlicher aufhalten. Sowohl in Ganglienzellen, die mit gewöhnlichen Methoden fixiert und gefärbt waren, wie auch in solchen, die mit der Kopschschen Osmiumsäuremethode behandelt waren, hat v. Bergen helle Züge gefunden, die er bestimmt in zwei verschiedene Gruppen teilt: der erste Typus (s. meine Fig. 13 u. 16) zeigt dieselbe Anordnung wie die schwarzen Osmiumnetze, und die Übereinstimmung mit diesen letzteren soll ferner dadurch gestützt werden, dass man in oder an der einen Kante derartiger lichter Kanälchen bei Osmiumsäurebehandlung noch zuweilen Reste des schwarzen Netzes in Form feiner, schmaler, schwarzer Fäden sieht. Der andere Typus dagegen (s. meine Fig. 14 u. 15) soll

eine solche Ähnlichkeit nicht aufweisen, aus oft unregelmäßig verlaufenden gröberen oder feineren, zuweilen beinahe spaltenähnlichen Kanälchen bestehen und nicht selten »an der freien Oberfläche der Zelle sich nach aussen öffnen«. — Es ist unzweifelhaft, dass diese beiden Typen den beiden, früher von Holmgren gesehenen und später von Bethe, Studnička und mir konstatierten vollständig entsprechen, und ich verweise hinsichtlich dieser Vorläufer v. Bergens auf meine Historik. Betreffend die v. Bergensche Auffassung dieser beiden Typen, so ist er überzeugt, dass die Kanälchen des ersten Typus, die man mit der Osmiumsäuremethode sehen kann, in ihrer Lokalisation nicht nur den schwarzen Osmiumnetzen entsprechen, sondern auch, wie schon früher erwähnt, wirkliche Ausdrücke für regressive Veränderungen dieser Netze sind, die während des Lebens vor sich gehen. Die Kanälchen des zweiten Typus betrachtet er dagegen ganz einfach als reine Kunstprodukte, und den Beweis dafür findet er dadurch erbracht, dass man bei interstitiellen Hodenzellen derartige Kanälchen bei einer Fixierungsmethode (Zenkers Flüssigkeit) konstant erhalten kann, während man sie bei einer anderen (Hermanns) ebenso konstant vermisst.

In Betreff meiner eigenen Beobachtungen derartiger verschiedener Kanälchen bei mit Osmiumsäure behandeltem Material, will ich zunächst anführen, dass solche des zweiten Typus oft genug angetroffen werden. In Übereinstimmung mit v. Bergen muss ich zu dem Resultate kommen, dass irgendwelcher morphologischer Zusammenhang zwischen diesen oft ungleich breiten, ritzenähnlichen Kanälen und den die Osmiumnetze bildenden feinen Fäden nicht existiert. Auch glaube ich Beweise gefunden zu haben, dass die v. Bergensche Analogie-Schlussfolgerung von den interstitiellen Hodenzellen richtig ist. Da derselben jedoch am besten nach dem Bericht über einige Experimente, die ich vorgenommen habe, Erwähnung getan wird, schiebe ich ein

näheres Eingehen auf dieselben auf und will nun nur anführen, dass man schon während der gewöhnlichen Kopsch'schen Behandlung eine Anordnung dieser Kanäle verspüren kann, welche ohne Zweifel von grossem Interesse ist. Es ist nämlich augenfällig, dass sie zahlreicher und voluminöser in Zellen vorkommen, wo es kein gefärbtes Osmiumnetz gibt (siehe Holmgrens [47] gleichartige Beobachtung) oder nur einzelne Fäden eines solchen konstatiert werden können, und es ist gleichfalls ausser allem Zweifel gestellt, dass sie bedeutend zahlreicher bei Ganglienzellen vorkommen, die mit Osmiumsäure bei 35° C., als bei solchen, die in der Zimmertemperatur behandelt wurden. Bei dieser höheren Temperatur beobachtet man auch das gleichfalls interessante Faktum, dass sie in den am meisten peripherischen Zellschichten am zahlreichsten oder auf alle Fälle am voluminösesten sind. Dieselben Beobachtungen kann man z. B. auch leicht bei Ganglien machen, die mit der Pereny'schen Flüssigkeit fixiert wurden; sowohl die zahlreichere Frequenz der Kanäle, wie deren Vorliebe für peripherische Zellenreihen bei Fixierung in 35° C. sind augenfällig.

Betreffend die »Kanälchen des ersten Typus« will ich daran erinnern, dass weder Kopsch noch Misch solche bei Osmiumsäurebehandeltem Material erwähnen, und dass dies auch bei Holmgren nicht der Fall zu sein scheint. Er hebt ja nämlich (47) besonders hervor, dass es ihm nicht gelungen ist mit der Osmiumsäuremethode irgend welche »Kanalisation der Trophospongien« zu erhalten. Auch ich muss gestehen, dass ich lange vergebens zahlreiche, mittelst der Kopsch'schen Methode gefärbte Ganglien untersucht habe, ohne Kanälchen dieses Typus zu finden. Schliesslich stiess ich auf ein paar solche, die wenigstens eine partielle Übereinstimmung zwischen den lichten Zügen und den feinen schwarzgefärbten Fäden zeigten, die in denselben Zellen vorkamen, aber ich glaubte anderseits Verbindungen zwischen diesen lichten Zügen und der Zellenperipherie zu sehen

und stellte mich deswegen fortwährend skeptisch gegenüber der v. Bergenschen kategorischen Auffassung der topographischen Identität. Eine Stütze für diese Zweifel glaubte ich auch in den Resultaten mit der Golgi-Veratti-Methode zu finden. Mit dieser erhält man zwar nicht selten Kanälchen des zweiten Typus, dagegen nicht, soweit meine Erfahrungen reichen, solche des ersten. Auf alle Fälle war es mir klar, dass, da diese osmiumgeschwärzten Netze schon so früh wie bei 8-tägigen Embryonen auftreten, und da ich, trotz sorgfältigster Untersuchung vollständiger Schnittserien von zahlreichen Ganglien bei Tieren verschiedenen Alters, nur mit Mühe ein paar Zellen in einigen vereinzelt Ganglien sammeln konnte und diese noch dazu bei weitem nicht so typisch waren, wie die von v. Bergen abgebildeten, so musste dies, meiner Meinung nach, bestimmt dagegen sprechen, dass diese Bilder eine Phase in einem vitalen, cyklischen Verlaufe der fraglichen Netzbildung repräsentieren, wie v. Bergen behauptet. Ohne Zweifel würden sie in diesem Falle viel öfter vorkommen, da ja zahlreiche Zellen ohne jedes Netzwerk oft beobachtet werden, Zellen, die sonach, laut der v. Bergenschen Auffassung, sich in einer Pause zwischen zwei derartigen Cykeln befinden sollten. Wie wir später sehen werden, ist diese meine Auffassung des fernereren bestätigt worden, seitdem es mir gelungen ist, experimentell zu konstatieren, dass derartige »Kanälchen des ersten Typus« vermieden werden können.

Da nun sonach meine Zweifel erweckt waren gegenüber der Richtigkeit eines so wichtigen Details in dem v. Bergenschen Schema, stieg mir die Frage auf: welche sind die beweisenden Gründe, die v. Bergen behauptet erbringen zu können zur Unterstützung seiner Hypothese über den cyklischen Verlauf der Binnennetze? Wie ich schon in meiner geschichtlichen Darstellung erwähnte, scheinen diese Gründe so gut wie ausschliesslich in seinem absoluten Zutrauen zu der Kopschenschen Osmiumsäuremethode und zu den Bildern, die mittelst derselben

erhalten werden, zu finden sein, und wenn wir nun seine Beweisführung etwas eingehender untersuchen, finden wir dieselbe in zwei Gruppen eingeteilt. I. Erstens findet er neben Zellen, welche Netzapparate oder Teile von solchen darbieten, auch Zellen, die solche vollständig vermissen. »Derartige Zellen«, hebt er besonders hervor, »habe ich in jedem untersuchten Ganglion bei allen Tieren, die ich zur Verfügung gehabt, beobachtet.« Sein Zutrauen zu der angewandten Methodik führt ihn nun von dieser Tatsache zu der Annahme, dass »es als sicher anzusehen sein dürfte, dass, im allgemeinen, Netzapparate nicht in sämtlichen Zellen innerhalb eines Spinalganglions vorhanden sind«. II. Zweitens betont er hinsichtlich der verschiedenen morphologischen Variationen: a) betreffend die diffusen, schwarzen Körnchen und Körnchenreihen; »das Vorkommen derartiger, regellos verstreuter Körnchen neben Körnchenreihen scheint mir dafür zu bürgen, dass diese Bilder nicht bloss durch Unvollkommenheit in der Färbungstechnik hervorgerufen worden sind;« b) betreffend das Verhältnis der unvollständigen und der mehr vollständigen Netze zu einander. Er scheint nämlich kein Anhänger der von Golgi hervorgehobenen Möglichkeit zu sein, dass die ersteren durch unvollständige Imprägnation verursacht sein könnten; c) betreffend die »Kanäle des ersten Typus«. »Mir fehlt,« sagt er nämlich, »jeder Anlass, in diesen Bildern Kunstprodukte zu sehen, hervorgerufen durch Unvollständigkeit der Fixierung oder Schwarzfärbung.«

Gehen wir bei der näheren Prüfung dieser Argumente in derselben Ordnung:

Ad I: Es ist unzweifelhaft eine richtige Beobachtung, die von Bergen gemacht hat, wenn er sagt, dass mittelst der Kopschschen Methode in den Ganglien Zellen ohne eine Spur von Netzapparat zu finden sind; auch ich habe an meinem Material ebenso regelmässig wie von Bergen dasselbe konstatieren können. Hinsichtlich der Deutung aber wurde ich etwas

mehr unschlüssig als von Bergen und zwar schon durch die Erfahrungen, die ich mit derselben Methode machen musste — ich meine das Resultat, das meine Versuche mit embryonalem Material ergaben. Ich erinnere an die früher gegebene Schilderung dieser und wiederhole hier, dass ich zwar auch niemals an diesem Material morphologisch ausdifferenzierte Netzapparate in sämtlichen Zellen eines Ganglions angetroffen habe, aber dagegen oft Gelegenheit hatte zu sehen, dass die Zellen sämtlich — wenn auch mit wechselnder Farbenintensität — die homogene, grauschwarze Bildung aufwiesen, die offenbar die »Grundsubstanz« der fraglichen Bildung zu sein scheint. Hier, musste ich mir sonach sagen, kann man merken, dass die Bildung nirgends gänzlich vermisst wird, auch wenn die netzförmige »Ausdifferenzierung« innerhalb derselben nicht immer zu Tage tritt; hier findet sich anderseits offenbar das günstigste Beobachtungsmaterial, weil die fragliche Bildung hier ja zu einem zentralen Ball im Plasma konzentriert ist. Wenn man sonach durch Beobachtung an diesem Material zu der Auffassung von der Ubiquität der Bildung kommt, so muss man ziemlich zwingende Gründe haben, ehe man eine grosse Hypothese auf die negativen Befunde aufbaut, die man an den Ganglien erwachsener Tiere macht, und dies in Besonderheit, so lange man nicht eine ungleichmässige Einwirkung der angewandten Technik ausschliessen kann. In Wirklichkeit bekam ich auch schon von Anfang an die Auffassung, dass das mehr oder weniger deutliche Hervortreten der netzförmigen »Ausdifferenzierung« in embryonalen Ganglienzellen in Zusammenhang mit der verschiedenen Wirkungsweise der Methode steht, eine Tatsache, die mich natürlich der v. Bergenschen Betrachtungsweise nicht geneigter machte.

Soviel hinsichtlich der Kopschschen Methode. Wenn wir uns nun zu den Resultaten der Golgi-Verattischen Methodik wenden, so wollte der Zufall, dass ein paar der allerersten Präparate, die ich mit derselben verfertigte (von ungefähr 2 Monate alten

Hühnchen) hinsichtlich des Färbungsergebnisses, so »vollständig« wurden, dass ich in den meisten Zellen gut ausgebildete Netze konstatieren konnte und in beinahe allen übrigen grössere oder kleinere Teile derselben spürte — ein Resultat, das sonach auch dazu beiträgt, meine Auffassung zu stützen, dass die Kopschsche Methode trotz aller ihrer Vorteile, doch nicht so idealisch ist, wie v. Bergen meint. — Ich füge nun hierzu ein Zitat von Golgi selbst (31), das in diesem Zusammenhang wohl sein Interesse haben kann. Er teilt nämlich (S. 277) betreffs eines 50 cm langen Kalbembryos mit: »dans ce cas, la reaction (d. h. die Färbung der Netzapparate) avait réussi très facilement, et d'une manière diffuse, au point que, dans quelques zones de certains ganglions, on pouvait voir l'appareil réticulaire interne dans toutes les cellules«. Der Umstand, dass zuweilen wirklich alle Zellen Färbung zeigen können, ist nun für Golgi, »un argument qui engage à croire que la même particularité d'organisation interne existe dans toutes les cellules; que, cependant, sa démonstration n'est possible, d'ordinaire, que partiellement, à cause de circonstances peu connues pour le moment — concernant certainement en partie la technique — lesquelles influent sur la réaction chimique d'où dépend la démonstration.« Es dürfte daraus hervorgehen, wie nahe Golgis und meine Auffassung übereinstimmen.

A d. II. Schon oben habe ich Gelegenheit gehabt meine Zweifel zu äussern, dass die v. Bergensche Beweisführung betreffend den Zusammenhang zwischen den verschiedenen von ihm mittelst der Osmiumsäuremethode gefundenen morphologischen Variationen der Netzapparate richtig sei. Zu dem Erwähnten will ich hier nur folgendes hinzufügen, betreffend der v. Bergenschen Überzeugung, dass die Körnchen und Körnchenreihen vital existierende »Vorstadien« zu den vollständigeren Netzen ausmachen. Ich muss einen bestimmten Gegensatz zwischen dieser Auffassung und der Tatsache erblicken, dass mit der Golgi-

Veratti-Methode niemals, soweit meine Erfahrung sich erstreckt, irgend welche solche »Vorstadien« in Form diffuser oder in Reihen geordneter feiner Körnchen vorkommen. Die »Körner«, die bei dieser Methode gefunden werden, sind bedeutend gröber, haften, in Form von tropfenförmigen Verdickungen, mehr oder weniger zusammenhängenden Netzteilen an, und entsprechen, wie wir gleich sehen werden, ganz andern Bildern an den Osmiumsäurepräparaten als den erwähnten feinen gracilen Körnchenreihen, welche, wie auch v. Bergen bemerkt, einen noch geringeren Durchmesser haben, als die ebenen, glatten Netzfäden.

Wenn man nämlich mit Osmiumsäure behandelte Ganglien durchmustert, so kann man, wenigstens bei einem Teil derselben, neben Zellen mit diffusen Körnchen (Fig. 1), mit feineren Körnchenreihen (Fig. 2) und mit mehr oder weniger vollständigen, feinen und glatten Netzen (Fig. 3) Zellen finden, die alle Übergänge von dieser glatten und feinen Netzstruktur zu einer immer plumperen und unregelmäßigeren zeigen. Sowohl Misch wie v. Bergen haben jedenfalls wenigstens einen Teil dieser Bilder gesehen, besprechen sie aber nur in aller Kürze; Misch scheint übrigens sogar geneigt zu sein, sie als gewissen Tierarten zugehörige, spezielle Charaktere zu betrachten. — Man sieht nämlich Zellen, wo die Netzfäden augenscheinlich etwas gröber sind, und wo sich in den Knotenpunkten der Maschen deutliche, tropfenförmige Anschwellungen der Fäden befinden (Fig. 4). Von derartigen Zellen sieht man nun alle Übergangsstadien zu Zellen, wo die Netzstrukturen schon beim ersten Blicke einen plumperen Charakter aufweisen, und wo man bei näherer Analysierung beobachtet, dass diese Plumpheit ihre Ursache darin hat, dass die tropfenförmigen Anschwellungen immer gröber und vorherrschender geworden sind. Gleichzeitig gewinnt man vollkommen den Eindruck, dass der Zusammenhang zwischen den verschiedenen Maschen im Netze an zahlreichen Stellen

zerrissen worden ist, und man sieht sonach oft Bilder, wo die schwarzen Tropfen recht isoliert von einander liegen, wobei jeder für sich mit einem feinen Faden zusammenhängt, der sich zuweilen verzweigt, zuweilen auch an seinem andern Ende mit einer ähnlichen Tropfenanschwellung abschliesst, wodurch hantelähnliche Figuren entstehen (Fig. 5). Schliesslich sieht man Zellen, wo diese Fäden vollständig verschwunden sind. Der »Netzapparat« besteht sonach nun nur aus diffus gelagerten, von einander getrennten schwarzen Tropfen, welche inzwischen immer voluminöser geworden sind und nun bedeutende Dimensionen annehmen können. (Fig. 6). Dass derartige Zellen, trotz der diffusen Lagerung des schwarzgefärbten Elementes nicht mit den Zellen mit diffusen feinen Körnchen verwechselt werden können, die v. Bergen beschrieben hat, ist augenfällig, ebenso dass die Übergangsstadien zu dem extremen Bilde, welches diese plumpen diffusen Tropfen geben — trotzdem die hier mit feinen Fäden verbundenen Tropfen oft in Reihen liegen — keineswegs mit den feinen Körnchenreihen verwechselt werden können, von denen wir vorher gesprochen haben. — Wir sehen sonach eine Serie verschiedener morphologischer Typen, die diese mit Osmiumsäure färbbare Bildung annehmen kann; wir können derselben durch alle Übergangsstadien folgen, sehen, wie sie als äusserst feine Körnchen und Körnchenreihen anfängt, sich zu immer vollständigeren, ebenmäßigen Netzen zusammenschliesst, um später, unter deutlicher Zusammenklumpung zu immer grösseren Tropfen, sich aufs neue immer mehr von dem Netztypus zu entfernen und schliesslich eine vollständig diffuse Lagerung besonders plumper Tropfen aufzuweisen. Eine charakteristische Eigenschaft dieser morphologischen Entwicklungsserie ist sonach die beständig gesteigerte Grobheit der osmiumgefärbten Elemente und gleichzeitig bemerkt man auch eine andere interessante Tatsache; je grösser die osmiumgefärbten Elemente sind, desto schlechter haben, in der

Regel, die bezüglichlichen Zellen ihr Volumen beibehalten; desto grösser ist sonach der perizelluläre Spaltraum.

Betreffend die Bilder, die man mit der Golgi-Verattischen Methode erhält, so zeigen diese — wie erwähnt — niemals die feinen diffusen Körnchen und Körnchenreihen, welche man bei Anwendung der Osmiumsäure-Methode zu sehen bekommt. Dagegen aber zeigen sie zahlreiche Übergangsstadien von ebenmäßigen bis zu immer plumperen Netzen. Nicht selten sieht man auch Zellen, wo anstatt des Netzes grosse, diffus verteilte Tropfen liegen, die die typische gelbbraune bis dunkelbraune Farbe der Netzfäden darbieten. Diese, sonach mit dem Resultate der Kopsch'schen Methode übereinstimmenden, morphologischen Variationen sind schon vorher — besonders von Golgi — genau beobachtet worden, worauf ich schon in meiner geschichtlichen Darstellung hingewiesen habe; ich verweise nochmals teils auf diese und teils auf die ausführliche Schilderung, die Golgi selbst ([30] S. 281) gibt. Was nun, nebenbei, die Bilder betrifft, die Cajal (17) mit seiner Methode in z. B. den Ganglienzellen des Lumbricus erhalten hat, dürfte es klar zur Hand liegen, dass es gerade solche Übergangsbilder — und zwar oft avancierte — zu der diffusen groben Tropfenanordnung sind, die er beobachtet hat, und die Veranlassung zu seiner Schilderung dieser Bildungen als mit einander verbundene, mehr oder wenige spatiöse Kavitäten gegeben hat.

Wir haben sonach mit der Osmiumsäure-Methode — und teilweise auch mit der Golgischen Methode — eine ganze Reihe verschiedener morphologischer Variationen einer und derselben Bildung sehen können, und nun kommt also die Frage: in welchem Verhältnis stehen diese zu einander? Es ist klar, dass man sich dabei theoretisch zwei verschiedene Möglichkeiten denken kann. Einerseits wäre es ja möglich, dass die fragliche Bildung während der Ontogenie in verschiedenen Zellen ein verschiedenes Aussehen bekommen haben könnte, dass

wir es also hier mit persistierenden verschiedenen Typen zu tun hätten. Andererseits liesse sich ja auch denken, dass eine und dieselbe Zelle unter verschiedenen Verhältnissen die ganze morphologische Skala durchlaufen könnte, dass wir also in den verschiedenen Bildern mehr zufällige, auf irgend einer Ursache basierende Wechselungen zu sehen hätten, welche sämtliche Zellen während ihres Daseins aufweisen könnten.

Welche von diesen beiden Alternativen ist nun die richtige? Eben dieselbe Frage drängt ja oft bei morphologischen Untersuchungen nach Antwort, und kann nicht selten schwer genug zu entscheiden sein; in dem vorliegenden Falle gibt es jedoch ein paar Beobachtungen, die der Beurteilung einen bestimmten Leitfaden geben, und eine von denselben habe ich schon erwähnt. Es ist dies die Beobachtung, dass, je gröber die Netzbildung ist, je grösser also die Tropfenformationen hervortreten, desto grösser ist auch meistens der artifizielle, perizelluläre Schrumpfraum. Diese Beobachtung muss unzweifelhaft zu dem Gedanken führen, dass wir in den gesehenen morphologischen Variationen nicht verschiedene, persistierende Typen zu sehen haben; und diese Auffassung wird durch eine andere meiner Meinung nach bedeutend wichtigere Beobachtung noch mehr befestigt.

Wir können nämlich in den Ganglien, die mit der Kopsch'schen Osmiumsäure-Methode behandelt wurden, von der Peripherie des Ganglions bis zu dessen Zentrum eine bestimmte topographische Ordnungsfolge in dem Vorkommen und dem verschiedenen Aussehen des Netzapparates wahrnehmen. Beobachtungen in dieser Richtung sind auch schon vorher gemacht worden. So berichtet schon Kopsch, dass die in den peripherischen Abschnitten des Ganglions befindlichen Zellen sich nicht färben, und auch Misch sagt, dass »die Zellen der peripherischen Lagen in der Mehrzahl das Netz nicht zeigen.« Misch hebt auch hervor, dass das Netz dagegen meistens auftritt »in Zellen der zentralen Zonen des Ganglions, die in unmittelbarer

Nähe geschwärzter Nervenfasern liegen.« v. Bergen sagt schliesslich, dass auch er oft keine Färbung in den peripherischen Zellen erhält, fügt aber unmittelbar hinzu: »an zahlreichen andern Stellen zeigen indessen auch die oberflächlichsten, unmittelbar unter der dünnen Bindegewebskapsel des Ganglions liegenden Zellen gefärbte Netzapparate.« Ausserdem hat v. Bergen noch eine andere Beobachtung gemacht. Er findet nämlich »an mehreren Stellen . . . unmittelbar unter der dünnen Bindegewebskapsel gelegene Nervenzellen, die in ihrer äusseren, der Kapsel zugewandten Hälfte nicht die geringste Spur von einem Netzapparat zeigen, während der tiefere, dem Innern des Ganglions zugekehrte Teil der Zelle dagegen gutgeschwärzte Netzfäden enthält.«

In Wirklichkeit ist es auch eins der augenfälligsten Kennzeichen für Ganglien, die mit 2 prozentiger Osmiumsäurelösung behandelt worden sind, dass die am meisten peripherisch gelegenen Zellen ungefärbt bleiben. Diese ungefärbte Zone kann jedoch gröber oder dünner sein, ja sie kann, wie v. Bergen richtig beobachtet, hier und da ganz fehlen.

Aber auch betreffs der verschiedenen morphologischen Variationen im Aussehen des Netzapparates kann eine deutliche Relation zu der mehr oder weniger peripherischen, bzw. zentralen Lage im Ganglion verspürt werden und zwar so, dass wir, von der Peripherie an gerechnet, zunächst diffuse Körnchen und Körnchenreihen finden (hier auch solche Zellen, wie v. Bergen schildert, mit peripherisch ungefärbtem und zentral gefärbtem Teil), um weiter nach innen die feineren, gleichförmigeren Netze, und schliesslich, gegen das Zentrum zu, die immer gröber und plumper gestalteten Formationen anzutreffen.

Ich beeile mich jedoch nun unmittelbar hinzuzufügen, dass dies nur als eine schematische Zusammenfassung der Beobachtungen, die ich an zahlreichen Ganglien gemacht habe, aufgefasst werden darf. Denn wenn man nur einen einzigen Schnitt eines

Spinalganglions unter dem Mikroskop hat, ist es oft sehr schwer, diese topographische Serie nachzuweisen. Erstens einmal trifft man nämlich keineswegs bei sämtlichen Ganglien sämtliche verschiedene morphologische Typen, und zweitens gibt es ja immer, wie schon erwähnt, auch in den zentraleren Teilen der Ganglien ungefärbte Zellen und nicht nur solche, sondern auch zuweilen Zellen mit derartigem Aussehen der Netzapparate (Körnchenreihen, feine glatte Netze), dass sie richtiger, dem Schema nach, mehr peripherisch liegen sollten.

Derartige Abweichungen und dazu noch die Beobachtung, dass auch die fehlende Färbung in der peripherischen Zone des Ganglions nicht konstant war, verursachte wohl, dass z. B. v. Bergen in seiner Analyse der fraglichen Verhältnisse nicht weiter gegangen ist, als er es getan hat. Ich glaube jedoch, man braucht sich nicht abschrecken zu lassen, denn teils ist es trotz aller übrigen Abweichungen doch konstant, dass, wenn man in einem Ganglion Zellen mit plumpem Tropfennetz und diffusen grösseren Tropfen antrifft, so liegen diese immer in den zentralsten Teilen der Ganglien, teils kann man auch durch eine eingehende Analyse der Abweichungen vom »Schema« Aufklärungen erhalten, die, wie ich glaube, in vorliegender Frage eine nicht unwesentliche Bedeutung besitzen und unsere Forschungen nach den Ursachen der verschiedenen Bilder in einer gewissen bestimmten Richtung führen.

Wenn wir nämlich zuerst die Resultate mit einander vergleichen, die man mit Ganglien von Tieren verschiedenen Alters erhält (immer aber mit der Versuchstechnik, dass man die Ganglien isoliert in die Behandlungsflüssigkeit kommen lässt) so sehen wir einen sehr augenfälligen Unterschied. Die Zahlreichheit der Färbungen nimmt nämlich konstant ab, je nachdem die Tiere jünger und die Ganglien sonach kleiner sind. Ich habe Ganglien von neugebrüteten bis 14 Tage alten Küchelchen erhalten, welche trotz langwieriger Osmiumsäurebehandlung (Parallelversuch mit

grösseren Ganglien von älteren Tieren, welche nach derselben oder kürzeren Zeit zahlreiche Färbungen zeigten) in keiner einzigen Zelle Färbung zeigten. An etwas grösseren Ganglien von Tieren gleichen und etwas höheren Alters (bis zu 1 Monat) habe ich vereinzelte gefärbte Zellen erhalten, und nun kann man eine sehr charakteristische Eigentümlichkeit beobachten: wenn die Färbung ein paar vereinzelte Zellen betrifft, so liegen diese Zellen stets am zentralsten in dem Ganglion und die Färbung tritt als feine diffuse Körnchen oder öfter als allerfeinste Körnchenreihen auf. Werden nun (bei anderen etwas grösseren Ganglien von demselben Tiere) eine etwas grössere Zahl Zellen gefärbt, so sehen wir, wie sich diese Färbung augenfällig von der Mitte aus gegen die Peripherie ausbreitet, und man kann nun nicht selten das bemerkenswerte Verhältnis beobachten, dass »das Zentrum« von Zellen mit gut ausgebildeten, zuweilen sogar recht groben Netzen eingenommen wird, und dass rund um diese herum Zellen mit feineren Netzen und Körnchenreihen liegen. — Bei steigender Grösse der Ganglien und höherem Alter der Tiere gelangen wir nun zu dem komplizierterem Aussehen, das unserer ersten Schilderung topographischer Eigentümlichkeiten in osmierten Ganglien zugrunde lag.

Es ist jedoch leicht zu beobachten, dass die peripherische ungefärbte Zone bei sinkendem Alter der Tiere nicht nur relativ, sondern auch absolut zunimmt, so dass sie immer mehrere — wie wir gesehen zuweilen sogar alle — Zellenlager umfasst. Gleichzeitig mit diesem Zuwachs konstatieren wir jedoch eine andere Tatsache: die Markscheiden sind immer schmaler geworden, immer weniger treten sie an den mikroskopischen Bildern des Ganglions hervor; dass dies jedenfalls mehr als ein zufälliges Zusammentreffen bedeutet, werden wir Gelegenheit haben, auch auf Grund anderer Beobachtungen zu konstatieren.

Es kommt nämlich zuweilen vor, dass, man in Schnitten von Ganglien älterer Tiere ein Bündel von markhaltigen Nerven

fasern bemerkt, das an dem einen Rande des Ganglions liegt, in Kontakt aber ohne organische Verbindung mit demselben. Nun ist es aber vollständig typisch, dass gerade in der Nachbarschaft dieser Markscheidenbündel die peripherischen Ganglienzellen nicht ungefärbt sind, sondern im Gegenteil sehr schöne und vollständige Netzbildungen zeigen, und man kann oft mit Deutlichkeit konstatieren, dass, wenn die Ganglienperipherie sich vom Markscheidenbündel entfernt, so wird die Färbung in den peripherischen Ganglienzellen immer geringer um schliesslich ganz aufzuhören.

Vollkommen dasselbe, d. i. Färbung peripherischer Zellen, tritt auch ein und zwar mit derselben Regelmässigkeit, wenn eine andere, die Osmiumsäure reduzierende Substanz, nämlich Fett, zufällig in der unmittelbaren Nähe der Ganglienperipherie liegt. Ich stütze mich dabei auf mehrere derartige Beobachtungen; die schönste von ihnen betrifft unzweifelhaft ein Ganglion von einem 1 Monat alten Küchelchen, wo an den Schnitten, an welchen auch ein dem Ganglion naheliegender Fettklumpen vorhanden war, keine anderen Zellen gefärbt waren, als gerade die in der Ganglienperipherie nächst dem Fettklumpen. Hier befanden sich jedoch, Seite an Seite, eine ganze Reihe deutlicher Färbungen.

Andererseits ist es auch nicht schwer zu konstatieren, dass das »Zentrum« in einem Ganglion, d. h. die Stelle, wo sonach in kleineren, jüngeren Ganglien Färbungen (abgesehen von oben-erwähnten Ausnahmen) zuerst auftreten und in grösseren, älteren Ganglien die grössten Färbungen anzutreffen sind, nicht immer das geometrische Zentrum ist. Schon Misch hebt ja hervor, wie schon früher erwähnt, dass er Färbung besonders in Zellen erhielt, die innerhalb der Ganglien in unmittelbarer Nähe geschwärzter Nervenfasern lagen, und es ist leicht, diese Annahme zu bestätigen. Ebenso wie man es an den Ganglien jüngerer Tiere am schönsten ausgesprochen findet, wie ein Fett-

klumpen in der Nähe des Ganglions Färbungen naheliegender Zellen verursacht, so kann man an demselben Material auch sehen, wie deutlich eine etwas reichlichere, irgendwo im Ganglion selbst gelegene Ansammlung von Markscheiden einen entsprechenden Einfluss auf die Färbbarkeit der umgebenden Zellen ausübt. Und am Material von älteren Tieren kann man sehen, wie die groben zu Tropfen verwandelten Netzbildungen gerade in den Ganglien in nächster Nähe der dichtesten Markscheidenbündel zu finden sind.

Sämtliche diese Beobachtungen, welche, ich wiederhole es, keineswegs schwer zu konstatieren sind, weisen, soweit ich es zu beurteilen vermag, in einer bestimmten Richtung hin. Sie zeigen uns nämlich, welch grossen Einfluss fremdes osmiumsäure-reduzierendes Material (Markscheiden, Fett) sowohl auf das Zustandekommen von Netzfärbungen in den Ganglienzellen, wie auf den morphologischen Charakter dieser Netze hat. Wir sehen, wie dort, wo die 2-proz. Osmiumsäure direkt einwirkt, keine Färbung in den Ganglienzellen entsteht, und wie diese Färbung offenbar unter Einwirkung osmiumsäureverbrauchender Stoffe entsteht, sich immermehr entwickelt, und schliesslich bei hochgradigster Einwirkung derselben in groben, klumpigen Bildern kulminiert.

Wir müssen sonach unsern Gedankengang darauf einstellen, dass der Konzentrationsgrad der Osmiumsäure von Bedeutung ist sowohl hinsichtlich der Entstehung der Netze, wie hinsichtlich ihrer Morphologie, und wir können noch ein paar Gründe zur Unterstützung hierfür anführen. Wenn man nämlich bei Färbung der Ganglien mit Osmiumsäure diese stehen und schnell »schlecht« werden, d. h. in vitro sich reduzieren lässt, so sehen wir, dass die peripherische, farbenfreie Zone dünner wird, als sie es sonst ist; die Zellen sind oft gefärbt, sobald peripherisch neben denselben eine einzige Markscheide liegt, und anderseits sind gerade in solchen Ganglien »zentral«, d. h. inner-

halb des Ganglions mit Verschiebung nach den dichtesten Markscheidenbündeln zu, die grössten, zu Tropfen verwandelten Netzapparate zu treffen. — Und als Gegensatz hierzu hat eine sorgfältige Behandlung der Osmiumsäurelösung nach meiner bestimmten Auffassung zur Folge, dass die peripherische Schicht ungefärbter Zellen grösser wird, und dass in derartigen Ganglien zuweilen keine einzige, tropfenförmige Anschwellung der gleichförmigen und glatten Netzapparate vorkommt.

Zu diesen Gründen kommt nun schliesslich noch eine Beobachtung hinzu, die meines Erachtens die wichtigste Stütze meiner Anschauung bildet; vergebens jedoch habe ich nach einer Andeutung einer derartigen Beobachtung bei Kopsch, Misch und v. Bergen gesucht. Der fragliche Fund ist nämlich der, dass die Markscheiden der mehr peripherisch und der mehr zentral belegenen Schichten der Ganglien ein ganz verschiedenes Aussehen haben. Während das Nervenmark peripherisch gleichmässig konturiert und ohne irgendwelche andere Unterbrechung verläuft, als eine dann und wann vorkommende, übrigens schlecht begrenzte Lantermannsche Einschnürung (Fig. 7), ist es in den zentraleren Teilen des Ganglions augenfällig in durch lichte Zwischenräume getrennte Körnchen verschiedener Grösse geteilt (Fig. 8). Die Vergrösserung, bei welcher diese Beobachtung sich am Besten machen lässt, ist ungefähr mit Zeiss Apochrom. Obj. 2 mm Hom. Imm. + Comp. Oc. 6 (Vergrösserung 750 mal), jedoch genügt oft schon eine bedeutend geringere Vergrösserung (300 mal und weniger). Die Aufteilung in Körnchen tritt oft prägnanter in den etwas schmaleren Markscheiden hervor, wo sich die lichten Zwischenräume zwischen den Körnchen besser markieren. Aber auch die grössten Markscheiden zeigen oft eine sehr gut zu sehende Grobkörnigkeit und markieren dieselbe gut durch eine Ungleichheit in den Rändern. — Betreffend nun die Breite der peripherischen Schicht mit homogenem, ununterbrochenem Nervenmark, so ist diese

nicht immer gleich; man überzeugt sich jedoch leicht davon, dass dieselbe recht gut der peripherischen Schicht ungefärbter Zellen entspricht. Also, wo die Färbung der Zellen anfängt, fängt im Allgemeinen auch die Körnchenaufteilung des Nervenmarks an, und wird von dort an bis in die zentralsten Teile des Ganglions beobachtet. Die kleinen Abweichungen in der einen oder anderen Richtung von der exakten Übereinstimmung zwischen den beiden peripherischen Zonen sind so unbedeutend, dass sie meine hier ausgesprochene Ansicht nicht zu erschüttern vermögen und zwar umsoweniger, als man ohne Schwierigkeit konstatieren kann, dass gleichzeitig mit der abnehmenden Färbung der Zellen, wenn die Ganglien von jüngeren Tieren (neu ausgebrüteten bis 1 Monat alten) stammen, eine Zunahme der Markscheiden mit homogenem Nervenmark auf Kosten der mit körnigem Hand in Hand geht. Eine fernere Stütze für die Parallele zwischen Körnchenaufteilung des Nervenmarks und der Netzsapparate in den Nervenzellen ist, dass auch die peripherischen Markscheiden mit Körnchenaufteilung reagieren, wenn in unmittelbarer Nähe des Ganglions eine osmiumsäurereduzierende Substanz (Fett, andere Markscheidenzüge) liegt, welche, wie früher erwähnt, Netzfärbung in den sonst ungefärbten peripherischen Zellen hervorruft.

Aus alledem scheint also zu folgen, dass, wie erwähnt, der Konzentrationsgrad der Osmiumsäure eine bedeutende Rolle spielt, und es ist jetzt auch nicht schwer mit nahe zur Hand liegenden Beispielen exakt zu beweisen, dass dies der Fall ist. Wenn wir nämlich Ganglien mit einer 0,5-proz. (anstatt wie gewöhnlich einer 2-proz.) Osmiumsäurelösung behandeln, so sehen wir mehrere Verschiedenheiten von dem Resultate mit 2-proz. Zunächst ist nämlich, und zwar soweit ich finden konnte, konstant, die peripherische Zone der ungefärbten Zellen bedeutend schmaler, ja nicht selten beobachtet man nun auch am meisten peripherisch in den Ganglien einige gefärbte Zellen,

ohne dass irgend eine der vorher erwähnten, Färbung hervorruhenden Substanzen unmittelbar nach aussen von denselben zu finden ist. Gleichzeitig damit konstatiert man auch mit Leichtigkeit, dass die peripherische Schicht von Markscheiden mit homogenem Mark entsprechend schmaler wird, während sonach Markscheiden mit Körnchenaufteilung des Markes immer näher der Ganglienperipherie drängen. Was nun anderseits die Frequenz und das morphologische Aussehen der gefärbten Netzapparate in den Zellen betrifft, so ist es Regel, dass nun auch im Ganglion eine geringere Anzahl ungefärbter Zellen angetroffen wird als wenn die Ganglien mit 2-proz. Osmiumsäure behandelt worden sind (zuweilen kann man kaum mehr als vereinzelt solche antreffen). Ebenso trifft man nun in der Regel im Innern des Ganglions Netzapparate mit plumpen Tropfenverdichtungen. Nichts ist sonach gewöhnlicher als dass man gerade in Ganglien, behandelt mit 0,5-proz. Osmiumsäure, alle die morphologischen Typen der Netze in ihrer vorher geschilderten topographischen Lage konstatieren kann, sonach innerhalb der peripherischen ungeschwärzten Zone zunächst feine diffuse Körnchen und Körnchenreihen, darauf eine Schicht mit relativ feinen und vollständigen Netzen, und schliesslich im Zentrum tropfenverdichtete Netze und plumpe Tropfen mit geringem oder keinem Rückstand der Netzanordnung. Wenn wir nun Ganglien mit 0,1-proz., also noch bedeutend schwächerer Osmiumsäurelösung behandeln, so bleiben allerdings einige peripherische Zellen ungefärbt, aber irgend eine ausgesprochene, peripherische Zone ungefärbter Zellen gibt es nicht mehr. Zahlreiche peripherische Zellen zeigen nämlich eine starke Färbung und nun sehr selten in Form von Körnchenreihen oder feinen Netzen, sondern so gut wie immer in Form von sehr plumpen Bildungen, zuweilen mit, zuweilen auch ohne irgend welche Reminiszenz der früheren Netzanordnung. Wir sehen sonach wie an derselben Stelle im Ganglion bei 2-proz. Osmiumsäure keine Färbungen, mit 0,5-proz.

schöne Netze und mit 0,1-proz. grobe tropfenverwandelte solche erhalten werden. Bei Behandlung mit 0,1-proz. sind auch so gut wie alle peripherischen Markscheiden deutlich körnig. Im Innern des Ganglions erhält man mit der 0,1-proz. Lösung auch zahlreiche gefärbte Zellen, meistens mit voluminösen, diffusen Tropfen, ein Teil derselben enthält jedoch keine solchen, sondern statt dessen Bilder über welche wir später weiter sprechen wollen. Man sieht nämlich in den Zellen lichte Hohlräume mit der Anordnung der Tropfen und ungefähr in der Grösse derselben, und zuweilen sind diese Hohlräume von einem osmiumgeschwärzten Ring begrenzt.

Ausser diesen Versuchen, welche ja eine sehr deutliche Sprache reden, habe ich jedoch auch andere vorgenommen, welche augenfällig in derselben Richtung gehen. Ich habe nämlich frische Ganglien mit Gefriermikrotom unmittelbar nach deren Aussezierung geschnitten und darauf die Schnitte mit 2-proz. Osmiumsäure während einer, der Einwirkung derselben auf gewöhnliche Ganglien entsprechend langen, Zeit behandelt. Das Resultat entspricht den Erwartungen, die man nach Vorert wähntem aussprechen konnte: die Ganglienzellen verbleiben, mit Ausnahme vereinzelter Zellen, die sehr feine, diffuse, schwarzgefärbte Körnchen zeigen, vollständig ungefärbt; die Markscheiden sind zuweilen körnig, zuweilen ebenmässig und glatt konturiert. Ich betone nun gleichzeitig, dass die Bilder, die man erhält, nicht dafür sprechen, dass die Technik (die Gefriermikrotomierung) irgend welchen nachteiligen Einfluss im höheren Grade ausübt. Die Zellen haben ihr Volumen sehr wohl behalten, die Zellenkerne haben normale Lage und Aussehen, und die Nervenfasern verlaufen augenscheinlich unverändert in ihren Bahnen. Um jedoch die Gefahr auszuschliessen, die möglicherweise in einer Behandlung mit Gefriermikrotomierung liegen könnte, habe ich auch frische Ganglien genommen, sie direkt in der 2-proz. Osmiumsäurelösung zerzupft und sie dann

ihre Zeit in derselben liegen lassen. Das Resultat hinsichtlich der Zellen wird dabei vollständig dasselbe wie das vorhergehende. Einen Unterschied gibt es jedoch hinsichtlich der Markscheiden, bei welchen ich an den Präparaten, die ich mit genannter Methode anfertigte, niemals eine Körnchenaufteilung entdecken konnte, sondern das Mark stets homogen gefärbt liegen sah.

Wir sehen wie schön dieses Resultat mit den andern, oben erwähnten übereinstimmt. Es zeigt nämlich deutlich, dass, wenn man die zentralen Zellen zu »peripheren« verändert, d. h. sie direkt der Einwirkung einer ungeschwächten Osmiumsäurelösung aussetzt, so verhalten sie sich vollständig wie die in der Peripherie des Ganglions belegenen Zellen bei gewöhnlicher Osmiumbehandlung.

Es existiert gleichwohl noch ein Faktor, der in gewisser Hinsicht Einfluss auf das morphologische Aussehen der Osmiumbilder ausübt. Es ist dies die Zeit der Einwirkung der Osmiumsäure. Man findet nämlich, dass, wenn man die Osmierung unterbricht, wenn die Färbung gerade in ihrem Anfange ist, so kann man oft zahlreiche Körnchenreihen an Stellen beobachten, welche vollständig analog denjenigen sind, an welchen bei längerer Osmiumsäureeinwirkung wohl ausgebildete Netze auftreten. Die Fähigkeit der Zeit die Bilder zu variieren ist jedoch ziemlich begrenzt und beschränkt sich in Wirklichkeit, soweit ich sehen kann, auf das oben angeführte Beispiel. Man sieht sonach z. B. niemals, dass die gleichmäßigen feinen Netze durch langwierigere Osmiumeinwirkung in tropfenverwandelte solche übergehen, und andererseits ist es sicher, dass man auch nach langwieriger Osmierung Zellen finden kann, die fortwährend Körnchenreihen aufweisen. — Die Hauptsache ist und bleibt sonach der Konzentrationsgrad der Osmiumsäure.

Ich schliesse nun diese Abteilung der Untersuchung, indem ich in Kürze ihre Hauptpunkte resumiere:

1. Die mit Osmiumsäure färbbare Bildung im Protoplasma der Nervenzellen ist lediglich intrazellulär.
2. Sie bietet eine, alle Übergänge zu einander zeigende Serie morphologischer Typen dar (Fig. 1—6): diffuse feine Körnchen; Körnchenreihen; unvollständige und vollständigere Netze mit gleichdicken Fäden; Netze mit tropfenförmigen Verdickungen in den Maschen; Tropfen von steigender Plumpheit mit mehr oder weniger deutlich ausgesprochenen Verbindungsfäden; und schliesslich voluminöseste Tropfen mit vollständig diffuser Verteilung, sonach ohne eine Spur von Netzanordnung.
3. Diese Verschiedenheiten der morphologischen Bilder stehen augenfällig — abgesehen von einer geringen Einwirkung der Zeit für die Osmiumbehandlung — in Beziehung zu dem verschiedenen Konzentrationsgrad, in welchem die Osmiumsäure die Zellen trifft, und zwar so, dass eine 2-proz. Lösung überhaupt nichts oder in vereinzelten Fällen feine, diffuse Körnchen färbt, während bei sinkender Stärke der Osmiumsäure die ganze Serie durchlaufen wird, um bei einer Konzentration von 0,1% bei den sehr voluminösen Tropfen mit geringem oder gar keinem Rückstand der Netzanordnung anzulangen.
4. Im augenfälligen Zusammenhange mit den gefärbten und nicht gefärbten Zellenzonen in einem Ganglion steht auch eine Verschiedenheit im Aussehen der Markscheiden. In der peripherischen Zone der ungefärbten Zellen zeigt nämlich das Nervenmark möglicherweise in vereinzelten Fällen eine Lantermannsche Einschnürung, hat aber im Übrigen ebene Konturen und ist homogen gefärbt (Fig. 7); ungefähr gleichzeitig mit der Zellenfärbung

tritt auch eine deutliche Aufteilung des Nervenmarkes in gröbere oder feinere Körnchen auf (Fig. 8), und dieses Aussehen behalten die Markscheiden bis in das Zentrum des Ganglions hinein.

III.

Angesichts dieses Resultates, wirft sich nun die Frage zur Beantwortung auf: bei welchem Konzentrationsgrad gibt die Osmiumsäure das vitale Aussehen der Spinalganglienzellen am besten wieder? Bei einem Versuche diese Frage zu beantworten, braucht man jedoch sicherlich nicht die sämtlichen beobachteten morphologischen Variationen in die Diskussion aufzunehmen, sondern kann, schon aufgrund der gemachten Beobachtungen einen Teil derselben als teils sicher artefizielle Veränderungen, teils unvollständige Färbungen ausschliessen. Artefizielle Veränderungen sind unzweifelhaft die Tropfenverdichtungen, die im Netzapparate beobachtet worden sind, sowie die ganze von dort auslaufende Serie zu den Bildern, wo die voluminösen, diffus gelagerten Tropfen das einzige Osmiumgeschwärzte ausmachen; wir sehen ja nämlich, wie derartige immer plumper werdende Tropfen und immer geringere Rückstände der Netzanordnung bei Versuchen mit sinkender Konzentration der einwirkenden Osmiumsäurelösung auf Gebieten innerhalb der Ganglien entstehen, die denjenigen vollkommen entsprechen, auf welchen mit stärkerer Osmiumsäurekonzentration, gleichdicke, feine, elegante Netze zum Vorschein kommen. Was nun andererseits die feinen diffusen Körnchen und Körnchenreihen betrifft, so scheint es mir ebenso aus den vorgehenden Beobachtungen hervorzugehen, dass sie höchst wahrscheinlich nur als unvollständige Färbungen zu betrachten sind; wenn die Färbung mit etwas schwächerer Osmiumsäure vollständiger wird, entstehen Netze anstatt der erwähnten »Vorstadien«.

Die Frage kann sonach nicht unwesentlich wie folgt vereinfacht werden: »Ist es die vor allem bei 2%iger Osmiumsäurelösung hervortretende periphere Zone ungefärbter Zellen, die das natürliche Verhältnis am exaktesten wiedergibt, oder hat hier möglicherweise die starke Osmiumsäure die Zellen künstlich verändert, so dass sich das Netz nicht länger darstellen lässt, und sind es sonach die Zellen mit gleichmässigen und feinen, osmiumgeschwärzten Netzbildungen, die ihr vitales Aussehen am besten beibehalten haben?

Nun erinnere ich jedoch nochmals an eine Tatsache, die unzweifelhaft als guter Leitfaden bei der Diskussion der sonach präzisierten Frage dienen kann; ich meine das verschiedene Aussehen der Markscheiden periphere und zentral in den Ganglien und die topographische Relation zwischen den verschiedenen Zellen- und Markscheidenbildern. Zu Beantwortung entsteht nämlich auch die Frage: Welches ist das vitale Aussehen des Nervenmarkes, ist es das homogene, das es in der Peripherie der mit 2%iger Osmiumsäure behandelten Ganglien aufweist, oder das körnige, das es zentral zeigt? Können wir nun analysieren, welche Faktoren zur Darstellung dieser verschiedenen Markscheidenbilder wirksam sind, so können wir damit wahrscheinlich auch eine Richtschnur zur Gewinnung der Erkenntnis hinsichtlich des verschiedenen Aussehens der Zellen gewinnen.

Wir fragen uns dann: Was wissen wir von der Einwirkungsweise der Osmiumsäure auf Zellen und Gewebe? — Fangen wir beim Versuch dies in Kürze zu skizzieren mit den bekannten Untersuchungen an, die Alfred Fischer (19) vorgenommen hat. Er fasst seine Experimente mit Osmiumsäure in der These zusammen, dass dieser Stoff, allein angewandt, »ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel« ist. In alkalischer Lösung oder in alkalischem Zelleninhalt fällt es überhaupt keine Eiweissstoffe; versetzt mit Säure fällt es Albumosen, Albumin

und Globulin, nicht aber Nukleoalbumin, Nuklein und Nukleinsäure aus Hefe.

Dieses Resultat ist nachher hinsichtlich der letzteren Eiweissstoffe von Berg (8) bestätigt worden und auch Tellyesniczky (78, 79) geht in seinen Beobachtungen von ähnlichen Resultaten analoger Experimente aus.

Nun versucht jedoch, wie bekannt, Fischer, die Resultate seiner Laboratorienversuche unmittelbar auf die Verhältnisse hinsichtlich lebender Zellen zu überführen und zwar auch betreffend die Einwirkung der Osmiumsäure. Er nimmt an, dass die Osmiumsäure auch in Zellen neutraler und alkalischer Reaktion keine Niederschläge hervorruft und fragt sich: Führt dieses Unvermögen der Osmiumsäure Artefakten hervorzubringen irgend welche Vorteile herbei? Diese Frage beantwortet er kategorisch mit: Nein! Er sieht sich nämlich genötigt anzunehmen, dass dieser Vorteil durch die Nachbehandlung mit Alkohol, die das osmiumsäurebehandelte Material der Einbettung wegen durchmachen muss, vollkommen illusorisch gemacht wird, denn dieser Alkohol muss, wenn er genügende Konzentration erreicht hat, gerade die Koagulation der Eiweissstoffe der Zellen hervorrufen, der vorher vermieden wurde, und die Schnitte stellen sonach in Wirklichkeit nicht ein Osmiumbild, sondern ein Alkoholbild mit dessen »Strukturen vortäuschenden Fällungen« dar.

Es kann scheinen, als ob gegen eine derartige Beweisführung nichts einzuwenden wäre. Trotzdem ist dies der Fall, ja es war sogar Fischer selbst vorbehalten uns zu zeigen, wo der Fehler lag. Er unternahm nämlich direkte Versuche an lebenden Tieren (20) und konnte hier, besonders an homogenen Pseudopodien von *Amoeba proteus*, bestimmt nachweisen, dass nach einer Zeit (24 St.) Einwirkung 1% iger reiner Osmiumsäure eine Nachbehandlung mit Alkohol »weder äusserlich noch innerlich das Bild der osmierten Amöbe« zu verändern vermochte. Die Pseudopodien, deren Form und homogener Charakter während

der Einwirkung von Osmiumsäure unverändert blieben, zeigten sich auch nach der Alkoholbehandlung vollständig frei von irgend welchen »Strukturen vortäuschenden Fällungen«.

In Wirklichkeit lagen auch schon ehe diese Experimente gemacht wurden, Beweise vor, dass die osmierten Zellen ziemlich resistent sind. Schon die Experimente von Kaiserling und Germer (51), welche als die ersten systematischen Versuche, die Einwirkung von Fixierungsmitteln exakt zu studieren, berechtigten Wert besitzen, deuten in dieser Richtung, auch wenn sie nicht als völlig beweisend betrachtet werden können. Unzweideutig sind aber die Resultate, die man mit Flemmings Lösung erhält. Es muss nämlich als unzweifelhaft betrachtet werden, dass die bekannte, »peripherische Zone« bei dieser Fixierung ein Ausdruck für reine Osmiumsäurewirkung ist; hier kann sonach ein »Osmiumbild« beibehalten werden, trotz Chromsäure, Essigsäure und nachfolgendem Alkohol.

Nun ist es allerdings wahr, dass Fischer bezweifelt hat, dass die Osmiumsäure diese peripherische Zone verursacht, während er statt dessen die grösseren Voraussetzungen der Chromsäure hierfür (nämlich als bedeutend energischerer Eiweissfällter) hervorhebt, aber dies war, ehe er durch oben erwähnte Versuche mit Amöba kennen lernte, wie energisch die Osmiumsäure in Wirklichkeit einwirkt, trotz ihres geringeren Fällungsvermögens, und seine späteren Aussprüche (20) machen es auch wahrscheinlich, dass er seine Meinung geändert hat.

Angesichts dieser durch Experimente und direkte Beobachtungen gewonnenen Erfahrungen, können wir nun allmählich zu einem gewissen Verständnis der Wirkungsweise der Osmiumsäure gelangen. Erstens einmal muss die Unveränderlichkeit der Osmiumbilder trotz der mangelhaften Fähigkeit der Osmiumsäure die Eiweissstoffe der Zellen zu fällen, uns mit Notwendigkeit zu der Annahme führen, dass die Osmiumsäure eine grosse Affinität zu diesen Stoffen besitzt, mit ihnen Verbindungen ein-

geht und dadurch — wenigstens wenn sie in genügend starker Konzentration einwirkt — die Einwirkung hindert, welche sonst z. B. Alkoholnachbehandlung oder Chromsäure augenblicklich ausüben würden. Ja, die Affinität ist augenscheinlich so gross, dass die Osmiumsäure, wenn sie wie in der Flemming'schen Lösung gleichzeitig mit Chromsäure (= peripherisch) einwirkt, vollständig die Oberhand über letztere gewinnt und zwar trotz der grossen, eiweissfällenden Eigenschaften derselben. Es ist vielleicht nicht unmöglich, dass hierbei die verschiedene Permeabilität der »Plasmahaut« (Overton) mit einspielt; auf alle Fälle handelt es sich hier offenbar um eine schnelle und kräftige Einwirkung, auch wenn diese nun nicht so prinzipiell grundverschieden von derjenigen aller übrigen Fixierungsmittel ist, wie Fischer es annimmt. — Aber, zweitens müssen wir den Schluss ziehen, dass auch die »Osmiumzelle« allmählich koaguliert, denn es muss als unzweifelhaft gelten, dass in den eingebetteten und geschnittenen Osmiumsäurepräparaten die Zellensubstanz sich in festem Zustande befindet. Da jedoch auch dabei eine prinzipielle Veränderung im Aussehen der Osmiumzelle nicht stattfindet, so müssen wir mit Fischer (20) vermuten, »dass es sich um eine äusserst langsame Coagulation handelt, bei der es infolge dieser Langsamkeit, nicht zur Abscheidung gröberer Partikelchen kommt. Der Prozess würde äusserlich an eine Gelatinierung erinnern«.

Gleichwohl muss bei Beurteilung der Wirkungsweise der Osmiumsäure, noch eine Tatsache von grösster Bedeutung mit in Rechnung gezogen werden. Es ist dies die Einwirkung der Diffusion. Es ist nämlich, wie Tellyesniczky hervorhebt, gerade auf Grund der Diffusion vollkommen unrichtig, das Resultat der Kaiserling-Germerschen und der Fischerschen Experimente mit isolierten Zellen auf Gewebe zu überführen, die in toto der Einwirkung von Osmiumsäure ausgesetzt wurden, und er gibt auch in seiner Schilderung über die Wirkungsweise der Flemmingschen Lösung eine interessante Stütze dafür,

dass es gerade die schlechtere Diffusionsfähigkeit der Osmiumsäure ist, welche bewirkt, dass diese im Innern des Objektes nicht mehr eine so energische Wirkung ausübt. Dieser Auffassung wird ja auch von den Histologen allgemein gehuldigt, und Fischers (20) auf den hohen Gasdruck der Osmiumsäure gestützte, entgegengesetzte Ansicht, laut welcher die Osmiumsäure mit grosser Hastigkeit (163 m pro Sekunde) das Objekt durchsetzen solle und in Mischungen mit anderen Fixierungsmitteln diese überholen solle, kann nur beweisen, dass diese theoretische Berechnung — wahrscheinlich auf Grund des Hinzukommens chemischer Bindung der Osmiumsäure — nicht Stand hält.

Damit sind wir mitten in der Kardinalfrage selbst, ob überhaupt und in diesem Falle unter welchen Bedingungen die Osmiumsäure wirklich dem Zweck der Fixierung entspricht, die Zellen womöglichst in unverändertem, den lebendigen Verhältnissen ähnlichem Zustand zu erhalten. Hierauf antwortet Tellyesniczky: Da es die erste Bedingung eines guten Fixierers ist, ein guter Eiweissfäller zu sein, müssen wir der Ansicht sein, dass reine Osmiumsäure mit ihrem Unvermögen Eiweissstoffe zu fällen, ein schlechter Zellenfixierer ist, während die Essigsäurekombinationen zu den besten Fixierern gehören; der Essigsäure fällt dabei die Aufgabe zu, den Zelleninhalt sauer zu machen, und wenn dies geschehen ist, kommt die langsamer diffundierende Osmiumsäure nach und wirkt auf den sauern Zelleninhalt als »ein ausgezeichneter Eiweissfäller.« Ich muss nun zugeben, dass ich, trotz meiner Bewunderung für Tellyesniczky's klarer Fragestellung, mich in dieser Prinzipfrage nicht auf seine Seite stellen kann. Wir haben ja aus Vorstehendem ersehen, dass reine Osmiumsäure, trotz ihres Unvermögens Eiweissstoffe zu fällen, doch eine wunderbare Fähigkeit besitzt, den Zelleninhalt in einer naturtreuen Form zu konservieren, und ausserdem, dass sich dieses Osmiumbild

unverändert während der Nachbehandlung beibehält; und ich muss bei solchen Prämissen die Schlussfolgerung berechtigt finden, dass wir, theoretisch betrachtet, gerade in einer solchen Behandlung eine »gute« Fixation zu sehen haben. Dem Zwecke der Fixierung, den Tellyesniczky mit vollem Rechte betont hat, nämlich dass dieselbe eine vollständige Koagulierung des Zelleninhalts bewirken soll, wird dadurch in keiner Weise widersprochen; eine solche tritt, wie erwähnt, unzweifelhaft allmählich in der Osmiumzelle ein. Es ist nur das willkürlich aufgestellte Prinzip, dass die Koagulation augenblicklich eintreten soll, dessen Richtigkeit dadurch bezweifelt wird. Ich kann jedoch nicht einsehen, warum es nicht rationeller sein sollte, anstatt einer derartigen Forderung jene aufzustellen, dass die Koagulation auf die Art und Weise vor sich gehen soll, die gerade in der neutralen oder alkalischen Osmiumzelle auftritt, nämlich so, dass es bei derselben nicht zur Abscheidung gröberer Partikel kommt; dass also, physikalisch-chemisch ausgedrückt, bei Übergang der Kolloidlösung (des Hydrosols) in Hydrogel die Phasen des heterogenen Systems mit unsern jetzigen Vergrößerungen mikroskopisch nicht unterschieden werden können. Ich will nun nicht unterlassen zu betonen, wie nahe dieser Gedankengang übereinstimmt mit dem von Tellyesniczky etwas unterschätztem Prinzip, das den fixierungs-theoretischen Betrachtungen Sjöbrings (66) zu Grunde liegt und ihn dazu bewog, das — sowohl nach seiner wie Tellyesniczky's Auffassung zu Fixierungszwecken der Osmiumsäure nahe verwandte — Formol als Plasmafixierer par préférence zu empfehlen.¹⁾

1) Nachdem das Manuskript schon fertig war, erschien eine neue, interessante Arbeit von Tellyesniczky (Ruhekern und Mitose, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 66, H. 3), wo er, insofern ich einsehen kann, seine fixierungstechnische Auffassungen nicht unwesentlich modifiziert hat. In der Tat scheint er sich dem Standpunkt genähert zu haben, welchen ich oben — wie man sieht, eben als Gegensatz gegen T.'s frühere Ansicht — eingenommen habe. Ich kann hier nur auf den Aufsatz T.'s hinweisen.

Nun ist es allerdings wahr, dass die Diffusionsverhältnisse, wie Tellyesniczky bemerkt, den Wert der Osmiumsäure als Stückfixierer bedeutend herabsetzen, aber es ist augenfällig, dass dies nicht die debattierte Prinzipfrage berührt, sondern nur die Detailfrage aufstellt: Unter welchen Bedingungen vermag die neutrale Osmiumsäure am besten ihre unzweifelhaft guten fixatorischen Eigenschaften zu entwickeln? Wir sehen, dass wir hiermit auf theoretischem Wege bei derselben Frage angelangt sind, wie sie sich aus vorliegenden Spinalganglienuntersuchungen ergab: Konserviert die Osmiumsäure das Zellenausssehen am besten peripherisch im Ganglion, wo sie direkt und hastig einwirken kann, oder ist dies der Fall in den zentralen Teilen des Ganglions, wo die Osmiumsäure auf Grund ihrer schlechten Diffusionsfähigkeit erst allmählich und in langsam steigender Konzentration einwirkt? Wir müssen diese Spezialfrage leider dahin beantworten, dass unsere Kenntnisse noch nicht genügend exakt sind, und ich referiere daher nur in grösster Kürze die Vermutungen, die in dieser Sache geäussert worden sind. Ich verweise dann zuerst auf den Streit, der betreffend die periphere, homogene Schicht in Präparaten, fixiert mit Flemmings Lösung, stattgefunden hat und hebe nur hervor, dass die Ansicht Rawitz' (63) über eine »Zertrümmerung des Kerngerüsts« in dieser peripherischen Zone zufolge einer »stürmischen Einwirkung der Osmiumsäure«, wie bekannt keineswegs von Flemming (21) selbst geteilt wird, der statt dessen das schlechte Hervortreten der Kernstrukturen daselbst nur den schwachen Differenzen in der lichtbrechenden Fähigkeit zuschreibt, welche die verschiedenen Kernsubstanzen nach Einwirkung von Osmiumsäure aufweisen. Tellyesniczky scheint sich mehr Rawitz' Anschauungsweise zuzuneigen, wenn er über die »ungünstige Wirkung« in der peripherischen Schicht spricht; diese seine Auffassung ist jedoch wohl viel mehr als eine Konsequenz seiner oben angeführten Grundprinzipie für die Fixierung als etwas direkt erwiesenes zu-

deuten.¹⁾ Schliesslich will ich erwähnen, dass sowohl Kopsch wie v. Bergen ohne jede Erläuterung eine »Überfixierung« der peripherischen Zellen bei Einwirkung von 2prozentiger Osmiumsäure auf Spinalganglien annehmen.

Können wir also noch nichts Gewisses sagen, so gibt es doch auf jeden Fall zwei nicht unwichtige Sachen, die uns bei einem Versuche, experimentell eine Lösung dieser Frage zu finden, als Richtschnur dienen können. Die erste derselben ist das Prinzip, das schon Kaiserlings und Germers erwähnten Versuchen zu Grunde lag und später auch gewissermassen Tellyesniczky zum Ausgangspunkte diente, nämlich dass die Fixierungsmittel, welche die Zellenmasse und die Zellenvolumen am besten konservieren, diejenigen wären, welche das grösste Vertrauen verdienen. Es ist offenbar, dass in diesem Prinzip eine Einseitigkeit steckt, die leicht einzusehen ist, aber die Schwächen des Prinzipes werden sicherlich bedeutend gemildert, wenn man ihm den folgenden, für unsere speziellen Zwecke vollständig genügenden, modifizierten Wortlaut gibt: Wenn ein und dasselbe Fixierungsmittel unter verschiedenen Bedingungen verschiedene Wirkungen hat, so ist dasjenige Bild von theoretischem Standpunkt aus betrachtet das am meisten vertrauenerweckende, bei welchem Zellenmasse und Zellenvolumen am exaktesten konserviert werden.

Den zweiten Leitfaden zum Versuche, das Problem zu lösen, können wir, glaube ich, in den Studien finden, die betreffs der Morphologie der Markscheiden und des Einflusses der Osmiumsäure auf dieselbe vorgenommen worden sind. Es würde uns jetzt zu weit führen, über die ganze umfangreiche Literatur zu berichten, welche diese Sachen berührt, und ich beschränke mich daher darauf, einige spezielle Untersuchungen von direkterem Interesse hervorzuheben. Zunächst erinnere ich daran, dass

¹⁾ S. jedoch die Note pag. 323.

intakte Nervenfaser bei Untersuchung an lebenden Tieren (ältere Amphibienlarven) einfache, nicht unterbrochene Konturen zeigen [Köl liker (52)], eine Ansicht, der schon Max Schultze und Rudneff (65) Ausdruck geben, wenn sie hervorheben, dass das osmierte Nervenmark »ein homogenes Aussehen behält¹⁾ oder sehr blasse Andeutungen fein kugelig er Struktur zeigt.« Diese Beobachtung, deren Wert keineswegs dadurch erschüttert wird, dass man hier und da bei Untersuchung frisch getöteter Tiere in »unschädlichen« Medien Unterbrechungen des Nervenmarks sehen kann, ist auch ein kräftig beitragendes Moment dazu gewesen, dass Köl liker (l. c.) zu der bestimmten Überzeugung gekommen ist, dass alle die »inneren Einrichtungen« (Schmidt-Lantermannsche Einschnürungen, »Markkegel«, Lantermannsche »Marknetze«, Neurokeratinnetze, Golgische »Fäden«), die man später — teilweise auch mit Osmiumsäure — in Markscheiden darstellen konnte, sämtlich Kunstprodukte sind und, wie Fürst (22) es ausdrückt, »nur auf der verschiedenen Einwirkung jedes Behandlungsmittels auf die verschiedenen Stoffe des Myelins und auf den Verhältnissen, unter welchen das Reagens einwirkt«, beruhen. »Frisches Nervenmark ist eine ganz gleichartige, zähflüssige Masse« (Köl liker). — Diese Meinung ist gleichwohl nicht allgemein angenommen worden. Wir sehen z. B., wie Prenant (62) unbedingt eine ganz entgegengesetzte Ansicht vertritt: »la gaine de myéline« sagt er (s. 392) »présente des interruptions de diverses formes«, und darauf folgt eine kategorische Hinweisung auf dieselben.

Eine abweichende Ansicht ist in letzter Zeit auch von Chiò (18) dargestellt worden. Seiner Meinung nach ist das Nervenmark vital in dicht nebeneinander liegenden Tropfen aufgeteilt, und gerade dadurch, sagt er, wird man unbefangen die verschiedenen Bilder erklären können, die man bei Behandlung mit

¹⁾ von mir gesperrt.

Osmiumsäure erhält. Wenn nämlich die Osmiumsäure nur dazu gelangt, die kortikalen Teile der Tropfen zu färben, so entsteht das Bild eines Lantermannschen Netzes; ist der ganze Tropfen durchfärbt, so erhält man auf Grund des grösseren Diameters des zentralen Teiles der Tropfen das Bild kleiner schwarzer Körner auf grauem Boden; wenn schliesslich die Osmiumsäure noch nicht so weit vorgedrungen ist, dass sie den zentralen Teilen der Tropfen die Oberhand in der Farbe verleiht, so entsteht in einem gewissen Augenblick das Bild einer vollständig homogenen Färbung des Nervenmarks. Mit dieser Erklärung folgt auch die Auffassung, dass sowohl die starken wie die schwachen Osmiumsäurelösungen der Reihe nach die verschiedenen Bilder darstellen werden und zwar nur mit dem Unterschiede, dass das Schlussstadium (kleine schwarze Körner auf grauem Boden) in kürzerer Zeit mit einer starken Lösung als mit einer schwachen solchen erreicht werden kann.

Diese neue Auseinandersetzung ist für uns von um so grösserem Interesse als sie die erste ist, die so konsequent festzustellen sucht, dass das Nervenmark vital in Tropfen eingeteilt ist -- dieselbe Aufteilung also, die in den zentralen Teilen der mit 2proz. Osmiumsäure behandelten Spinalganglien zu finden ist. Indessen will ich jedoch schon jetzt hervorheben, dass mehrere Beobachtungen die Hypothese Chiòs unhaltbar machen. Erstens einmal kann man ihm schon auf seinem eigenen Gebiete widerlegen; starke Osmiumsäurelösung (1—2proz.) bewirkt nämlich, sei die Behandlung auch noch so kurz, niemals Chiòs »erstes Stadium« [= Lantermannsche Netze], und zweitens widersprechen schon mehrere meiner eigenen Beobachtungen seinen Annahmen. Wie lange man auch Ganglien in 2proz. Osmiumsäurelösung liegen lässt, so verbleibt die peripherische Zone homogen aussehender Markscheiden doch bestehen und wie lange man auch Ganglien, die unmittelbar nach der Aussezierung in 2proz. Osmiumsäure zerzupft wurden, in dieser

Lösung liegen lässt, so entstehen gleichwohl keine Markscheiden mit Chiòs »Schlussstadium« (= Kornaufteilung). Ich bin in Wirklichkeit davon überzeugt, dass Chiòs Methodik nicht die beste gewesen ist um diese Frage definitiv abzumachen. Teils hat er nämlich keine stärkere Osmiumsäurelösung als eine 1 proz. verwendet, teils hat er, indem er nur Präparate untersuchte, die er durch Zerzupfung der in toto osmierten Nerven anfertigte, sich unzweifelhaft der Möglichkeit ausgesetzt, das eine Mal zur Beobachtung Markscheiden zu bekommen, die peripherisch lagen, und das andere Mal solche zu bekommen, bei welchen das Gegenteil zutrifft; und die Verschiedenheiten im Markscheidenbilde, die man im Zusammenhang mit diesen topographischen Verschiedenheiten gespürt hat, und die interessante Analyse, die man vorgenommen hat, um die Ursachen zu ihrem Entstehen zu erforschen, dürften doch der geschichtlichen Darstellung nach, die Chiò gibt, ihm nicht unbekannt gewesen sein und hätten von ihm nicht so unbeachtet gelassen werden dürfen, wie es der Fall gewesen ist.

In Wirklichkeit sind nämlich diese Untersuchungen, obgleich von geringer Anzahl, doch von allergrösstem Interesse. Der erste, der eine systematische Analyse in dieser Richtung unternahm, ist Pertik (60), und der Ausgangspunkt seiner Betrachtungen ist eine besonders eingehende komparative Studie über Nervenmark und »myelinogene Substanz«, wobei er beweisen will, dass Nervenmark gerade eine solche und zwar die homogenste ist. U. a. weist er auf den grossen Einfluss hin, den das Wasser auf beide auszuüben vermag, indem es die Entwicklung von »Myelininformationen« und deren schliessliche vollständige Verflüssigung bewirkt. Indem er dann zu einer Untersuchung über die Einwirkung der Osmiumsäure auf myelinogene Stoffe schreitet, findet er, dass die Osmiumschwärzung erst nach Entwicklung von Myelininformationen eintritt, wobei er auch beobachtet, dass, je schwächer die Osmiumsäurelösung ist, desto voll-

ständiger geschieht die Überführung von myelinogenen Substanzen in solchen; schliesslich, bei sehr starken Verdünnungen, tritt sogar eine Verflüssigung ein. Dasselbe findet nun, wie er sagt, auch hinsichtlich der Markscheiden statt, und »wie die myelinogenen Extrakte, so verbindet sich also auch das Nervenmark mit der Osmiumsäure unter Entwicklung von Myelininformationen. Bei Anwendung von 0,75—1proz. Lösung beschränkt sich diese Entwicklung auf die ersten Augenblicke der Einwirkung und steht mit der auftretenden Färbung alsbald still.«

Es war Boveri (14) vorbehalten, diese grundlegenden Untersuchungen Pertiks zu modifizieren und schärfer zu präzisieren. Er hebt nämlich hervor, dass, wenn die Entwicklung von Myelininformationen mit immer stärkeren Verdünnungen der Osmiumsäurelösungen immer mehr zunimmt und der Charakter derselben sich immer mehr denjenigen nähert, die bei reiner Wassereinwirkung entstehen, so muss man daraus die Schlussfolgerung ziehen, dass nicht die Osmiumsäure, sondern das mit ihr konkurrierende Wasser die Bedingungen für das Auftreten von Myelininformationen liefert. Die Osmiumsäure selbst ist im Gegenteil hinderlich für das Entstehen von Myelininformationen, und ihre Beteiligung an diesem Prozesse äussert sich nur darin, »dass sie die Wirkung des Wassers je nach ihrer Stärke in bestimmter Weise modifiziert«. Angesichts dieses Resultates analysiert er darauf die Einwirkung einer 0,5proz. Osmiumsäurelösung auf Nerven. Bei diesen Versuchen, sagt er, werden die peripherisch in den Nerven liegenden Nervenfasern unmittelbar von dieser 0,5proz. Lösung bespült und je näher die Fasern dem Zentrum der Nerven liegen, in desto stärkerer Verdünnung werden sie von der Osmiumsäure getroffen. Welches ist nun, fragt er sich, in dem mikroskopischen Präparate das sichtbare Resultat davon, dass die Osmiumsäure auf diese Weise in verschiedenen Konzentrations-

graden auf die verschiedenen Schichten des Präparates einwirkt. Die Antwort auf diese Frage lautet, dass »nur die ganz peripher gelegenen Fasern ihr Aussehen bewahren, die übrigen aber um so stärker verändert sind, je näher sie der Achse des Nervens liegen«. Die peripherischen Fäden haben nämlich »vollkommen sowohl die Formen und Dimensionen, als auch das ganze homogene Aussehen der lebendigen Faser bewahrt«, während, je näher man dem zentralen Teile des Nerves kommt, desto mehr nehmen die Nervenfasern ein verändertes Aussehen an, welches — trotz der etwas unsicheren Analyse, welche Boveri über die morphologischen Charaktere desselben machen konnte — unzweifelhaft mit den Bildern des kornaufgeteilten Nervenmarkes identisch sein dürfte, welche ich in den zentralen Teilen der mit 2proz. Osmiumsäure behandelten Ganglien beobachtet habe. Ich habe ja nämlich, wie schon erwähnt, dieses Bild auch in Ganglien konstatiert, die mit 0,5proz. Osmiumsäurelösung behandelt wurden, und ich erinnere auch daran, dass ich bei diesen Versuchen die peripherische Schicht von homogen gefärbten Markscheiden — und ebenso die peripherische Schicht ungefärbter Ganglienzellen — recht schmal und vor allen Dingen deutlich schmaler gefunden habe, als bei Versuchen mit 2proz. Osmiumsäure; eine Beobachtung, die sonach vollständig mit Boveris oben zitiertem Ausspruche harmoniert, dass bei einer derartigen Konzentration »nur die ganz peripher gelegenen Fasern ihr normales Aussehen bewahren«.

Das Prinzip, welches Boveri sonach aus guten Gründen aufstellt, ist also das, »dass die Osmiumsäurelösung bei richtiger, d. h. solcher Konzentration, bei der nicht nebenbei das Wasser zur Wirkung kommen kann (zwischen 0,5 und 1 Prozent) und bei direkter Einwirkung die Markscheide lebender Fasern so zu konservieren vermag, dass wir aus den so erhaltenen Bildern sichere Schlüsse auf die normale Form und Struktur derselben ziehen können«.

Nach Boveri haben eigentlich nur Gad und Heymans (26) zu dieser Prinzipfrage etwas hinzuzufügen gehabt. Sie zeigen, dass, wenn man »Myelin« aus Markscheiden in 90 proz. Alkohol löst, den Alkohol abdampft, den Rückstand mit Äther extrahiert und die Lösung dann eindunstet, so wird ein Körnchen dieser eingetrockneten Masse erst gefärbt, nachdem es durch Berührung mit Wasser zur Anschwellung gebracht wurde. Gleichwohl ist diese Beobachtung durchaus nicht mit dem Prinzip unvereinbar, das Boveri aufgestellt hat, denn nichts widerspricht der Annahme, dass das Nervenmark schon vital so wasserhaltig sein kann, dass keine weitere Wassereinwirkung direkt notwendig zur Färbung und Fixierung ist, und dass sonach die Wassereinwirkung bei Osmiumsäurebehandlung in Wirklichkeit zuerst in denjenigen Markscheiden zu Stande gekommen ist, die ihr homogenes Aussehen verloren haben.

Auf alle Fälle müssen wir jedoch diese Beobachtungen Pertiks und Boveris als einen bestimmten Leitfaden betrachten, wenn wir nun dazu übergehen, experimentell eine Lösung der Frage zu finden, die wir zur Beantwortung aufstellten: »Ist es — in den mit 2 proz. Osmiumsäurelösung behandelten Spinalganglien — die peripherische Schicht ungefärbter Zellen, die ihr vitales Aussehen am besten konserviert hat, oder ist dies vielmehr der Fall mit den mehr zentral gelegenen Zellen, die osmiumgeschwärzte Netze aufweisen?« Wir haben gesehen, wie die peripherische Schicht ungefärbter Zellen recht wohl topographisch mit den homogengefärbten Markscheiden übereinstimmt; wir haben gesehen, wie ein Forscher mit Köllikers Autorität ein derartiges Aussehen der Markscheiden als dem vitalen Aussehen am besten entsprechend betrachtet, und wir sehen nun, wie Boveri der Meinung ist, dass, so lange die Markscheiden bei Osmiumsäurebehandlung ein derartiges Bild aufweisen, man auch die Garantie dafür hat, dass die Osmiumsäure in der Weise eingewirkt hat, dass das mit derselben

konkurrierende Wasser nicht zur Wirkung kommen konnte. Wir sind dann gezwungen uns zu fragen: ist vielleicht, ebenso wie das Auftreten der Körnchenaufteilung in den Markscheiden, so auch das Vorkommen von osmiumgeschwärzten Netzen in den zentraleren Ganglienzellen durch eine Wassereinwirkung verursacht?

Das Experiment, zu welchem diese Frage Veranlassung gibt, ist sehr einfach. Es handelt sich augenfällig darum festzustellen, welche Veränderungen möglicherweise in den Zellenbildern entstehen, wenn die Ganglien zuerst einer verschiedenen langwierigen Wassereinwirkung ausgesetzt und erst dann mit 2%iger Osmiumsäurelösung behandelt werden. Hier erhält sonach das Wasser Gelegenheit vollständig unabhängig von der Osmiumsäure einzuwirken; bestätigen oder widersprechen dann die Resultate derartiger Versuche der Vermutung, die wir oben dargestellt haben?

Bei Beantwortung dieser Frage dürfte es, glaube ich, vorteilhaft sein, zuerst einen objektiven Bericht über die Befunde bei einer derartigen Untersuchungsserie zu geben, ehe ich zu den Schlussfolgerungen übergehe, und ich werde auch hinsichtlich einiger anderer Experimente von grösserer Bedeutung demselben Prinzipie folgen; es dürfte dadurch nämlich leichter sein zu beurteilen, ob meine Schlussfolgerungen wirklich berechtigt sind. Dem objektiven Berichte über die Untersuchungsserie füge ich unmittelbar die Variationen an, — dieselben sind, soweit ich beurteilen kann, niemals prinzipieller Natur — welche ich bei wiederholten Experimenten analoger Art beobachtet habe. Ich gehe sonach zu einem Referate einer Versuchsserie mit primärer Wasserbehandlung und darauf folgender Behandlung mit 2%iger Osmiumsäurelösung über. Das Untersuchungsmaterial war im vorliegenden Falle Ganglien von einem ungefähr 2 $\frac{1}{2}$ Monate altem Huhne. Sowohl die Wasser- wie die Osmium-

säureeinwirkung geschah bei Zimmertemperatur. Parallelversuche mit direkter Behandlung mit 2%-iger Osmiumsäure zeigten, dass nach 15 Tagen zahlreiche Netzapparate mit gewöhnlicher Lokalisation zentral im Ganglion gefärbt waren.

H₂O 1 St. — 2% Os O₄ 21 Tage. Sämtliche peripherische Zellen gefärbt, die meisten mit grossen plumpen Körner, alle ohne Spur von Netzanordnung. Die zentraleren Zellen grösstenteils gefärbt, mit in der Regel etwas kleineren, obgleich doch ziemlich groben Körnern; hier und da ein deutlicher Rest von Netzanordnung. Die Zellen zeigen überall einen deutlichen perizellulären Schrumpfraum. — Die Markscheiden erscheinen geschwollen und überall, wo sie nicht allzu dunkelfarben und grob sind, ist eine Körnchenaufteilung des Nervenmarks deutlich wahrnehmbar. Diese verschmelzt hier und da zu einem zusammenhängenden Netz, kann aber doch bei stärkerer Vergrösserung meistens in einzelne Körnchen aufgelöst werden.

H₂O 4 St. — 2% Os O₄ 16 Tage. Jede Zelle gefärbt, mit groben, öfters sogar ausserordentlich plumpen Körnern, die ohne eine Spur von Netzanordnung so gut wie die ganze Zelle ausfüllen. Die Zellen stets von ihrer Kapsel deutlich retrahiert. — Markscheiden teils mit grossen schwarzen Körnern, teils auch das Bild einer augenfälligen Netzstruktur zeigend, die weitmaschig und von feinen schwarzen Fäden aufgebaut ist.

H₂O 1 Tag — 2% Os O₄ 16 Tage. Sämtliche Zellen zeigen osmiumgeschwärzten Inhalt, diesen aber nun in Form von schwarzen, ständig geschlossenen Ringen mit lichtem Zentrum. Die Ringe von meistens mässiger Grösse, zuweilen doch grosse Dimensionen erreichend, zuweilen recht klein. Die Ringe stets von einander geschieden; nirgends Zeichen einer Netzanordnung. Grosse, pericelluläre Schrumpfräume. — Markscheiden grösstenteils zu Netzen verwandelt. (Fig. 10.)

H₂O 4 Tage — 2% Os O₄ 17 Tage. Die Zellen hochgradig geschrumpft, geben den Eindruck, als wenn sie zusammengefallen wären und sind licht; nur in einigen von ihnen befinden sich feine schwarze Körnchen. — Die Markscheiden sämtlich mit Netzverwandlung des Markes; das Netz hat oft sehr grobe Maschen.

H₂O 8 Tage — 2% Os O₄ 18 Tage. Die Zellen geschrumpft, durchaus ungefärbt. — Ein Teil Markscheiden zeigen noch ein schwarzgefärbtes Netz; die meisten werden aber nicht mehr von der Osmiumsäure gefärbt.

Dieser Beschreibung will ich nun eine fernere Beobachtung anfügen, nämlich die, dass, wenn die primäre Wasserbehandlung

kürzere Zeit als 1 Stunde dauert, so erhält man in den peripherischen Zellen, anstatt plumper, diffus gelagerter Körner, Bilder, wo eine deutliche Netzanordnung noch zu sehen ist, und man kann sogar (nach ungefähr $\frac{1}{2}$ stündiger Wassereinwirkung) in der peripherischen Schicht des Ganglions auch mehr oder weniger zahlreiche Zellen mit hübschen, gleichmäßigen Netzapparaten oder feinen Körnchenreihen finden.

Die Variationen im Resultate, die ich bei wiederholten analogen Experimenten erhalten habe, sind zweierlei Art: teils spielt, worauf ich später näher eingehen werde, die Temperatur des einwirkenden Wassers insofern eine gewisse Rolle, als die Entstehung und besonders die fortschreitende Veränderung der osmiumgeschwärzten Bilder innerhalb gewisser Grenzen durch Wärme beschleunigt und durch Kälte verlangsamt werden; teils erhält man oft kein so gleichmäßiges Aussehen sämtlicher Zellen im Ganglion wie in obenstehender Versuchsserie, sondern man kann z. B. schon nach einer kürzeren Wassereinwirkung zuweilen finden, dass Zellen mit solchem Aussehen, wie es in der berichteten Versuchsserie nach eintägiger Wasserbehandlung gefunden wurde, Seite an Seite mit Zellen mit durch und durch gefärbten, diffus gelagerten Körnern und sogar Zellen mit Resten von Netzanordnungen angetroffen werden. Ebenso kann man, wenn das Wasser solange einwirken konnte, dass die grösste Anzahl Zellen osmiumgeschwärzte Ringe zeigten, nicht selten einen Teil mit durch und durch gefärbten Körnern antreffen und einen anderen Teil, der schon — wie nach 4 tägiger Wasserwirkung in obenerwähnter Versuchsserie — hochgradig geschrumpft und ungefärbt ist.

Indessen sind, wie ich vorher erwähnt habe, diese Variationen meiner Auffassung nach ohne Bedeutung für die Prinzipfrage, zu deren Klarlegung die fraglichen Experimente angestellt worden sind. Immer spüren wir nämlich den augenfälligen Einfluss, den das Wasser auf das Aussehen der

Zellenbilder ausübt. Wir sehen, wie unter dieser Wassereinwirkung die periphere Zone nicht osmiumgeschwärzter Zellen verschwindet, wie das Wasser zuerst osmiumgeschwätzte Körnchenreihen und Netze in diesen Zellen bewirkt, und wie später, unter fortgesetzter Einwirkung des Wassers, die Netzanordnung ganz und gar verschwindet und dieselben Bilder (diffus gelagerte, plumpe Körner) auftreten, die wie oben als auszeichnend für die sehr schwache (0,1%-ige) Osmiumsäurelösung bezeichneten. Ebenso wie wir also vorher die Relation der verschiedenen Zellenbilder zu den verschiedenen Konzentrationsgraden der Osmiumsäure konstatieren konnten, so haben wir nun auch gesehen, dass dieselbe Serie von Veränderungen in den Zellenbildern bei fortschreitender primärer Einwirkung des Wassers entsteht. Wir müssen sonach mit **ja** die Frage beantworten, welche den angestellten Experimenten zu Grunde lag. Die beobachteten Verschiedenheiten müssen gerade dadurch verursacht sein, dass, je schwächer der Konzentrationsgrad der Osmiumsäure ist, desto mehr vermag das mit derselben konkurrierende Wasser — das Lösungsmittel für die Osmiumsäure — seinen Einfluss auszuüben. Die starke Lösung vermag den Einfluss des Wassers zu verhindern, — die Zellen verbleiben ungefärbt; die schwache oder die durch Diffusion geschwächte Lösung vermag dies immer weniger, — Osmiumschwärzung entsteht und entwickelt sich nach dem bekannten Schema.

Einen weiteren Beweis hierfür machen die Markscheiden aus. Bei Primärbehandlung mit Wasser verschwinden auch die gleichmäßigen, homogen gefärbten Scheiden und es entsteht eine Veränderung, die, wenn sie näher analysiert werden kann, gerade in einer Kornaufteilung besteht, — dasselbe Bild also, das bei Einwirkung einer schwachen Osmiumsäurelösung zu sehen ist.

Gleichwohl bleiben die Veränderungen bei der primären Wassereinwirkung nicht auf diesem Punkte stehen, sondern

schreiten sowohl in den Zellen wie in den Markscheiden weiter fort. Was zunächst die ersteren betrifft, so sehen wir nun ausserordentlich schön ein Zellenbild entstehen, das, wie wir schon vorher andeutungsweise berührten, zuweilen bei Behandlung mit 0,1 % iger Osmiumsäure auftritt. Wenn das Wasser nämlich genügend lange eingewirkt hat, beobachtet man in den Zellen osmiumgeschwärzte Ringe von zuweilen feinerem, zuweilen gröberem Kaliber (Fig. 10). Dass diese Ringe nicht analog mit den oft ringförmigen Schlingen sind, welche nicht selten von Teilen der osmiumgeschwärzten Netze gebildet werden, ist augenfällig; solche Schlingen sind nämlich oft eckig und nicht immer geschlossen, während die fraglichen Ringe, die nun nach langwieriger Wassereinwirkung entstehen, ohne Ecken, stets geschlossen und niemals zu Netzen vereinigt sind. Dagegen zeigen sie, sowohl hinsichtlich Grösse wie Lage, eine unverkennbare Ähnlichkeit mit den durch und durch schwarzgefärbten Körnern, die bei einer kürzeren Wasserbehandlung zu Tage treten, und sie können wohl schwerlich anders als eine fortschreitende Veränderung derselben gedeutet werden, eine Veränderung, die zum Resultate hat, dass die zentralen Teile der Tropfen nicht mehr die Fähigkeit besitzen, die Osmiumsäure zu reduzieren. Dass es sich hier nicht nur um eine unvollständige Färbung handelt, wird ganz einfach, z. B. dadurch bewiesen, dass in der oben berichteten Versuchsserie die Osmiumsäure eine ebenso lange Zeit auf die Ganglien einwirkte, welche einer eintägigen Behandlung mit Wasser ausgesetzt waren, wie auf die, welche 4 Stunden im Wasser blieben, ohne dass es doch in der ersteren zu der totalen Färbung der Körner gekommen war, wie in der letzteren.

Wenn wir also schliessen müssen, dass die Ringkörner ein Ausdruck der fortschreitenden Veränderung der osmiumsäurereduzierenden Substanz in den Zellen sind, so wird es dadurch auch klar, dass die ungefärbten Zellen nach 4 resp.

8 tägiger Wasserbehandlung das Schlusstadium der Veränderung bezeichnen. Die fragliche Substanz ist hier offenbar ganz und gar ausgelöst und gleichzeitig mit dieser Auslösung haben die Zellen kollabiert. Beim Anblick dieser verschiedenen Bilder, die bei fortschreitender Wassereinwirkung auftreten, denkt man unbedingt an Pertiks Analyse der Wassereinwirkung auf »myelinogene Substanzen«, an die »Myelinformationen«, die er das Wasser bewirken sah, sowie an die schliessliche, vollständige Verflüssigung derselben, die er beobachtete.

Dieselbe Illustration zu den Pertikischen Lehren er bietet auch die fortschreitende Veränderung, welcher die Markscheiden bei der Wasserbehandlung unterzogen werden. Wir sehen nämlich, wie die zuerst auftretende Kornaufteilung derselben von einer mehr oder weniger weitmaschigen Netzanordnung (Fig. 10) gefolgt wird, in welcher die Netzfäden osmiumgeschwärzt sind, und wie bei weiter fortgesetzter Wassereinwirkung die mit Osmiumsäure schwärzbare Substanz allmählich ausgelöst wird, so dass schliesslich auch in den Markscheiden kein Osmiumsäure reduzierender Stoff mehr zu finden ist. Was nun das osmiumgeschwärzte Netz angeht, so dürfte dieses unzweifelhaft dasselbe sein, wie das Lantermannsche »Marknetz«. Wir sehen sonach, wie auch dieses einer Wassereinwirkung sein Entstehen zu danken hat, ein Verhältnis, welches übrigens in besonders gutem Einklange mit der Tatsache steht, dass dieses Netz, wie bekannt, mit äusserst verdünnten Osmiumsäurelösungen ($0,02-0,05\%$: Chid; $0,008\%$ (!) : Lantermann) konstatiert worden ist. Die näheren Details bei der Umgestaltung des Nervenmarkes zu diesem Netze sind vielleicht nicht so leicht mit vollständiger Gewissheit festzustellen. Es ist nämlich wohl nicht ganz ausgeschlossen, dass das Nervenmark auf diese Weise direkt »lamellaufgeteilt« werden könne, obgleich ich mich vielmehr der Annahme zuneige, eine Bildungsweise anzunehmen, die eine grössere Ähnlichkeit mit den Verhältnissen

in den Zellen hat. Derart sollten die kornaufgeteilten Markscheiden ein Zwischenstadium bilden, die fortgesetzte Wassereinwirkung sollte diese Körnchen zu Ringkörnchen ebenso wie in den Zellen verwandeln, und es sollten sonach die schwarzgefärbten peripherischen Teile von Körnchen sein, welche — vielleicht unter gleichzeitiger Schwellung der Körnchen — optisch zusammenfliessen und Netzfäden bilden, während sonach die ungefärbten zentralen Teile der Körnchen die Maschen des Netzes bilden.

Wir haben somit nachweisen können, dass eine Primärbehandlung mit Wasser grossen Einfluss auf das Aussehen der Ganglienzellen und Markscheiden auszuüben vermag und wir stellen uns nun die Frage: Wie soll man angesichts dieses Resultates sich denken können, dass auch in einer Wasserlösung von Osmiumsäure das Wasser einen ähnlichen Einfluss ausüben kann? — Den natürlichen Ausgangspunkt für die theoretische Diskussion dieser Frage bildet ohne Zweifel die Beobachtung, dass, je schwächer die Osmiumsäurekonzentration ist, desto besser vermag das Wasser seine konkurrierende Einwirkung auszuüben, und wir können uns dann zwei Möglichkeiten denken. Die eine derselben ist, dass, wenn die Osmiumsäure schon von Anfang an von schwacher Konzentration ist, oder wenn eine stärkere Lösung durch Diffusionsverhältnisse genügend geschwächt ist, dieselbe nicht länger vermag den Zelleninhalt so exakt zu konservieren, dass nicht auch das gleichzeitig oder später in die Zelle eindringende Wasser einigen Einfluss auszuüben vermag. Die zweite Möglichkeit wäre die, dass wir in Wirklichkeit auch hier mit einer Primäreinwirkung des Wassers zu tun hätten und dies auf Grund von Diffusionsverhältnissen; dass es sich also um einen Wettlauf nach dem Zentrum des Ganglions handle, bei welchem das Wasser auf Grund seiner grösseren Diffusionsfähigkeit einen immer grösseren Vorsprung gewinnt und sonach, je mehr man sich dem Zentrum des Ganglions nähert, eine um

so grössere Zeit zu einer Alleineinwirkung erhält, ehe die langsamere diffundierende Osmiumsäure ankommt und dieselbe unterbricht.

Wir müssen uns nun schon im voraus sagen, dass es merkwürdig wäre, wenn die letztere, auf tatsächliche Verhältnisse aufgebaute Möglichkeit nicht wirklich vorliegen solle, und wir können sonach schon jetzt aus guten Gründen die Frage folgendermassen formulieren: Ist die letztere Möglichkeit die einzige wirklich vorliegende oder spielt auch die andere Möglichkeit ein? Die experimentelle Anordnung zur Beantwortung dieser Frage ergibt sich von selbst. Eine Primäreinwirkung des Wassers muss nämlich während einer gewissen, sicherlich nicht gar zu kurzen Zeit verhindert werden, wenn man, anstatt Wasser als Lösungsmittel anzuwenden, die Osmiumsäure in einer mit der Gewebsflüssigkeit isotonen Flüssigkeit löst. Zu diesem Zwecke habe ich eine physiologische (0,9%-ige) Kochsalzlösung verwendet, und ich gehe nun zu dem Berichte über eine Versuchsserie über, wo ich Osmiumsäure, in dieser Flüssigkeit zu verschiedener Konzentration gelöst, auf Spinalganglien einwirken liess. Parallelversuche mit Osmiumsäure, in Wasser gelöst, ergaben, wie wir sehen werden, die oben beschriebenen, für verschiedene Osmiumsäurekonzentrationen charakteristischen Resultate. Die Versuche wurden bei 23° C. vorgenommen und die Ganglien nach 8- bzw. 14-tägiger Einwirkung von Osmiumsäure untersucht. Die beiden schwächeren Osmiumsäurekonzentrationen [sowohl die Wasserlösung wie die Lösung in physiologischem Kochsalz] wurden während der Behandlung ein paarmal erneuert.

2% Os O₄ (in physiol. NaCl): Die Zellen beinahe stets ihrem Volumen nach so wohl beibehalten, dass die Kapsel sich ohne Zwischenraum dicht an dieselben schmiegt; einige Zellen jedoch mit mässigem peri-

2% Os O₄ (H₂O-Lösung): Zellen zeigen einen oft recht ausgesprochenen pericellulären Schrumpfraum. Peripherisch im Ganglion liegen 3—4 Zellenreihen ohne Spur von Färbung; zentral von diesen sind die meisten

cellulärem Spaltraum. Das am meisten peripherisch gelegene Zellenlager ungefärbt, aber unmittelbar nach innen davon fängt eine Färbung an, die nur in einer geringen Anzahl Zellen vermisst wird. Diese Färbung erscheint meistens als schöne, recht vollständige Netze; hier und da unvollständigere solche und feine Körnchenreihen. Nirgends Tropfenverdichtungen in den Maschen der Netze. Die Markscheiden: Nur einzelne weisen eine Körnigkeit auf; die überwiegende Anzahl sowohl peripherisch wie zentral gleichmäßig konturiert, homogen gefärbt. Die Achsenzyylinder meistens ohne Schrumpfung, oft mit gut bemerkbaren Fibrillen.

$1\frac{1}{2}\%$ Os O₄ (in physiol. Na Cl): Ein Teil der Zellen dem Volumen nach wohl beibehalten, die Mehrzahl jedoch mit mäßigem pericellulärem Schrumpfraum. In den peripherischen Zellenreihen sind ein Teil der Zellen ungefärbt, ein Teil jedoch weist schwarze Netze oder Körnchenreihen auf; in den zentralen Zellschichten nur sehr vereinzelte Zellen vollständig ungefärbt, die meisten zeigen gut ausgebildete Netze, die nirgends Tropfenverdichtungen aufweisen. Markscheiden meistens homogen gefärbt, zeigen aber hier und da tropfenförmige Zusammenklumpungen. Achsenzyylinder peripherisch oft schön beibehalten; zentral dagegen geschrumpft, diffus gelb gefärbt.

Zellen gefärbt mit oft gleichförmigen mehr oder weniger vollständigen Netzen. Gegen das Zentrum zu liegen doch einige Zellen mit Tropfenverdichtungen im Netze. — Markscheiden sind peripherisch gleichförmig konturiert, homogen gefärbt. Gleichzeitig mit der Zellenfärbung tritt eine sehr deutliche Körnchenaufteilung zu Tage. — Achsenzyylinder nicht nur zentral, sondern auch peripherisch deutlich geschrumpft, homogen gelb gefärbt.

$1\frac{1}{2}\%$ Os O₄ (H₂O-Lösung): Eine geringere Anzahl Zellen dem Volumen nach einigermaßen beibehalten; eine grosse Anzahl meistens zentral gelegener mit oft ziemlich starkem, pericellulärem Spaltraum. Die peripherische Zellenreihe zeigt nur vereinzelte Färbungen, aber unmittelbar zentral davon sieht man eine Färbung, die erst als feine Körnchenreihen und gleichförmige Netze auftritt und dann näher dem Zentrum immer stärkere Tropfenverdichtungen in den Netzen zeigt; zentral gibt es sogar einige Zellen mit diffus gelagerten, plumpen Tropfen. (Man kann sonach hier, wie öfters bei dieser Osmiumsäurekonzentration, besonders gut alle die verschiedenen Zellenbilder und ihre Beziehungen zur Topographie verspüren.) Markscheiden: Einzelne peripherische homogen gefärbt; sonst kornverwandelter Mark. — Achsenzyylinder geschrumpft, homogen gelb gefärbt.

0,1% Os O₄ (in physiol Na Cl): Zellen mit meistens mässigem, pericellulärem Spaltraum. In der peripherischen Zellschicht sind ebenso wie in der zentralen zahlreiche Zellen gefärbt. Färbung in den meisten Zellen in Form feiner Netze oder feiner Körnchenreihen; in einigen Zellen jedoch Tropfen oder sogar Ringkörnchen, die mit den vorhandenen Fäden eine noch deutlich wahrnehmbare Netzanordnung bilden. Markscheiden nur sparsam mit deutlicher Körnchenaufteilung, weisen aber dagegen zahlreiche, tropfenförmige Anschwellungen auf, sodass deren Konturen ungleichförmig sind. Ziemlich zahlreich kommen Lamellaufteilungen vor. Achsenzylinder peripherisch nicht selten noch wohl beibehalten; zentral dagegen geschrumpft, homogen gelb gefärbt.

0,1% Os O₄ (H₂O-Lösung): Starke pericelluläre Schrumpfräume. Zellen sowohl peripherisch wie zentral in grosser Zahl gefärbt; Färbung in einzelnen Fällen (in peripherischen Zellen) als Netze, in der überwiegenden Anzahl Zellen als grobe Tropfenverdichtungen mit geringem oder oft überhaupt keinem Überbleibsel von Netzanordnung. — Markscheiden nirgends homogen gefärbt, sondern entweder Körnchen- oder Lamell-(Netz) aufgeteilt. — Achsenzylinder stark geschrumpft.

Aus diesen Parallelserien dürfte hervorgehen, dass, wie wir es uns theoretisch gedacht haben, die letztere der beiden Möglichkeiten, die wir aufstellten, um die Fähigkeit des Wassers zu erklären, auch in der Osmiumsäurelösung Einwirkung auszuüben, in Wirklichkeit auch eine nicht unwesentliche Rolle spielt. Wir sehen nämlich einen augenfälligen Unterschied von dem Resultate, welches wir vorher als auszeichnend für die verschiedenen Osmiumsäurekonzentrationen bezeichneten, wenn wir nun, indem wir ein Eindringen des Wassers in die Zellen auf osmotischem Wege unmöglich machen, die Möglichkeit der Einwirkung eliminieren, die dem Wasser auf Grund seiner grösseren Diffusionsfähigkeit zukommt. Wir sehen, wie die Zellen dabei ihr Volumen besser beibehalten und wie die feine und gleichförmige Netzanordnung der osmiumgeschwärzten Bildung bedeutend langsamer zerstört wird. Wir sehen ferner, wie das Nervenmark augenfällig — im Gegenteil zu dem was Chiò (18) urgieren wollte — ihr gleichmässig konturiertes homogen gefärbtes Aussehen bedeutend länger beibehält, wenn es auf diese Weise die

ganze Zeit in einer Flüssigkeit mit konstantem osmotischen Druck verbleibt, und wir sehen schliesslich — vielleicht als den am deutlichsten sprechenden Beweis —, wie die sonst so leicht eintretende Schrumpfung der empfindlichen Achsenzylinder auf diese Weise offenbar besser verhindert wird. Wir haben sonach hier einen Beweis für die Ansicht, die z. B. Spalteholz (75) jüngst verfochten hat, dass die Frage von dem osmotischen Drucke in der Fixierungstechnik wirklich einspielen kann, — auch wenn wir unmittelbar hinzufügen müssen, dass es im ganzen genommen in der Fixierungstechnik nur recht wenige Gelegenheiten gibt, wo der osmotische Druck einwirken kann.

Wenn wir also auf diese Weise die Differenz zwischen den Resultaten mit einer Lösung von Osmiumsäure in Wasser und einer solchen in physiologischem Kochsalz erklären wollen, so dürften wir eine weitere Stütze hierfür finden können, indem wir eine Versuchsserie anstellen, in welcher wir Ganglien einer Primärbehandlung von verschieden langer Zeit, einerseits mit Wasser, anderseits mit physiologischer Kochsalzlösung aussetzen und darauf mit einer starken Osmiumsäurelösung nachbehandeln. Folgende Beschreibung schildert gerade eine solche Serie. Die Behandlung mit Wasser resp. physiologischer Kochsalzlösung geschah bei einer Temperatur von 35°C ., die nachfolgende Osmierung geschah bei Zimmertemperatur und wurde mit einer 2%-igen Lösung von Osmiumsäure in physiologischem Kochsalz vorgenommen.

Physiol. Na Cl $\frac{1}{2}$ St. — Os O₄ 16 Tage: Zellen dem Volumen nach wohl beibehalten; in den peripherischen Schichten sind sie ungefärbt: in den zentraleren sieht man neben ungefärbte auch solche mit Färbung in Form von Körnchenreihen und feinen Netzen. — Markscheiden sowohl in den peripherischen wie in den zentralen Zellschichten sind homogen gefärbt.

H₂O $\frac{1}{2}$ St. — Os O₄ 16 Tage: Zellen mälsig geschrumpft. Mit vereinzelt Ausnahmen zeigen sämtliche Zellen in den 2—3 meist peripherischen Schichten Färbung in Form von Körnchenreihen, Fäden und mehr vollständigen Netzen. — Markscheiden zeigen sowohl zentral wie peripherisch oft deutliche Körnigkeit.

Physiol. Na Cl 3 St. — Os O₄ 16 Tage: Zellen mit teils wohl behaltemem Volumen, teils mäfsig geschrumpft. Zahlreiche Zellen ungefärbt: die meisten zeigen jedoch Färbung, meist in Form feiner, zahlreicher, schwarzer Körnchen, aber auch nicht selten in Form von mäfsig grossen Ringkörnern; in einigen Zellen kommen feine Körnchenreihen, gleichförmige Netze und Netze in Zerfall vor. Die gefärbten Zellen liegen ebenso wie die ungefärbten sowohl peripherisch wie zentral. — Die Markscheiden sind teils gleichförmig, homogen gefärbt, teils körnig, teils auch — obgleich nicht gerade zahlreich — zu Netzen verwandelt.

H₂O 3 St. — Os O₄ 16 Tage: Zellen stark geschrumpft, sämtliche mit teils durch und durch ganz schwarz gefärbten, diffus gelagerten Körnern von zuweilen sehr voluminösen Dimensionen, teils mit Ringkörnern von wechselnder Grösse gefärbt. — Markscheiden hier und da ziemlich homogen gefärbt, meistens lamellär oder netzförmig verwandelt, an vereinzelten Stellen körnig.

Das Resultat dieser Versuche zeigt ja unzweifelhaft in der Richtung, die wir voraussehen konnten. Zellenvolumen und Markscheiden werden von der physiologischen Kochsalzlösung besser konserviert und sowohl das Auftreten von Färbungen in den peripherischen Zellschichten wie das Zerfallen der Netzanordnung der mit Osmiumsäure schwärzbaren Substanz wird verzögert. Dass schliesslich doch Färbung und Auslösung der fraglichen Substanz eintreten, dürfte kaum Erstaunen erregen, denn wir müssen wohl annehmen, dass die physikalisch-chemische Organisation (Plasmahaut) der Zellen sich nicht unbegrenzt beibehält, und wenn diese zerstört ist, kann die Isotonie der Lösung die Wassereinwirkung natürlich nicht länger verhindern.

Nun kommt jedoch die Kardinalfrage selbst: von welcher Natur ist die Wassereinwirkung, deren Vorkommen in den Ganglienzellen wir jetzt gefunden haben; ist sie ein physikalischer Prozess, eine Schwellung, oder ist sie ein chemischer, eine Destruktion? Ich gestehe, dass ich mich erst der letzteren Alternative zuneigte, und ich wurde dazu veranlasst teils durch Gads und Heymanns (26) Auffassung, dass Lecithin — der Stoff, der laut ihrer Ansicht, mit Osmiumsäure in den Mark-

scheiden geschwärzt wird — zwar in grosser Menge auch in den Ganglienzellen zu finden ist, dort aber doch nicht in dem freien oder locker gebundenen Zustand wie in den Markscheiden, sondern in einer anderen Form, vielleicht in einer festeren chemischen Bindung, welche nicht länger die Fähigkeit besitzt mit Osmiumsäure geschwärzt zu werden.

Was mich jedoch besonders geneigt machte, eine chemische Einwirkung des Wassers anzunehmen, waren die Schlüsse, welche Albrecht (1, 2) glaubte, über »die tropfige Entmischung des Cytoplasma« ziehen zu können. Den Ausgangspunkt seiner Untersuchungen bildete die Beobachtung, dass bei steriler Verwahrung verschiedener Organe bei Körpertemperatur mit oder ohne Zusatz indifferenten Flüssigkeiten, spätestens nach 24 Stunden Myelin auftritt und zwar ziemlich gleichförmig über die Zellen verteilt, in Form teils ganz feiner, teils ziemlich grober Myelinformationen. »Hiermit,« sagt der Verfasser, »war der Nachweis erbracht, dass im Protoplasma in der Tat eine leicht abtrennbare und entweder während des Lebens in Lösung oder in lockerer Verbindung mit Eiweisskörpern etc. befindliche Substanz vorhanden sei (Lecithin? Lecithalbumin? in Verbindung mit Proteiden?)«. Und da es sich nicht um einen Fett-Transport handeln kann, »so ist durch diese Beobachtung der Nachweis erbracht, dass eine mit Fett verwechselbare Substanz aus den Proteiden postmortal abgespalten werden kann (»postmortale Fettbildung« aus »Eiweiss«)«. Diese »tropfige Entmischung« wird sehr leicht hervorgerufen; »schon durch einfache Salzlösungen, ja auch durch Wasser« kommt sie zustande.

Gleichwohl scheint Albrecht (3) seine so kategorischen Behauptungen später etwas modifizieren zu wollen und findet es nun nicht unmöglich, dass »bereits physiologisch das »Myelinogen« in irgendwelchen sichtbaren Bildungen präformiert ist« (S. 130); — und auf gleiche Weise musste ich im Laufe der Untersuchung meine Ansicht ändern, indem Experi-

mente besser als theoretische Begründungen mir lehrten, dass die Einwirkung, die wir das Wasser hier auf die Ganglienzellen ausüben sehen, ganz einfach ein Schwellungsprozess ist. Die Experimente, welche dies, meiner Ansicht nach, beweisen, haben die Auffassung zum Ausgangspunkt, dass ein chemischer Prozess bedeutend durch Temperaturdifferenzen beeinflusst wird, während ein physikalischer dagegen wohl einigermaßen, aber doch nicht in so hohem Grade dieser Beeinflussung unterworfen ist. Mit diesem Ausgangspunkte habe ich zahlreiche Parallelversuche mit primärer Wassereinwirkung auf Ganglien bei 35° C. (Termostat) und 5—7° C. (Eisschrank) angestellt und das Resultat wurde das angedeutete. Allerdings geht die Wassereinwirkung schneller bei 35° C. vor sich, aber dieser Unterschied in Einwirkungshastigkeit bewegt sich doch innerhalb sehr mäßiger Grenzen. Besonders ist dies der Fall hinsichtlich des Zeitpunktes für das Auftreten der ersten Osmiumschwärzung in den Zellen der peripherischen Schicht. Nach 1/2 stündiger Wassereinwirkung bei 35° C. sind (so in der oben berichteten Untersuchungsreihe) meistens zahlreiche derartige Zellen gefärbt und auch bei Wassereinwirkung von 5—7° C. beobachtet man nach dieser Zeit zuweilen sparsamere, zuweilen zahlreichere, aber doch stets eine Zahl Färbungen in diesen peripherischen Zellen.

Eine derartige physikalische Erklärungsweise, dass sich in den Zellen sonach vital eine Substanz — sicherlich von Lipoidnatur — befinden solle, die die Fähigkeit besitzt im Wasser zu schwellen und dadurch befähigt wird mit Osmiumsäure geschwärzt zu werden, erleichtert es uns auch bedeutend eine Erklärung der Tatsache zu erhalten, dass bei direkter Behandlung der Ganglien mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöster Osmiumsäure, trotz der Isotonie doch Schwarzfärbung in den Zellen eintritt. Wir müssen, wie vorher erwähnt, hier eine Primäreinwirkung des Wassers ausschliessen. Soll das Wasser einwirken, so muss es gleichzeitig mit der Osmiumsäure oder nach derselben geschehen.

Und wollen wir uns nun theoretisch etwas hinsichtlich der Art einer derartigen Einwirkung denken, so müssen wir — nach Allem, was wir angehend die Fähigkeit der Osmiumsäure Zellen und Gewebe naturgetreu zu konservieren gelernt haben — jedenfalls zugeben, dass ebensoviel gegen die Annahme einer chemischen Destruktion eines schon von Osmiumsäure beeinflussten Zellenplasmas spricht, wie für die Möglichkeit, dass der Zelleninhalt noch nicht so unveränderlich fixiert ist, dass nicht eine durch Wasser schwellbare Substanz imstande wäre, das übrige Plasma etwas zur Seite zu drücken, wenn es bei Wasserzufuhr gezwungen wird zu versuchen dasselbe aufzunehmen und anzuschwellen.

Aus obigem ist ersichtlich, wie ungezwungen man auf diese Weise eine Antwort auf die ursprünglich aufgestellte Frage erhält: Ist es die bei Einwirkung von starker Osmiumsäure auftretende peripherische Zone ungefärbter Zellen, die am besten konserviert ist, oder ist dies statt dessen der Fall mit den zentraler gelegenen Zellen, die osmiumgeschwärzte Netze enthalten. Wir sehen, wie, wenn eine starke Osmiumsäurelösung ihre Einwirkung direkt ausübt, dieselbe den Zelleninhalt so unveränderlich zu fixieren vermag, dass keine Anschwellung und sonach auch keine Osmiumschwärzung zustande kommen kann; wir sehen, wie, wenn die Osmiumsäure bei der Diffusion geschwächt worden ist, oder dieselbe von Anfang an schwächer war, sie allerdings noch die Zellen gut konserviert, dies aber jedoch nicht mehr so unveränderlich, dass das Plasma einer Anschwellung ganz zu widerstehen vermag; eine Anschwellung, die (in den Präparaten durch die Osmiumreduktion markiert, welche in den angeschwollenen Partien vor sich geht), je nachdem sie vollständiger wird, feine diffuse Körnchen, Körnchenreihen und schliesslich, wenn die ganze Substanz angeschwollen ist, mehr oder weniger vollständige Netze hervortreten lässt. Wir sehen darin eine glänzende Bestätigung von sowohl Boveris wie Pertiks und

Gad-Heymanns Aussprüchen, wir sehen wie gut Boveris Auffassung zutrifft, dass es nur die starke, direkt einwirkende Osmiumsäurelösung ist, die so exakt konserviert, dass wir daraus einige Schlussfolgerungen hinsichtlich der vitalen Formen ziehen können, aber wir sehen gleichzeitig, dass die anderen Autoren Recht hatten, als sie erklärten, dass eine »myelinogene Substanz« erst zu Myelin überführt werden, d. h. mit Wasser schwellen müsse, um mit Osmiumsäure gefärbt werden zu können. Wir erhalten dadurch auch den Schlüssel zur Erklärung des Umstandes, dass in der gewöhnlichen Wasserlösung der Osmiumsäure die peripherische Schicht ungefärbter Zellen topographisch mit der Schicht gleichkonturierter, homogengefärbter Markscheiden zusammenfällt. Beide dieser Schichten müssen wir als diejenige erklären, welche die vitalen Verhältnisse am exaktesten wiedergeben; bei beiden müssen wir annehmen, dass kein Wasser von der Fixierungsflüssigkeit irgendwie eingewirkt hat; warum sind dann hier die Markscheiden gefärbt und die Zellen ungefärbt? — Die Antwort lautet: Ganz einfach aus dem Grunde, dass sich in den Markscheiden die fragliche Substanz schon vital in einem solchen Quellungszustande befindet, dass sie trotz tadelloser Fixierung doch Osmiumsäure aufnehmen und reduzieren kann, während in den Zellen diese Substanz artifiziell schwellen muss, um osmiumgeschwärzt werden zu können.

Meine Auffassung ist sonach die, dass die »peripherische Schicht«, weit davon entfernt irgend welche mehr oder weniger mystische »Überfixierung« zu bezeichnen, im Gegenteil die am exaktesten konservierte ist, und ich glaube mit einer weiteren Beobachtung diese Ansicht noch ferner stützen zu können. Ich erinnere daran, dass ich bei dem mehr theoretischen Debattieren über die Wirkungen der Osmiumsäure folgende von Kaiserling-Germer und Tellyesniczky geliehene aber modifizierte These als Leitfaden zur Lösung der Frage, wann die Osmiumsäure am besten einwirke, aufstellte: Wenn ein und dasselbe

Fixierungsmittel unter verschiedenen Bedingungen verschiedene Wirkungen hat, so ist, vom theoretischen Standpunkt aus betrachtet, dasjenige Bild das am meisten vertrauenerweckende, bei welchem Zellenmasse und Zellenvolumen am exaktesten konserviert werden. Wir haben nun in dem Vorstehenden gesehen, wie bei Einwirkung der Osmiumsäure die osmotischen Verhältnisse eine Rolle spielen, und wir können nun auch, indem wir Osmiumsäure zu verschiedener Konzentration in einer hypertonischen Lösung lösen (5% NaCl-Lösung), einen noch unzweideutigeren Beweis dafür erhalten, wo in den Ganglien und bei welcher Konzentration die Osmiumsäure die natürlichen Verhältnisse am sichersten konserviert, d. h. am besten vermag die Einwirkung osmotischer Verhältnisse zu verhindern. Ich referiere hier eine derartige Untersuchungsserie. Die Einwirkung geschah bei 23° C. und dauerte 8 Tage.

2% OsO₄ (gelöst in 5% NaCl-Lösung): Zellen hinsichtlich Volumen und Färbung deutlich in drei recht wohl abgegrenzten Schichten geordnet. Peripherisch liegen nämlich ungefähr zwei Zellenreihen, welche dem Volumen nach augenfällig wohl beibehalten, ihrer Farbe nach hellgrau sind und keine gefärbten Elemente enthalten. Innerhalb dieser beiden Reihen kommt eine intermediäre Zellschicht, deren Zellen wenig oder auf alle Fälle nur mäßig geschrumpft sind; die Schrumpfung ist nun auf die Weise geschehen, dass auch die Zellenkapsel an der Schrumpfung teilgenommen hat. Diese Zellen haben einen etwas dunkleren Farbenton und enthalten meistens feine, regelmäßige, ziemlich vollständige schwarzgefärbte Netze; in vereinzelt Fällen enthalten sie isolierte Fäden oder Körnchenreihen. Am zentralsten liegt die dritte Zellschicht, deren Zellen auf dieselbe Weise wie die zunächst ausserhalb liegenden geschrumpft sind, aber die Schrumpfung ist nun sehr hochgradig. Der Farbenton dieser Zellen ist noch dunkler als in der vorerwähnten Zellschicht; nur ein Teil der Zellen zeigen osmiumgeschwärzte Elemente und zwar in Form von meistens isolierten Stäbchen, zuweilen jedoch mit dem Totalbild einer Netzanordnung. — Markscheiden in der peripherischen Schicht gleichförmig und homogen gefärbt. In der intermediären Zellschicht tritt eine etwas ungleichmäßige Färbung auf, sodass hier und da gewisse Teile des Nervenmarkes stärker als andere hervortreten, und diese Ungleichheit wird in der dritten (zentralen) Schicht sehr hochgradig; doch

bekommt man jedenfalls den Eindruck, dass die Kontinuität des Nervenmarkes nicht aufgehoben ist.

$1\frac{1}{2}\%$ OsO_4 (gelöst in 5 Na Cl-Lösung): Zellenbilder hinsichtlich Volumen und Farbenton recht übereinstimmend mit den Funden nach Behandlung mit der 2%-igen Lösung, jedoch mit folgenden Unterschieden: 1. die peripherische, nicht geschrumpfte Zone ist in gewissen Teilen des Ganglions so gut wie vollständig verschwunden, an anderen kommt sie jedoch vor, aber umfasst nur ein einziges Zellenlager und dieses kaum ganz und gar; 2. dementsprechend sind die inneren Zellenschichten breiter geworden, besonders die zentrale Schicht der am meisten geschrumpften Zellen, welche nun eine bedeutende Umfassung hat. Hinsichtlich der Osmiumschwärzung sind die Zellen der peripherischen ungeschrumpften Schicht auch hier ungefärbt, die ebenfalls in geringer Zahl sich findenden intermediären Zellen zeigen oft deutliche feine Netzanordnungen, währenddem die zentrale Schicht den grösseren Teil ihrer Zellen ungefärbt hat; ein Teil hat jedoch einige stäbchenförmige Elemente gefärbt, worunter einzelne, die den Eindruck machen, dass sie der Schrumpfung besser widerstanden, ein ausgeprägteres, zusammenhängendes, osmiumgeschwärztes Netz haben. Die Schrumpfung geht stets Hand in Hand mit einer Schrumpfung der Kapsel, welche sonach überall in unmittelbarer Berührung mit den Zellen bleibt. — Entsprechend der Verschiebung der verschiedenen Zellenschichten sind auch die Markscheidenbilder verändert, sodass die peripherische, gut beibehaltene, homogen gefärbte Schicht vermindert und von den ungleichmässiger gefärbten ersetzt ist. Zentral ist diese Ungleichheit in der Färbung immer mehr gesteigert und hier werden nun auch netz- oder lamellförmige Aufteilungen der Markscheiden zahlreich beobachtet.

0,1% OsO_4 (gelöst in 5% Na Cl-Lösung): Die Veränderung in den Zellenbildern weiter fortgeschritten, sodass man nun kaum von den zwei peripherischen Schichten sprechen kann, sondern sämtliche Zellen sind stark geschrumpft. Nur einzelne Zellen weisen Färbung auf, meistens als isolierte stäbchenförmige Elemente. Markscheiden oft netz- oder lamellförmig aufgeteilt.

Betreffend die Hauptfrage, welche diese Versuche beleuchten sollten, dürften weitere Kommentare kaum von nöten sein, aber die erhaltenen Resultate lehren uns eine andere Sache, die von Interesse ist, und der ich mit einigen Worten Erwähnung tun will. Wir sehen nämlich, wie trotz der Wasserentziehung mittelst

der hypertonischen Lösung eine, wenn auch offenbar erschwerte Osmiumschwärzung in auch zentraler gelegenen Zellen vorkommt. Steht dies nun nicht im Widerspruch zu dem was vorher hervor-gehoben wurde, nämlich, dass eine artefizielle Wassereinwirkung eine notwendige Voraussetzung für Osmiumschwärzung wäre; ist hier nicht im Gegenteil eine Wasserentziehung vor sich gegangen und doch erhalten wir Färbungen? Die Sache ist — trotzdem sie anfänglich verwickelt aussieht — sehr einfach zu erklären: nur die primäre Wassereinwirkung wird aufgehoben und die sekundäre, die nach Einwirkung der Osmiumsäure nach anderen Gesetzen als den osmotischen zustande kommt, kann unbehindert vor sich gehen, auch wenn sie, wie wir sehen, offenbar dadurch erschwert wird, dass der Zelleninhalt durch die Schrumpfung bei der Einwirkung der hypertonischen Lösung allzu kompakt geworden ist.

Als Abschluss dieses Teiles der Untersuchung füge ich eine kurze Zusammenfassung der Hauptresultate hinzu, und ich beziehe mich dabei auf die Osmiumsäurelösung (2%-ige Lösung in Wasser die den Ausgangspunkt für unsere Diskussion bildete:

1. Bei Behandlung mit dieser 2%-igen Osmiumsäurelösung ist es die periphere Schicht ungefärbter Ganglienzellen und gleichförmig konturierter, homogen gefärbter Mark-scheiden (Fig. 7), die ihr vitales Aussehen am besten konserviert erhalten hat, und zwar deswegen, weil die Osmiumsäure hier eine so kräftige Wirkung zu erzeugen vermocht hat, dass das Wasser — das Lösungsmittel der Osmiumsäure —, welches darnach strebt, einen mit der Osmiumsäure konkurrierenden Einfluss auszuüben, einen solchen nicht geltend machen konnte.
2. Das Auftreten von osmiumgeschwärzten Netzen in den Ganglienzellen — wie auch die Kornaufteilung des Nervenmarks — zentraler in den Ganglien (Fig. 8) ist

dagegen gerade Ausdruck einer derartigen Wasserbeeinflussung. Diese Beeinflussung kommt auf zwei verschiedenen Wege zu Stande, welche beide im Zusammenhang mit dem schlechten Diffusionsvermögen der Osmiumsäure stehen. Teils nämlich gelingt es der Osmiumsäure nicht so schnell wie dem Wasser in die zentralen Teile des Ganglions vorzudringen, und das Wasser erhält sonach dadurch eine gewisse Zeit primär einzuwirken, ehe die Osmiumsäure anlangt, teils ist die Osmiumsäure, wenn sie durch die Diffusion geschwächt ist, nicht länger wie vorher (= peripherisch in den Ganglien) im Stande den Einfluss zu verhindern, den das Wasser auch in den schon von Osmiumsäure beeinflussten Zellen stets bestrebt ist, auszuüben.

3. Dieser Einfluss des Wassers hat eine Anschwellung zum Resultate. Wir sind sonach berechtigt, anzunehmen, dass sich schon vital ein »Binnennetz« in den Zellen befindet, und unsere Analyse lehrt uns, dass dieses Netz die Charaktere einer »myelinogenen Substanz« besitzt; es besitzt deren Fähigkeit, durch Aufnahme von Wasser zu quellen, und es erhält, ebenso wie eine solche, erst durch diese Wasseraufnahme die Fähigkeit, ebenfalls Osmiumsäure aufzunehmen und zu reduzieren. Der Unterschied zwischen der fehlenden Färbung des Netzes in den peripherischen Zellen und der Osmiumschwärzung desselben in den zentraleren zeigt uns sonach, dass das Netz sich vital in einem so ungequollenem Zustande befindet, dass eine artefizielle Wassereinwirkung nötig ist, damit man dasselbe durch Osmiumsäure-Reduktion mikroskopisch demonstrieren könne.

IV.

Wir müssen uns nun fragen: Können wir die Kenntnis, die wir über die Voraussetzungen für Osmiumschwärzung erworben haben, nicht auch in der Praxis ausnützen? Wir müssen, mit anderen Worten, die Frage aufstellen: Gibt es ein Fixierungsmittel, dass, indem es gleichzeitig die morphologischen Charaktere des Zellenplasmas gut konserviert, doch die Anschwellung des »Binnennetzes« mit Wasser nicht unmöglich macht, die die notwendige Bedingung dafür ist, dass dieses Netz sich mit Osmiumsäure imprägnieren und dieselbe reduzieren kann. Andererseits müssen wir auch, wenn wir ein derartiges Fixierungsmittel wirklich praktisch und zweckmäßig nennen wollen, die Forderung an dasselbe stellen, dass es mehr unabhängig von den Diffusionsverhältnissen sei als die Osmiumsäure, so dass wir sonach auf eine gleichmäßige Fixierung durch das ganze Ganglion rechnen können. Nach einer Vorbehandlung der Ganglien mit einem solchen Fixierungsmittel müssen wir darauf rechnen können, bei Nachbehandlung mit Osmiumsäure schöne, schwarzgefärbte Netze in sämtlichen Zellen zu erhalten und dadurch teils eine vollständigere Färbung als bei Behandlung mit Osmiumsäure allein zu bekommen und teils auch eine weitere Bestätigung der Richtigkeit vorerwähnter Analyse zu gewinnen. Wenn es nämlich in Vorstehendem nicht in so direkten Worten formuliert wurde, so ist es doch offenbar, dass die mangelhafte Färbung mit Osmiumsäure allein nicht nur in der peripherischen Zellschicht, sondern auch in zahlreicheren oder sparsameren, zentraler gelegenen Zellen als Ausdruck einer so kräftigen Fixierung des Zelleninhaltes von mir aufgefasst worden ist, dass eine Wassereinwirkung nicht zustande kommen konnte. Ist nun diese Auffassung richtig, so müssen, wie erwähnt, bei einer Behandlung, wie der oben angeführten, sämtliche Zellen gefärbte Netze zeigen.

Wo sollen wir nun ein derartiges zweckmäßiges Fixierungsmittel suchen? Wir müssen uns dabei zunächst sagen, dass es kaum der Mühe wert sein dürfte, es in der Gruppe der »guten Fixatoren«, nach Tellyesniczky's Ansicht, zu suchen, d. h. unter den Fixierungsmitteln, welche entweder an und für sich oder in gewissen Kombinationen schnell und energisch eiweissfällend wirken, denn wenn irgend ein Fixierungsmittel die Fähigkeit besitzen soll, sekundäre Einwirkungen auf das Zellenplasma zu verhindern, so muss es, theoretischen Berechnungen nach, gerade dieses sein. Um so viel mehr muss unser Suchen darauf ausgehen zu ergründen, ob es einen Stoff gibt, der nur eine geringe eiweissfällende Fähigkeit besitzt, gleichzeitig aber gute Voraussetzungen hat, die Morphologie des Zellenplasmas zu konservieren — also Eigenschaften, die auch, wie wir gesehen haben, auszeichnend für die Osmiumsäure selbst sind.

Einen solchen Stoff gibt es auch, und er er bietet sich um so leichter, als er hinsichtlich seiner fixatorischen Wirkungen gerade mit Osmiumsäure verglichen worden ist; dieser Stoff ist Formaldehyd. Ich erinnere hier noch einmal an die Äusserungen von Sjöbring (66) und Tellyesniczky (78) über eine derartige Übereinstimmung (auch wenn ich keineswegs der chemischen Erklärung über die Einwirkung des Formaldehydes zustimme, die Sjöbring gegeben hat).

Wenn wir nun auch nachsehen wollen, was man hinsichtlich der Einwirkung des Formaldehyds auf Eiweisslösungen in vitro gefunden hat, so finden wir auch hierbei eine unverkennbare Ähnlichkeit mit der Osmiumsäure. So hat Blum (12) gefunden, dass z. B. Serumalbumin und Ovoalbumin »vom Formaldehyd nicht nur nicht gefällt, sondern im gewissen Sinne sogar löslicher als vorher gemacht werden«; sie sind nämlich durch Formaldehydeinwirkung so verändert worden, »dass sie nunmehr auch beim Kochen der Mischung gelöst bleiben.« Fischer (19), der das Formaldehyd zwar zu seiner dritten Gruppe von Fixie-

rungsmitteln hinführt (mit den Charakteren: »Nukleinsäure, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden bei jeder Reaktion gefällt«), findet doch, dass dasselbe »selbst 40 Proz., jeden-falls nur mittlere Fällungskraft« hat, und Berg (8), der zuerst die Fähigkeit der 7proz., dann die der 10proz. und schliesslich die der unverdünnten 40proz. Formaldehydlösung verschiedene Nukleine und Nukleinsäuren zu fällen prüfte, »war über die äusserst geringe Wirkung auch dieser letzteren Konzentration erstaunt.« Ähnliche Beobachtungen, die an einigen im Leben flüssigen Bestandteilen des Gewebes wie eiweissreichen Transsudaten, Blutserum unter gewissen Umständen gemacht wurden, bildeten auch einen der Ausgangspunkte für Sjöbrings Diskussion über das Formaldehyd.

Nun wissen wir ja auch, vielleicht vor allem durch Sjöbrings mehrerwähnte Untersuchungen, wie gut Formaldehyd in gewisser Konzentration (10—8 Proz. = 1 Form. ven. + 4 aq.) die vitale Morphologie zu konservieren vermag, und wir haben auch alle Veranlassung anzunehmen, dass dasselbe mit seinem geringen Molekulargewicht — gerade im Gegensatz zur Osmiumsäure — ein gutes Diffusionsvermögen besitzen dürfte. Die sämtlichen Eigenschaften, welche wir als auszeichnend für unser gesuchtes Fixierungsmittel bezeichneten, finden wir sonach beim Formaldehyd wieder. Wie verlaufen nun die direkten Experimente bei Primärbehandlung der Ganglien mit diesem Mittel und darauf folgender Einwirkung von Osmiumsäure?

Zur Beleuchtung dieser Frage will ich nun erst über einen bestimmten Versuch berichten und wähle da einen der ersten, die ich vorgenommen habe, um hiervon ausgehend zu zeigen, welche Modifikationen in der Versuchsanordnung ich später passend gefunden habe, um in möglichst kurzer Zeit das beste Resultat zu erzielen. Die fraglichen Ganglien wurden in 10proz. Formaldehyd 4 Tage fixiert (= 1 Teil käuf. Formalin + 3 Teile Aq. dest.), kamen nachher für einen Tag in Wasser und wurden schliesslich

der Einwirkung einer gewöhnlichen 2proz. Osmiumsäurelösung ausgesetzt; sämtliche Experimente wurden bei Zimmertemperatur vorgenommen. Der Versuch wurde im Januar d. Js. gemacht; Parallelversuche mit direkter Einwirkung 2proz. Osmiumsäure ergaben noch nach 25 Tagen spärlich Zellen, die osmiumgeschwärzte Netze zeigten.

10% Formaldehyd 4 Tage — H_2O 1 Tag — 2% OsO_4 22 Tage: Zellen mit geringem oder mässigem pericellulärem Spaltraum. Sämtliche mit hellgelb gefärbtem Plasma, in welchem stets schwarz gefärbte Elemente in Form von Fäden mit grösserer oder geringerer Netzzusammenschliessung vorkommen und sich hübsch gegen den lichten Hintergrund abheben. In einigen Zellen, besonders in den peripherischer gelegenen, ist die Netzanordnung nicht ganz so elegant wie sie es in der überwiegenden Mehrzahl Zellen ist, sondern zeigt Tropfenverdichtungen. Feine Körnchenreihen kommen nicht vor, auch keine lichten „Kanäle“, dem von Bergenschen Typus I entsprechend. Markscheiden lamellförmig aufgeteilt.

Die Antwort auf unsere Frage, die dieser Versuch gibt, ist unzweideutig. Wir sehen, wie bei einer Methodik, wie der hier angewandten, in sämtlichen Ganglienzellen osmiumgeschwärzte Elemente zu Tage treten, und wie in den allermeisten derselben die vitale netzförmige Anordnung dieser Elemente sehr elegant konserviert worden ist; die theoretischen Überlegungen haben uns also den richtigen Weg gezeigt. Die elegant beibehaltenen Netze zeigen auch hier die Vortrefflichkeit des Formaldehydes als Konservator der morphologischen Charaktere des Cytoplasmas, das schöne Aussehen derselben auch am zentralsten in den Ganglien zeugt deutlich davon, wie wenig bei Einwirkung von Formaldehyd die Diffusionsverhältnisse einspielen, und das Auftreten der Färbung in sämtlichen Zellen gibt uns des Ferneren die Gewissheit, dass die Annahme einer Quellung des Netzes als eine notwendige Voraussetzung für die Osmiumschwärzung richtig ist, und lehrt uns gleichzeitig, dass Formaldehyd in der angewandten Konzentration trotz seiner guten formkonservierenden Eigenschaften eine derartige Anschwellung nicht unmöglich macht.

Indessen haftet dieser Methodik — wie auch der ursprünglichen Osmiumsäuremethode — ein Mangel an, nämlich die lange Zeitdauer der Behandlung, wie z. B. in dem berichteten Falle (einberechnet der schliesslichen Auswaschung und Einbettung) nicht weniger als 29 Tage. Andererseits gaben auch erneuerte Versuche an die Hand, dass man nach einer derartigen Behandlung mit 10proz. Formaldehydlösung 4 Tage hindurch, doch auf einzelne Zellen ohne osmiumgeschwärzte Elemente im Plasma stossen konnte und dies ganz besonders, wenn die Zimmertemperatur bei der Behandlung höher als in dem berichteten Falle war. Eine Verbesserung in der Methodik erwies sich sonach wünschenswert, und es gelang in der Tat auch ohne Schwierigkeit, sowohl die Behandlungszeit höchst wesentlich einzuschränken wie auch herauszufinden, unter welchen Bedingungen man vergewissert sein konnte, dass sämtliche Zellen ihre Binnennetze gefärbt bekamen.

Die am nächsten zur Hand liegende Erklärung zur Entstehung ungefärbter Zellen nach Behandlung mit Formaldehyd dürfte offenbar dieselbe sein, die wir zur Deutung der ungefärbten Zellen bei direkter Osmiumsäureeinwirkung anwandten, nämlich dass die Fixierung hier mit solcher Stärke geschehen ist, dass sie eine nachfolgende Wasseranschwellung unmöglich macht; und schon einige Parallelversuche zu den oben berichteten geben eine bestimmte Fingerweisung, dass eine derartige Erklärung auch hier zutrifft. Ich nahm nämlich gleichzeitig einige Versuche vor, bei welchen das 10proz. Formaldehyd mit 20proz. resp. mit 40proz. (unverdünntem) ersetzt wurde, und es zeigte sich nun, dass nach 4tägiger Einwirkung, nicht mehr wie mit der 10proz. Lösung sämtliche Zellen gefärbt wurden, sondern dass mit der 20proz. Lösung ein ganzer Teil, meistens peripherisch gelegener, ungefärbt verblieben und mit der 40proc. nur vereinzelte zentrale Zellen gefärbte Elemente zeigten. Wir sehen also, wie bei gesteigerter Stärke des Formaldehyds die

Osmiumschwärzung immer mehr abnimmt, und wir können diese Tatsache wohl kaum anders als einen Ausdruck immer exakterer Fixierung des Zellenplasmas deuten.

Indessen machte ich durch eine andere Variation in derselben Versuchserie noch eine Beobachtung betreffend die Einwirkungsweise des Formaldehyds, die mir zur Richtschnur diente. Ich unterbrach nämlich bei einigen Ganglien die Einwirkung des 40proz. Formaldehyds schon nach einem Tage und nun trat — anstatt der sparsamen Färbungen nach 4 tägiger Behandlung — Färbung in sämtlichen zentraleren und einem grossen Teile der peripherischen Zellen auf. Wir ersehen sonach daraus, wie, ebenso wie bei gesteigerter Konzentration der Formaldehydlösungen auch mit der erhöhten Zeitdauer für deren Einwirkung eine immer festere Fixierung des Zellenplasmas eintritt, und spätere Versuche haben — wie auch zu erwarten war — mir gelehrt, dass auch ein dritter Faktor — die Temperatur — während der Einwirkung in dieser Hinsicht eine nicht unwesentliche Rolle spielt. Je höher diese nämlich ist, desto geringer braucht die Formaldehydkonzentration zu sein, um schliesslich die zur Osmiumschwärzung notwendige Wasseranschwellung des Binnennetzes unmöglich zu machen. So gibt z. B. auch die 10proz. Formaldehydlösung, wenn sie 4 Tage bei einer konstanten Temperatur von 23—24° C. einwirkt, gewöhnlich recht viele ungefärbte Zellen; und nach einer ebenso langwierigen Einwirkung bei 35° C. erhält man nur eine geringe Anzahl Färbungen.

Also, die Faktoren, mit denen man bei Formaldehydfixierung zu rechnen hat, sind die Konzentration der Lösung, die Zeitdauer der Einwirkung und die Temperatur, unter welcher diese vor sich geht, und es ist nun nicht schwer, mit diesen Umständen vor Augen, zu einer exakten Kenntnis darüber zu gelangen, wann eine vollständige Osmiumschwärzung zu berechnen ist. Was nun zunächst die Konzentration der Formaldehydlösung angeht,

so ist diese die am wenigsten modifizierbare der drei Momente. Wir müssen nämlich stets daran denken, nicht nur die Möglichkeiten für eine Osmiumschwärzung zu erhalten, sondern auch so vollständig wie möglich die Morphologie des Zellenplasmas zu konservieren, und in diesem Falle ist es kaum rätlich eine schwächere als 10proz. Lösung des Formaldehyds anzuwenden. — Die beiden anderen, auf die Fixierung einwirkenden Faktoren können dagegen umsomehr nach Belieben variiert werden und, nachdem was oben angeführt wurde, ist es deutlich, dass wir gerade durch eine kürzere Einwirkung der Formaldehydlösung bei einer relativ niedrigen Temperatur auf die möglichst vollständige Färbung rechnen können — wobei doch gleichzeitig die starke Konzentration der Lösung vermag, die morphologischen Charaktere gut zu konservieren. Dies ist auch vollkommen der Fall und zahlreiche Versuche haben mir gelehrt, diese allgemeinen Prinzipien im folgenden Satz zusammenzufassen: Die Behandlung, die bei dem angewandten Materiale (Spinalganglien von Huhn) unseren Zwecken am besten entspricht, ist eine Einwirkung von 10proz. Formaldehydlösung (1 Teil käuf. Formalin + 3 Teilen aq. dest.) während einer Zeitdauer von ungefähr 8 Stunden bei einer Temperatur von 5—7° C. (Eisschrank). Mit einer derartigen Behandlung habe ich stets Osmiumschwärzung in sämtlichen Zellen erhalten, und die Netzanordnung ist gut beibehalten mit gleichförmigen, eleganten Netzfäden in der grossen Mehrzahl der Zellen.

Hiermit ist es uns also gelungen eine der beiden Verbesserungen in der ursprünglichen Methodik durchzuführen, die wir als notwendig aufstellten, und wir gehen nun zur Erwähnung der anderen über, zur Frage, auf welche Weise wir die Methodik auf eine kürzere Zeit beschränken können. Wir haben schon gesehen, wie die Zeit der Formaldehydeinwirkung von 4 Tagen auf 8 Stunden reduziert wurde, und wir werden auch finden, dass die beiden nachfolgenden Prozeduren, Wasser- und Osmium-

säurebehandlung, nicht unwesentlich verkürzt werden können. Was nun zunächst die auf Formaldehyd folgende Wasserspülung betrifft, so hat diese eine doppelte Bedeutung; teils dient sie dazu aus den Ganglien das Formaldehyd zu entfernen, womit sie mechanisch durchdrungen sind, verhindert sonach die diffuse, mehr oder weniger hochgradige Osmiumsäurereduktion, zu welcher das bleibende Formaldehyd sonst Veranlassung gibt und bewirkt dadurch, dass die Zellenbilder nach der Osmierung klarer und schöner werden, wobei sich die Osmiumnetze sehr hübsch gegen den lichten Hintergrund abheben; teils bewirkt sie natürlicherweise eine die Osmiumschwärzung vorbereitende Anschwellung der Netze, eine Tatsache, die auch dadurch bestätigt wird, dass, wenn diese Wasseranschwellung ausgeschlossen wird, die Netzfärbung deutlich später eintritt. Es zeigt sich jedoch, dass eine derartige, vorbereitende Anschwellung durchaus nicht direkt notwendig ist, weil das Wasser in der Osmiumsäurelösung genau dasselbe verrichten kann, und was die erstere Aufgabe, die mechanische Auswaschung des bleibenden Formaldehyds betrifft, so geht mit aller Deutlichkeit aus meinen Versuchen hervor, dass eine derartige Auswaschung, die ich am liebsten in fließendem Wasser vornehme, nicht länger als auf eine Stunde ausgedehnt zu werden braucht.

Es ist jedoch in der dritten Phase der Methodik — der nachfolgenden Behandlung mit Osmiumsäure — wobei die wesentlichste Zeitersparung gewonnen werden kann und zwar ganz einfach, indem man die Osmiumsäure bei höherer als Zimmertemperatur einwirken lässt. Eine solche Temperatur hat ausserdem, wenn sie konstant ist, vor der zu verschiedenen Jahreszeiten ungleichen Zimmertemperatur den Vorteil, dass man für den Eintritt der Osmiumschwärzung eine exakte Zeitbestimmung geben kann. So stellen sich die ersten Andeutungen von Färbung bei 23—24° C. schon nach 3—4 Tagen ein und nach 7 Tagen ist die Färbung sehr vollständig; bei 35° C. erhält man

schon nach 2 tägiger Einwirkung der Osmiumsäurelösung sehr schöne Bilder. Ich kann diese letztgenannte schnelle Färbung umsomehr empfehlen, als man auch bei ihr durch das ganze Ganglion denselben schönen Kontrast zwischen den schwarzen Netzen und dem lichten Zellenhintergrund erhält wie bei Osmiumeinwirkung bei niedrigerer Temperatur. Eine ungleichmäßige Färbung mit schwacher Färbung an einigen Stellen und schon Überfärbung an anderen habe ich für meinen Teil niemals bekommen, -- was dagegen, woran ich erinnere, sehr leicht eintritt, wenn man bei 35°C. die Ganglien einer direkten Einwirkung der Kopsch'schen Osmiumsäurelösung aussetzt.

Ich glaube sonach, dass wir allen Grund haben mit dieser Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode zufrieden zu sein. Sie er bietet, wie wir nun sehen können, eine nicht unwesentliche Zeitersparnis und sie gibt uns vor allen Dingen und im Gegensatz zur Kopsch'schen Methode eine Färbung, die, wir haben alle Veranlassung zu dieser Annahme, eine vollständige ist, wenn nur die Methode auf obenstehende Weise richtig angewandt wird; eine Färbung, deren Vollständigkeit sich sicherlich nicht nur darin äussert, dass alle Ganglienzellen gefärbte Elemente enthalten, sondern sich auch auf eine solche Weise dokumentiert, dass wir zu behaupten wagen, dass sämtliche vorkommenden Teile des Osmiumnetzes angeschwollen und geschwärzt zutage treten. (Fig. 18.)

Dass im Zusammenhang mit der Osmiumschwärzung eine Anschwellung wirklich vorkommt, kann man auch direkt unter dem Mikroskop studieren. Wenn man nämlich (nach Behandlung auf angegebene Weise mit 10% Formaldehyd in Kälte 8 Std., danach Wasserauswaschung 1 Std. und dann Osmiumschwärzung) die Ganglien gerade im Anfang der Osmiumschwärzung untersucht (z. B. nach 4 tägiger OsO_4 -Einwirkung bei 23°C. oder nach einer 5—10 stündigen solchen bei 35°C.), so erhält man einen unmittelbaren Eindruck davon, wie fein und grazil die

grauen oder grauschwarz gefärbten, oft kaum vom übrigen Cytoplasma sich abhebenden Fäden des Binnennetzes sind (Fig. 17). Betrachtet man danach unter dem Mikroskop die Ganglien, die länger (7—10, resp. 2 Tage) in der Osmiumsäure gelegen haben, so kann man sich nicht des Eindrucks wehren, dass zugleich mit der zunehmenden Stärke der Osmiumschwärzung die Netzfäden augenfällig gröber geworden sind (Fig. 18), und dieser Eindruck steigert sich noch, wenn die Osmiumsäurebehandlung des weiteren ausgestreckt wird (14 resp. 4 Tage) (Fig. 19). Das Ganze ist zu evident, als dass es eine optische Täuschung sein könne, die durch den immer stärkeren Farbenkontrast zwischen dem Netze und dem übrigen Zellenplasma hervorgerufen wird.

Zur Debatte dieser Methodik will ich nun nur noch eine fernere Anweisung von mehr praktischem Interesse zufügen. Um gute Bilder zu erhalten ist es nämlich wichtig eine Formaldehydlösung anzuwenden, die nicht zu lange gestanden hat, und dies hat wahrscheinlich seinen Grund darin, dass in älteren Lösungen, besonders wenn sie nicht in dunklem Gefäss verwahrt werden, durch Oxidierung des Formaldehyds eine Verunreinigung mit Ameisensäure entsteht. Experimente, mit einer mit Ameisensäure versetzten frischen Formaldehydlösung ausgeführt, legen auch zu Tage, dass Ameisensäure, wenn sie in genügender Konzentration vorkommt, die Osmiumschwärzung sogar ganz und gar zu verhindern vermag. Diese Beobachtung lehrt uns auch, dass wir die Formaldehydfixierung im Dunkeln vornehmen müssen, wodurch wir dann am besten dem Auftreten einer Oxydation während der Behandlung vorbeugen und sonach eine störende Einwirkung der Ameisensäure vermeiden¹⁾.

¹⁾ Ich habe zu meinen Versuchen teils Scherings „Formalin“, teils Mercks „Formaldehydum solutum“ benutzt, und auf Grund der Erfahrung, die ich dabei gewonnen habe, muss ich dem letzteren einen kleinen aber bestimmten Vorzug einräumen, hinsichtlich der Fähigkeit, die morphologischen Charaktere der Netze zu konservieren.

Was diese Untersuchung uns sonach gelehrt hat, geht in Kürze aus folgendem hervor:

1. Die Ansicht, zu der wir in Vorhergehendem gelangten, nämlich, dass eine Wasseranschwellung des Binnennetzes notwendig ist, damit dieses osmiumgeschwärzt werde, wird auf das schönste durch die Resultate bestätigt, welche die Versuche mit Formaldehyd ergaben. Gleichzeitig hat uns das Stadium der Einwirkungsweise dieses Fixierungsmittels zu einer Methodik geführt, die osmiumgeschwärzte, morphologisch gut konservierte Netze, überall wo solche zu finden sind, d. h. in sämtlichen Ganglienzellen eines Spinalganglions schnell, sicher und vollständig darzustellen vermag.
2. Diese Methodik besteht in einer Primärbehandlung mit einer Formaldehydlösung, Auswaschung mit Wasser und Nachbehandlung mit einer gewöhnlichen 2proz. Wasserlösung von Osmiumsäure. Die spezielle Versuchsanordnung, die hinsichtlich des hier vorliegenden Untersuchungsmateriales (Spinalganglien von Huhn) die schnellsten und schönsten Resultate gegeben hat, ist die folgende gewesen (s. Fig. 18):
 - a) 10proz. Formaldehydlösung (= 1 Teil käufl. Formalin + 3 Teile aq. dest.) in 5—7° C. während 8 Stunden.
 - b) Wasserauswaschung 1 Stunde.
 - c) 2proz. Osmiumsäurelösung bei 35° C. während 2 Tagen.¹⁾
3. Frische Formaldehydlösung und Einwirkung derselben im Dunkeln sind Bedingungen einer guten Färbung.

¹⁾ Ich brauche wohl kaum hervorzuheben, dass bei anderem Material als Spinalganglien von Huhn die ebenerwähnte, spezielle Formulierung der Methode eventuell geändert werden muss, wenn die vollständigste Färbung der Binnennetze erhalten werden soll. So habe ich z. B. in Spinalganglien von Kaninchen erst durch Primärbehandlung mit 40proz. (unverdünntem) Formaldehyd und mehrstündige Auswaschung sämtliche Binnennetze gefärbt erhalten. Es gilt also in jedem Falle die beste Versuchsanordnung experimentell herauszufinden.

V.

Es dürfte nun an der Zeit sein, auf einige Augenblicke zu zwei alten Bekannten zurückzukehren, nämlich zu den v. Bergenschen Kanälchen, Typus I und II, und ich verweile dann zuerst bei den letzteren. Ich erinnere hier aufs neue daran, dass ich bei Behandlung mit der unveränderten Kopschschen Methode diese Kanälchen zweiten Typus vor allem in Zellen ohne osmiumgeschwärzte Netze oder mit nur sparsam vorkommenden Teilen solcher angetroffen habe, und dass sie ohne Zweifel an Frequenz zunehmen, wenn die Osmiumsäurebehandlung bei 35° C. geschah; und wir können nun nicht im Zweifel darüber sein, was dieser Befund zu bedeuten hat. Derartige Zellen müssen wir nämlich auf Grund obiger Erfahrungen als die am exaktest fixierten betrachten, was mit andern Worten bedeuten will, dass deren Cytoplasma überhaupt nicht oder nur höchst unbedeutend eine nachfolgende Dehnung zulässt, und es ist offenbar, dass ein derartiges Plasma — z. B. bei Wasserentziehung mit Alkohol bei der Einbettung — leicht über seine Elastizitätsgrenze hinaus versucht werden und dabei an einer oder mehreren Stellen springen kann. Sind nun diese »Kanälchen« in Wirklichkeit derartige artefizielle Sprünge im Plasma, so dürfte weiteres Beweismaterial hierfür von den Formaldehydversuchen zu holen sein. Wir müssen nämlich schliessen, dass in diesem Falle auch hier bei stärkerer Fixierung (= Behandlung mit starken Lösungen, lange Einwirkungsdauer, hohe Temperatur) eine nicht unbedeutende Erhöhung in der Anzahl dieser »Kanälchen« zu erwarten steht. Die Resultate der Formaldehydversuche zeigen auch, dass dies ohne Zweifel der Fall ist. Während nämlich nach Behandlung mit 10proz. Lösung 8 Stunden in Kälte keine oder nur sehr wenige »Kanälchen« entstehen, so treten solche dagegen nach viertägiger Einwirkung von 40proz. (unverdünntem) Formaldehyd schon bei Zimmertemperatur in den meisten Zellen

im Ganglion auf und zwar nicht selten sehr zahlreich (Fig. 14). Ich kann, nach dem was hier oben gesagt wurde, diese Bilder unmöglich anders als reine Artefakten auffassen, und diese Auffassung gewinnt fernere Stütze durch die Beobachtung, dass auch, wenn man mit Formaldehydbehandlung Schwarzfärbung des Binneernetzes erhält, doch zuweilen derartige Kanälchen zu Tage treten; hierbei kann man dann, womöglich noch deutlicher als in Ganglien, die mit der Kopsch'schen Methode behandelt wurden, sehen, dass es zwischen diesen lichten Sprüngen und dem Binnennetze durchaus keinen morphologischen Zusammenhang gibt (Fig. 15).

Wenn ich also wage, über diese Kanälchen eine Meinung kategorisch auszusprechen, so wage ich es dagegen keineswegs hinsichtlich der v. Bergenschen Kanäle des Typus I, derjenigen sonach, die morphologisch mit dem osmiumgeschwärzten Binnennetze übereinstimmen sollen. Ich habe nämlich mehrmals geglaubt, der definitiven Lösung der Frage von ihrer Entstehung nahe zu sein, habe mir aber jedesmal sagen müssen, dass ich in Wirklichkeit entfernter davon war, als ich selbst glaubte. Zuerst war die Beobachtung, dass bei der primären Wasserbehandlung schliesslich eine Auslösung der mit Osmiumsäure schwärzbaren Substanzen eintritt, der Ausgangspunkt meiner Versuche und ich legte mir die Frage vor: sind vielleicht »die Kanälchen des ersten Typus« derartige Auslösungsbilder? Eine bestimmte Stütze für diese Auffassung meinte ich durch die Versuche mit 0,1-proz. Osmiumsäure in physiologischer Kochsalzlösung zu erhalten. Wenn ich nämlich bei einer Temperatur von 35° C die Ganglien mit einer derartigen Lösung behandelte und dieselbe wenigstens einmal täglich erneuerte, so erhielt ich nach 3—4 Tagen zahlreiche, einigermaßen gut konservierte, osmiumgeschwärzte Netze sowohl in den peripherischen wie in den zentralen Zellen, wenn ich aber die Ganglien in einer und derselben Lösung (also ohne Erneuerung) liegen liess, erhielt

ich nur spärliche Osmiumschwärzungen, wohl aber in recht vielen Zellen Züge, die, wenigstens an gewissen Stellen, eine ausgeprägte morphologische Ähnlichkeit mit dem Binnennetze hatten. Nun musste ich mir gleichwohl sagen, dass dieser letztere Fund, auch wenn er eine Auslösung bedeutet, nicht unmittelbar auf das Resultat mit einer Wasserlösung der Osmiumsäure übergeführt werden kann. Wie schon vorher erwähnt, entstehen nämlich mittelst einer solchen Lösung von entsprechender Stärke (0,1 Prozent) als Zeichen einer beginnenden Auslösung keine langgestreckten Kanäle, sondern statt dessen runde »Ringkörnchen«. Ich dachte mir jedoch, dass man die nach Behandlung mit 2proz. Wasserlösung der Osmiumsäure entstehenden Kanälchen des ersten Typus auf folgende Weise erklären könne: Zuerst fixiert die Osmiumsäure die Zellen in solchem Maße, dass die Morphologie des Netzes verhindert wird gar zu viel destruiert zu werden und darauf kann, besonders wenn die Stärke der Osmiumsäurelösung durch Reduktion in vitro bedeutend abgeschwächt worden ist, das Wasser — erst schwellend und dann auslösend — einwirken; lichte Kanäle entstehen sonach mit der Morphologie des Netzes. Um diesen Erklärungsversuch zu prüfen, habe ich zahlreiche Experimente gemacht, indem ich zunächst eine kürzere Zeit (bis 1½ Stunden hinab) eine 2proz. Osmiumsäurelösung auf die Ganglien einwirken liess, dieselben dann einer Wasserbehandlung von verschiedener Dauer (bis zu 8 Tagen) aussetzte und sie schliesslich wieder mit 2proz. Osmiumsäure und zwar so lange Zeit behandelte, wie es zu einer guten Osmiumschwärzung notwendig ist. Das Resultat dieser Versuche wurde jedoch das gerade Gegenteil zu dem, was ich erwartet hatte. Trotz genauesten Suchens fand ich kaum eine einzige solche, mit lichten Kanälen versehene Zelle, wie ich erwartet hatte. (Was ich jedoch bei diesen Versuchen fand, war, dass das Binnennetz nach einer derartigen intermediären Wasserbehandlung der Präparate, bedeutend schneller

osmiumgeschwärzt wurde als die Netze in den Zellen der Ganglien, die als Kontrollprobe einer gewöhnlichen Behandlung nach der Kopschschen Methode ausgesetzt wurden).

Damit war es also mit dieser Hoffnung vorbei und ich fing nun von Anfang und einem andern Ausgangspunkte an. Ich ging nämlich von der Beobachtung aus, die ich — wie auch v. Bergen — gemacht habe, dass in den Zellen, wo Kanälchen »des ersten Typus« beobachtet werden, das Plasma nicht selten ziemlich stark diffus dunkelgefärbt ist, und ich legte mir da die Frage vor, ob dies nicht möglicherweise bedeuten könne, dass es ganz einfach das noch ungefärbte Binnennetz sei, das sich optisch demonstrieren lasse, wenn aus einer oder anderer Veranlassung das übrige Plasma eine dunklere Färbung als gewöhnlich angenommen hat. Ich dachte mir nun, dass eine derartige Dunkelfärbung des Plasmas darauf beruhen könne, dass durch eine unvollständige Auswässerung ein Teil überflüssige Osmiumsäure in den Zellen verblieb und nachher bei der Einbettung vom Alkohole reduziert wurde, und ich unternahm daher einige Versuche, um die Richtigkeit dieser Möglichkeit zu prüfen. Ich behandelte sonach die Ganglien mit einer 2proz. Osmiumsäurelösung während so langer Zeit, dass man berechtigt war anzunehmen, dass ein Teil Binnennetze (trotz Möglichkeit für Färbung) doch noch ungefärbt sein müsse, und überführte diese Ganglien darauf unmittelbar in 80proz. Alkohol. Das Resultat ergab, dass hier und da einige Zellen wirklich deutliche »Kanälchen des ersten Typus« mit einem oft sehr schönen Farbenkontrast gegen das übrige Plasma zeigten (Fig. 13), aber anderseits lehrten mir gleichzeitig vorgenommene Kontrollversuche, dass auch die von mir gewöhnlich angewandte Auswässerung (über Nacht in fließendem Wasser) das Auftreten derartiger lichter Züge nicht unmöglich macht.

Auch diese Versuche taugen sonach nicht zu endgültigem Beweismaterial, und ich würde bereitwillig zugeben, dass ich vor

dieser Frage ohne Antwort stehe, wenn nicht schliesslich gerade die Formaldehydversuche sich dazu angetan erwiesen hätten, mir zum Leitfaden bei Beantwortung dieser Frage zu dienen. Es ist nämlich, soweit meine Erfahrung reicht, vollständig konstant, dass, wenn die Osmiumsäureeinwirkung nach der Behandlung mit frischer Formaldehydlösung und Wasser genügend lange ausgestreckt wird (z. B. 3—4 Tage bei 35° C.), so werden niemals, sei es auch in einer einzigen Zelle, derartige lichte Züge angetroffen und dieser Umstand hilft uns wenigstens insofern ein gutes Stück auf den Weg, als er uns einen exakten Beweis dafür bringt, dass diese Kanäle nicht das sind, wozu v. Bergen sie machen will, nämlich zum Ausdruck einer vitalen Veränderung im Binnennetze, sondern statt dessen als ein Produkt einer nicht in allen Details berechenbaren Technik aufzufassen sind.

In Wirklichkeit scheinen auch die Formaldehydversuche die Auffassung zu bestätigen, dass diese lichten Kanäle nur unvollständige Färbungen seien. Es kommt nämlich zuweilen vor, dass, wenn man bei derartigen Versuchen die Osmierung unterbricht, wenn die Osmiumschwärzung der Binnennetze noch in ihrem Anfange ist, man hier und da derartige Kanäle beobachten kann (Fig. 16), und da bei fortgesetzter Osmierung diese Kanäle verschwinden, dürfte dies wohl kaum auf andere Weise zu deuten sein, als dass die Färbung dann vollständiger geworden ist. Wir würden sonach zuweilen Gelegenheit haben, die beiden, bei Osmiumsäure-Behandlung vor sich gehenden Prozesse — Anschwellung und Osmiumschwärzung — bis zu einem gewissen Grade getrennt zu sehen, d. h. die Anschwellung geht hier der Schwärzung etwas voran.

Hinsichtlich der hier berührten Fragen können wir also folgendes Resultat verzeichnen:

1. Die Kanälchen des zweiten Typus sind ganz einfach künstliche Ritzen-(Sprung-)bildungen.

2. Die Kanälchen des ersten Typus sind wahrscheinlich als unvollständige Färbungen wassergeschwollener Netze zu betrachten, welche, auf Grund des Kontrastes zu dem mehr oder weniger dunkel gefärbten übrigen Zellenplasma, optisch zu Tage treten.

VI.

Wenn wir nun nochmals auf die soeben abgeschlossene Analyse zurückblicken, sehen wir, dass beim Fortschreiten derselben auch einige Beobachtungen über die rein fixierungstechnischen hinaus, die das eigentliche Ziel der Analyse war, gewonnen sind. Wir haben das Vorkommen des Binnennetzes in sämtlichen Spinalganglienzellen nachweisen können; wir konnten auch beweisen, dass die ganze v. Bergensche Konstruktion eines zyklischen Verlaufes mit »Entstehungs«- und »Schwund«-Bildern auf mangelhafter Technik basiert und nicht der Wirklichkeit entspricht; wir konnten analysieren, dass auch die tropfenförmigen Anschwellungen im Netze, die zuweilen mit der Osmiumsäuremethode, oft mit der Golgi-Methode und sehr ausgesprochen mit der Cajal-Methode hervortreten, artefizielle Veränderungen der feinen, gleichdicken Netzfäden darstellen; wir haben schliesslich auch das Recht die vitale Natur der »Kanalisation« im »Trophospongium« zu bezweifeln, die Holmgren gesehen und als einen Beweis deren trophischer Funktion gedeutet hat, ebenso wie auch die Nelisschen Funde als unzweifelhaft den Kanälen des zweiten Typus entsprechend, als Artefakten betrachtet werden müssen. — Was sonach nach diesen kritischen Negierungen noch übrig bleibt, ist, dass es im Cytoplasma der Ganglienzellen ein ausserordentlich feines System von Fäden gibt, die mehr oder weniger vollständig zu einem zierlichen Netze zusammengefügt sind, ohne dass es uns gelungen ist, irgend welche Variationen im Aussehen dieses Netzes zu

beobachten, die als Ausdruck einer vital vorkommenden Veränderlichkeit desselben hätten gedeutet werden können.

Nun drängt sich uns die Frage auf: Können wir der Frage, was dieses Netz eigentlich zu bedeuten habe, etwas näher zu Leibe gehen? Gewiss, und wenn wir nun diese Analyse auch nur bis zu einer gewissen Grenze führen, so dürften fortgesetzte Untersuchungen sicherlich erreichen, diese interessante Frage weiter vorwärts zu führen. Was wir nun zunächst hervorheben können, ist, dass dieses Netz nichts mit dem Fibrillennetze zu tun hat. Wir sehen schon wie Bethe (10), der wohl mehr als irgend ein anderer die Fibrillen studiert hat, mit Bestimmtheit einen derartigen Standpunkt vertritt, und ungefähr gleichzeitig hebt Golgi (33), von seiner intimen Kenntnis des »apparato reticolare interno« ausgehend, dasselbe hervor. Wollen wir diesen bestimmten Äusserungen zweier so sachkundiger Forscher etwas hinzufügen, so kann das nur in Form einer weiteren Bestätigung dieser Ansicht geschehen, und wir gelangen zu einer derartigen Bestätigung besonders durch die Beobachtung, dass das Fibrillennetz ein vollständiges, d. h. nirgends unterbrochenes Netzwerk ist, während das mit Osmiumsäure schwärzbare Netz augenfällig von Fäden aufgebaut wird, die zuweilen vollständig isoliert liegend, zuweilen in grösserer oder geringerer Ausstreckung zu einer Netzanordnung zusammenhängend angetroffen werden können. Dass diese Verschiedenheit so prinzipieller Natur ist, dass wir deswegen berechtigt sind, die beiden Netze als verschiedene Sachen zu betrachten, dürfte ausser allen Zweifel gestellt sein.

Dieser erste Teil der Analyse zeigt uns sonach, was das Binnennetz nicht ist. Glücklicherweise gibt es jedoch die Möglichkeit einen Leitfaden auch zur Gewinnung der Kenntnis zu erhalten, was das Netz mehr direkt ist, und dabei hilft uns wieder ein Studium der embryonalen Verhältnisse. Ich erinnere an die Beschreibung, die ich zu Anfang der Abhandlung über

die embryonalen Spinalganglienzellen gegeben habe. Wir sahen hier, wie der Zellkern so gut wie konstant gegen die eine Peripherie der Zelle verschoben ist und nicht selten sogar eine Einbuchtung seines zentralen Randes zeigt, wie nach Osmierung zentral im Plasma ein dunkelgefärbter, gut abgegrenzter, runder Ball hervortritt, der unmittelbar an den Kern grenzt und wie dieser dunkelgefärbte Ball teils in eine grauschwarze »Grundsubstanz«, teils in eine intensiv schwarz gefärbte, körnige oder oft netzförmig angeordnete »Ausdifferenzierung« aufgeteilt werden kann, welch letztere offenbar dem Binnennetze während der postembryonalen Zeit entspricht (Fig. 25). Wenn man nun jedoch Embryone, anstatt einer Behandlung mit Osmiumsäure, einer solchen mit gewöhnlichen Fixierungsmitteln und Färbung mit Eisenhaematoxylin-Erythrosin aussetzt, so erhält man ein recht interessantes Vergleichsmaterial zu den Osmiumbildern. Ich verweise zwecks eines derartigen Vergleiches auf die Fig. 20 und 21; beide sind nach Präparaten eines und desselben 13 Tage alten Embryos gezeichnet. Fig. 21 zeigt das Osmiumbild, Fig. 20 ein Bild, das man nach Fixierung mit Perenyis Flüssigkeit und Färbung wie angegeben erhält. Die prinzipielle Ähnlichkeit, die zwischen den beiden Bildern vorkommt, ist unverkennbar. Wir sehen den Kern auf dieselbe Art in beiden liegen, hell, blasenförmig, zuweilen zentral konkaviert, und wir finden auch nach Perenyi-Fixierung und Eisenhaematoxylin-Erythrosin-Färbung denselben Kontrast zwischen der zentralen und peripherischen Partie des Plasmas wie im Osmiumbilde. Der Unterschied ist nur, dass die Färbung nun eine andere ist; die peripherische, lichte Plasmazone im Osmiumbilde wird nun von dicht bei einander gelagerten, blauschwarz gefärbten Schollen, unzweifelhaft Tigroidkörnchen, eingenommen, und der zentrale Ball ist nach genügender Erythrosinbehandlung lebhaft rot gefärbt; gerade durch diese seine Färbung tritt er ebenso schön hervor wie der dunkelgefärbte Ball im Osmium-

bilde. Es kann also als unzweifelhaft betrachtet werden, dass der rote und der schwarze Ball in den resp. Präparaten eine und dieselbe Bildung darstellt, und was diese Beobachtung nun so interessant macht, ist, dass man in dieser, bei genügender Ausdifferenzierung im übrigen homogen rotgefärbten zentralen Zone mit vollständiger Regelmäßigkeit ein stets einzelnes, oft nicht ganz rundes, sondern stäbchen- oder hantelförmiges Körnchen antrifft, welches auch bei einer recht weit vorgeschrittenen Differenzierung doch immer kräftig schwarz gefärbt ist und entweder im Zentrum des roten Balles oder — was viel gewöhnlicher ist — zwischen dem Zentrum und dem Kerne liegt, und zwar längs einer Linie, von der man sich denken kann, dass sie die Zentra des Balles und des Kernes mit einander verbindet.

Diese Beobachtungen geben unmittelbar den Eindruck von einer ausserordentlichen Ähnlichkeit zwischen diesen Funden und denjenigen, die Ballowitz in den Epithelzellen der Membrana descemeti machte. Derselbe peripherisch gelegene Kern, derselbe zentrale Ball im Plasma, dasselbe haematoxylin-gefärbte Körnchen innerhalb dieser Bälle und dieselbe Netzausdifferenzierung. Der Unterschied besteht nur darin, dass sich dieses Netz in den Ganglienzellen nicht mit Eisenhaematoxylin herstellen lässt. Und ich gelangte zur Gewissheit darüber, dass wir in der Tat vor identischen Bildungen stehen, seitdem es mir gelungen ist, vermittelt der Formaldehyd - Wasser - Osmiumsäure - Methode nachzuweisen, dass auch die Netzstruktur in den Epithelzellen der Membrana descemeti osmiumgeschwärzt werden kann [Versuch gemacht mit Hornhaut von Kaninchen (Fig. 12)]. Die Frage angehend die Spinalganglienzellen lautet also ebenfalls: Ist der Ball als eine »Riesensphäre« zu betrachten, ist das Binnennetz eine »Sphärenstruktur« und ist das haematoxylingefärbte Körnchen ein Zentralkörperchen?

Betrachten wir nun zuerst das letztgenannte, so finden wir dies keineswegs im voraus sicher. Wir sehen nämlich, dass Bethe (11) (S. 149), welcher an seinem Untersuchungsmaterial (Hühnerembryonen vom sechsten bis zehnten Tage) unzweifelhaft dieselben Tatsachen, wie die nun geschilderten, beobachtet hat, es als »vorläufig zweifelhaft« betrachtet, dass diese Körnchen Zentralkörperchen sein konnten. Wenn wir jedoch etwas näher untersuchen, warum Bethe sich so skeptisch verhält, so sehen wir, dass dieses offenbar seinen Grund in dem Schicksal hat, welches Lenhosséks (56) Fund von »Centrosomen« und »Sphären« in den Spinalganglienzellen des Frosches traf. Wir können nämlich nun mit Bestimmtheit sagen, dass Lenhossék bei der Deutung dieser seiner Funde nicht das rechte getroffen hat, sondern dass diese Bilder einen Teil der spiralförmig verlaufenden Züge von Nervenfibrillen ausmachen, sei es nun, dass diese Fibrillen vom Achsenzylinder [Bühler (15)] kommen oder mit gewissen, in die Ganglienzellen eindringenden Kapselprozessen [Holmgren (40)] folgen; wenn diese Bildung im Präparat im optischen Querschnitte vorliegt, entstehen die verästerischen Bilder, welche Veranlassung zu Lenhosséks unrichtiger Auffassung gaben.

Nun müssen wir jedoch unmittelbar bemerken, dass die Kritik, die diese »Centrosomen« so effektiv getroffen hat, keineswegs als Gegenbeweise dagegen angewendet werden kann, dass es Zentralkörperchen sein sollten, die wir in den Spinalganglienzellen der Hühnerembryonen vor uns haben. Wie sorgfältig man nämlich auch Schnitt auf Schnitt in einer ununterbrochenen Serie durchmustert, so sind doch niemals irgend welche Andeutungen zu beobachten, dass die fraglichen Bildungen einen Teil irgend einer in die Ganglienzellen hineinstrahlenden Bildung sein könnten. Der erythrotingefärbte Ball nimmt stets den gleichen zentralen Platz im Zellenplasma ein und das haematoxylingefärbte Körnchen verbleibt beständig ein, wenn

auch zuweilen deutlich stabförmiges, Körnchen, und man kann niemals beobachten, dass es einen Teil eines Fibrillenzuges ausmacht. Im Gegenteil sprechen schon mehrere Umstände dafür, dass dieses Körnchen wirklich ein Zentralkörperchen ist. Was nun zuerst die Darstellungsmethode betrifft, ist diese analog derjenigen, mit welcher Fürst (25) seine bedeutungsvollen Funde von Zentralkörperchen in der embryonalen Netzhaut gemacht hat, und man sieht auch an meinem Untersuchungsmaterial, wie ausserordentlich distinkt und scharf im Präparat befindliche unzweifelhafte Zentralkörperchen (z. B. die um den Zentralkanal des Rückenmarks herumliegende Körnchenreihe) nach einer derartigen Fixierung mit Perenyis Flüssigkeit zu Tage tritt, ebenso auch wie gut diese — ebenso wie die Körnchen in den Spinalganglienzellen! — einer ziemlich weit gehenden Ausdifferenzierung widerstehen. In der Tat ist die Schärfe des Bildes nach dieser Fixierung sogar grösser als nach Fixierung mit dem zu diesem Zwecke so berühmten Sublimate oder Sublimat-Eisessige, welche ich ebenfalls und mit im übrigen gleichem Resultat zur Beobachtung vorliegender Dinge angewendet habe.

Wenden wir nun unsere Blicke einem andern Umstande zu, nämlich der Lage der fraglichen Körnchen in den Spinalganglienzellen, so finden wir auch hierin Stützpunkte für die Annahme, dass sie als Zentralkörperchen zu betrachten sind. Teils nämlich trifft man sie beständig ungefähr auf dem Platze in den Zellen, wo man die grösste Veranlassung hat möglicherweise befindliche Zentralkörperchen zu erwarten; wir sehen z. B. wie sie beinahe stets in einer Linie liegen, welche die Mittelpunkte der Zelle und des Kernes (radius vector: Heidenhain) verbindet; teils gibt es eine auffällige Ähnlichkeit zwischen der Lage dieser Körnchen und der Lage der Zentralkörperchen, die Buehler (15) in den Spinalganglienzellen verschiedener Tiere beobachtet hat.

Jedoch auch Buehlers Beobachtungen haben vor den Augen Bethes (11) keine Gnade gefunden; er findet nämlich, dass die von Buehler vorgelegten Abbildungen »sehr wenig Überzeugungskraft« besitzen. Wir müssen also der Sicherheit wegen versuchen, unsere Auffassung von der Zentralkörperchennatur der gesehenen Körnchen auf jenen Wegen des fernerer zu bestätigen, die uns noch zur Verfügung stehen. Es er bietet sich dann zunächst der Versuch, diesen Körnchen bis hinab zu jungen Embryonen zu folgen, und dies habe ich auch — sowohl mit Perenyis wie mit Sublimat-Eisessigfixierung — getan. Das Resultat ist kurz und gut, dass dasselbe Körnchen mit vollständig derselben Lokalisation (nebst dem Kerne in der Richtung der grössten Protoplasmamasse) bis hinab zu Embryonen von 4 Tagen beobachtet werden kann, also bis auf ein Stadium hinab, wo die Keimzellen der Spinalganglienzellen sich noch teilen und sonach mit Zentralkörperchen versehen sein müssen. (Fig. 23.)

Weiter habe ich auch den Versuch gemacht, durch Anwendung von Kolsters (54) spezieller Methode zur Darstellung von Zentralkörperchen in den Nervenzellen eine Antwort auf die Frage zu erhalten. Diese Methode besteht in Fixierung mit Pikrinsäure-Sublimat, Behandlung des fixierten und ausgewaschenen Präparates im Wärmeschrank mittelst ammoniakalischen Alkohols, Entfernung des Ammoniaks durch Zusatz von Salzsäure zum Einbettungsalkohol, und Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin. Das »spezielle« in der Methodik ist sonach die Ammoniakbehandlung, und deren Bedeutung liegt darin, dass das Ammoniak die Fähigkeit besitzt, die Tigroidschollen ihrer Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin zu berauben und dadurch eine Verwechslung zwischen diesen und den Zentralkörperchen zu verhindern. Ohne Zweifel erfüllt die Methode diese Aufgabe auf vollkommen zufriedenstellende Art und die Schwäche, welche sie trotz alledem besitzt, ist anderswo zu suchen. Es ist nämlich Kolster nicht

gelingen, mit irgendwelchen chemischen Mitteln die Färbbarkeit einer anderen, in den Nervenzellen vorkommenden Substanz mit Eisenhämatoxylin zu verhindern, die Veranlassung zur Verwechselung mit den Zentralkörperchen geben kann, nämlich das Pigment.

Da jedoch bei diesen embryonalen Spinalganglienzellen, von welchen hier die Rede ist, Pigment wie bekannt nicht vorkommt, so kann dieser — in einer geübten Hand doch vielleicht nicht so fühlbare — Mangel in der Technik sich nicht geltend machen und der grosse Vorteil der Methode — die Fähigkeit das Tigroid abzufärben — muss um so viel mehr ungetrübt zu Tage treten. Es ist jedoch keine leichte Methode, weil die Ammoniakbehandlung ihrer Zeitdauer und Stärke nach jedem speziellen Objekte besonders angepasst werden muss und dieser Umstand verursachte auch, dass mir die Kolstersche Technik nicht so scharfe Resultate brachte als erwünscht war. Ich nahm dann die kleine Modifikation derselben vor, dass ich die Ammoniakbehandlung aufschob, bis ich das Präparat eingebettet und geschnitten hatte; ich behandelte sonach die auf dem Objektträger befindlichen Schnitte mit einer Wasserlösung von Ammoniak unmittelbar vor der Beizung mit Eisenalaun. Auf diese Weise gelang es mir, besonders durch eine Behandlung mit 1 Teil käufl. Ammoniak + 12 Teilen aq. dest. während 2 Stunden in Zimmertemperatur, Bilder zu erhalten, die aufs allerschönste sowohl die Vorzüglichkeit der Kolsterschen Methode demonstrierten, wie auch die Zentralkörperchennatur der fraglichen Körnchen zu Tage legten. Nach der Eisenhämatoxylin-Erythrosin-Färbung zeigte es sich nämlich, dass die ganze periphere Zone der blauschwarzen Tigroidschollen nun vollständig verschwunden war; das ganze Plasma zeigte also einen schmutzig rötlichen Farbenton — ausgenommen das eventuelle Zentralkörperchen, welches sich noch immer lebhaft mit Eisenhämatoxylin färbt und scharf gegen die Umgebung kontrastierend markiert (Fig. 22).

Nun kommt also die Frage: Wenn es sich wirklich um ein Zentralkörperchen handelt, ist dann der dasselbe umgebende, mit Osmiumsäure dunkelgefärbte und mit Erythrosin rotgefärbte Ball eine Sphäre und ist das Binnennetz eine »Sphärenstruktur«? — Ich muss hierbei sagen, dass es mir geglückt ist nachzuweisen, dass wenigstens eine recht intime Verbindung zwischen diesen Bildungen und den Zentralkörperchen besteht; es ist mir nämlich gelungen, mittelst der Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode die nun geschilderten Tatsachen zu beobachten bis hinunter in die kleinen Zellen der Spinalganglien bei 4—5 tägigen Embryonen. Fig. 24 demonstriert einen derartigen Befund und es geht aus diesem Bilde hervor, dass es fortwährend dieselbe osmiumgeschwärzte Bildung ist, die wir vor uns haben; dasselbe prinzipielle Aussehen und dieselbe Lage wie ein unmittelbar an den Kern stossender und deutlich lediglich im Cytoplasma liegender gerundeter Ball. Wir können also durch die ganze Embryonalzeit eine konstante und unverkennbare Beziehung zwischen den erwähnten Bildungen und den Zentralkörperchen beobachten, eine Beziehung, die, wie wir uns sagen müssen, auf einen so intimen Zusammenhang deutet, dass es sich hier kaum nur um einen »zufälligen Befund« handeln kann (Holmgren (46), (S. 295.) Die Aufgabe ist hier nur, festzustellen, wie intim diese Beziehung in Wirklichkeit ist. Wenn wir nun versuchen diese Aufgabe zu lösen, so können wir wiederum einen Leitfaden für unsere Beurteilung in den Meinungen finden, die vorher betreffs vergleichbaren Materials ausgesprochen worden sind, und zwar von Ballowitz (5), Heidenhain (35) und Fürst (24). Am stärksten prononciert Ballowitz die intime Natur dieser Beziehung; wie schon erwähnt, sagt er ja nämlich hinsichtlich seiner Befunde in den Epithelzellen der Membrana descemeti ganz kategorisch: Die zentrale Scheibe im Plasma ist eine »Riesensphäre«, die Netze eine »Sphärenstruktur«. Die beiden anderen Forscher äussern sich dagegen vorsichtiger. Fürst

gibt nur eine »gewisse Verbindung« zwischen der Sphäre und den von ihm gemachten Funden in den Ganglienzellen des Lachses und Lachsembryos bzw. einigen anderen mit diesen verglichenen Bildungen zu (darunter auch den Ballowitzschen Funden; vergl. meine Historik), und Heidenhain äussert sich noch skeptischer; er verleugnet nämlich ganz und gar, dass die von Ballowitz als Riesensphäre gedeutete Bildung eine wirkliche Sphäre ist und bestreitet folglich auch, dass die Netzausdifferenzierung eine Sphärenstruktur ist. Das einzige, das Heidenhain zugibt, ist, dass sowohl Ballowitz' mehrerwähnter Fund, wie seine eigenen Funde in den Samenzellen von Proteus in einer unzweifelhaften topographischen Beziehung zur Sphäre stehen, und seine Auffassung resultiert in der Annahme, dass die fraglichen Bildungen ganz einfach spezielle Ausdifferenzierungen des Cytoplasmas sind, deren konzentrische Lagerung darauf beruht, dass sie Rückstände der während der Mitosen vorkommenden »Tranversalbahnen« sind.

Wie ersichtlich äussern sich die drei zitierten Autoren über die Befunde in den Epithelzellen der Membrana descemeti, und wir können daher in anbetracht dessen, dass diese Funde sicherlich vollkommen identisch mit den in den embryonalen Spinalganglienzellen gemachten sind, das Recht haben, die Anschauungsweise genannter Autoren direkt auf diese letzteren uns nun besonders interessierenden Zellen überzuführen; es entsteht also die Frage, welche Auffassung die richtige ist. Die Beantwortung derselben wird ohne Zweifel bedeutend erleichtert, wenn man nochmals den Blick zu den Funden wendet, welche in anderen Zellen gemacht worden sind und zwar, indem man nachsieht, wie sich die mit Osmiumsäure schwärzbaren Netze in anderen Zellen verhalten. Wir sehen dann, wie besonders in verschiedenartigen Epithelzellen [Holmgren (46), von Bergen (9)] die in den Zellen der Membrana descemeti und in embryonalen Spinalganglienzellen so augenfällige Lagebeziehung zwischen Netz

und Zentralkörperchen nicht vorkommt; die Zentralkörperchen liegen, wie bekannt, in diesen Zellen dicht an der freien Fläche der Zelle, während das Osmiumnetz die Partie nächst peripherisch von dem Kerne einnimmt. Es wäre jedoch voreilig aus derartigen Befunden die Schlussfolgerung zu leiten, dass die Lagebeziehung, welche diese Zellen nun vermissen, niemals existiert habe. In Wirklichkeit ist es sogar wahrscheinlich, dass eine solche, wenn auch nur in einem sehr frühen embryonalen Stadium vorhanden gewesen ist. Es ist nämlich, wie bekannt, Heidenhain und Cohn (36) gelungen, in den Epithelzellen der Urwirbel (bei jungen Vogelembryonen) direkt nachzuweisen, wie die Zentralkörperchen aus ihrer ursprünglichen Lage unmittelbar peripherisch vom Kerne in ihre wahrscheinlich »definitive Ruhelage« an der Zellenperipherie versetzt werden, und es dürfte unzweifelhaft sein, dass dieselbe Lageveränderung, wenn auch noch zeitiger, auch in anderen Epithelzellen vor sich geht. Also, die Zentralkörperchen liegen ursprünglich gerade an der Stelle, wo das Osmiumnetz auch später verbleibt, — sonach kann auch hier eine sehr augenfällige, wenn auch äusserst kurze Lagebeziehung konstatiert werden.

Indessen spricht, trotz dieser primären Beziehung, die Fähigkeit des Netzes fortzuleben und sich ersichtlich ganz unabhängig von den Zentralkörperchen zu entwickeln, doch mit Bestimmtheit dafür, dass dasselbe doch nicht so intim mit diesen zusammengehört, dass es als eine Ausdifferenzierung innerhalb der Sphäre aufgefasst werden kann, und wir gelangen sonach zur Vergewisserung, dass die Ballowitzsche Anschauungsweise nicht das Rechte trifft, sondern dass statt dessen Fürsts vorsichtiger Äusserung von »einer gewissen Verbindung mit der Sphäre« dem tatsächlichen Verhältnis besser entspricht; trotz der gesehenen Beziehung sind deutlicherweise die Zentralkörperchen mit ihrer Sphäre eine Sache und das Netz eine andere.

Wollen wir nun schliesslich auch zu bestimmen versuchen,

wie diese Beziehung zu stande kommt, so verhilft uns dabei unsere soeben ausgesprochene Auffassung von deren unzweifelhaft augenfälligeren Charakter bei jungen Embryonen zu einer Anschauungsweise, die im höchsten Grade mit der Heidenhainschen übereinstimmt. In Übereinstimmung mit ihm müssen wir uns nämlich sagen, dass die ursprüngliche Lage des Netzes als »eine konzentrische Differentiation des Zellenprotoplasmas« gerade ein Ausdruck für die Fähigkeit der Zentralkörperchen ist, während dieser frühen embryonalen Periode mit ihren zahlreichen mitotischen Teilungen einen starken mechanischen Einfluss auf das Cytoplasma auszuüben, ein Einfluss, dessen Resultat nachher während kürzerer oder längerer Zeit bemerkt werden kann. — Wir können aber sicher unsere Analyse über diese Frage noch weiter führen. Ebenso wie nämlich Heidenhain und Cohn (36) zu der Auffassung einer Ubiquität der Zentralkörperchen bei jungen Embryonen gelangt sind, so lehrt uns schon ein flüchtiger Blick auf Präparate von 4—5 Tage alten Embryonen, die mit der Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäure-Methode behandelt worden sind, dass osmiumgeschwärzte Netze so zahlreich vorkommen, dass man ganz gewiss berechtigt ist, von einer Ubiquität dieser Netze zu sprechen; besonders will ich hervorheben, wie schön sie als intensiv schwarzgefärbte und sehr gut abgegrenzte kleine Bälle an der Seite des Kernes in sämtlichen mesodermalen Zellen zu Tage treten¹⁾. Diese Ubiquität führt die Gedanken mit Notwendigkeit darauf hin, dass wir hier vor einer Bildung fundamentalen Bedeutung, einem allgemeinen Zellenorgan, stehen, wir werden genötigt, die Schlussfolgerung zu ziehen, dass sie schon als Keim in den frühesten Stadien des Embryos vorhanden ist, und wir werden dann schliesslich auch der Frage gegen-

¹⁾ Wie unvereinbar dieser Fund mit der Holmgrenschen Auffassung von Zellen „erster“ und „zweiter“ Ordnung ist, braucht wohl kaum besonders hervorgehoben zu werden.

über gestellt: muss es dann nicht auch in den germinalen Zellen eine ähnliche, ausdifferenzierte, sich um die Zentralkörperchen herum lagernde Substanz geben? Es wird sonach das Ziel fortgesetzter Untersuchungen, werden die Binnennetze bei der Spermato- und Ovogenese zu homolisieren.

Die gemachten Erfahrungen können wir nun folgendermassen zusammenfassen:

1. Es gibt in den Spinalganglienzellen konstant eine von äusserst feinen, gleichdicken Fäden aufgebaute, netzförmig geordnete Ausdifferenzierung des Cytoplasmas, die die Fähigkeit besitzt, durch Wasser zu quellen und dadurch die Möglichkeit erhält mit Osmiumsäure geschwärzt zu werden
2. Irgend welche Variationen im Aussehen dieses Netzes, die als funktionelle Veränderungen gedeutet werden könnten, sind nicht beobachtet worden; die Bilder, die man früher als solche deuten zu können glaubte, beruhen ganz einfach auf einer unvollkommenen Technik.
3. Das gesehene Netz ist mit dem Fibrillennetze nicht identisch. Dagegen weist es während der ganzen embryonalen Zeit eine konstante und nicht zu verkennende Beziehung zu den Zentralkörperchen auf; jedoch ist diese nur eine Lagebeziehung; das Netz ist also keine »Sphärenstruktur« (Ballowitz), sondern eine vollkommen selbständige Bildung.
4. Über die intimere Natur und die Bedeutung dieses Netzes schweben wir noch im Unklaren, aber wir haben doch schon das Recht, die Meinung auszusprechen, dass wir hier einer Bildung von aller grösster Bedeutung — einem allgemeinen Zellenorgane — gegenüberstehen.

Wenn ich jetzt diese Untersuchung abschliesse, so geschieht dies keineswegs, weil ich glaube, die Analyse so weit geführt zu haben, wie sie sicherlich geführt werden kann; im Gegenteil habe ich mir schon eine Andeutung darüber erlaubt, wie ich mir die Fortsetzung derselben denke. Aber eine Fortsetzung würde uns über das Ziel schiessen lassen, das ich dieser Untersuchung gesetzt hatte: eine Studie über Spinalganglienzellen.

Ich habe jedoch schon jetzt gewagt, die allgemeine Schlussfolgerung zu ziehen, dass das »Binnennetz« eine Bildung fundamentaler Bedeutung — ein allgemeines Zellenorgan — ist, und ich habe damit den Weg eingeschlagen, der sich in letzter Zeit immer deutlicher markiert hat und neulich von Goldschmidt (28) noch weiter ausgebaut ist. Betreffend die Goldschmidtschen Thesen will ich doch sagen, dass trotz der grossen Beachtung, auf welche sie mit Recht Anspruch erheben können, sie doch in gewissen Punkten nicht das Richtige getroffen zu haben scheinen. Allerdings gedenke ich nicht eine Opposition gegen die Hauptthese Goldschmidts: »Jede tierische Zelle ist ihrem Wesen nach doppelkernig« zu richten, und ich gehe nun auch nicht näher auf seine Auffassung ein, dass »der somatische Kern« (= der »Chromidialapparat« = das Binnennetz) »vorherrschend Stoffwechselkern oder Bewegungskern« sein solle; meine nun vorgebrachte Untersuchung vermag nämlich, soweit ich es beurteilen kann, eine solche Annahme weder zu bestätigen, noch zu widerlegen. Es gibt aber noch etwas, das ich hier erwähnen will und zwar die Goldschmidtsche Ansicht über die »direkten Beziehungen«, welche der »somatische Kern« zu dem »propagatorischen Kerne« (= dem Kerne in gewöhnlicher Bemerkung) haben solle; doch fasse ich mich in aller Kürze, weil die Frage meiner Meinung nach noch zu wenig eruiert ist, um definitiv abgemacht zu werden. Es ist mir unmöglich, die Abbildungen, die Goldschmidt von gewissen Zellen von *Ascaris* gibt, für die Schluss-

folgerung beweisend zu finden, die er selbst daraus zieht, nämlich, dass »Chromidialfäden« in den Kern eindringen sollten, und dass man gleichfalls zuweilen ein Austreten aus dem Kerne von »chromatischen Körpern« beobachten könne, »die mit der Neubildung der Chromidien zusammenhängen«. Man könnte dann vielmehr den Befunden eine etwas grössere Beweiskraft beimessen, die Folke Henschen (38) in Eizellen von *Helix pomatia* gemacht hat und als »eine Auswanderung chromatischer Bestandteile aus dem Keimbläschen« gedeutet hat; ich glaube jedoch, dass auch die auf dieses Material gestützte Auffassung vor einer eingehenderen Kritik kaum zu Recht bestehen kann, da sie, soweit ich finden kann, sich eigentlich nur auf eine Gleichheit der Farbenreaktion zwischen den Chromosomen des Kernes und den fraglichen im Cytoplasma befindlichen Körnern stützt.

Wenn ich also der Ansicht sein muss, dass wir gegenwärtig Beobachtungen entbehren, die eine direktere Beweiskraft dafür besitzen, dass die unter dem gemeinsamen Namen: »Chromidialapparat« zusammengestellten Bildungen¹⁾ (wenigstens bei Metazoen) in einer intimeren Verbindung mit dem Zellkerne stehen sollten, so kann ich anderseits nicht unterlassen zu finden, dass ich durch meine eigenen Untersuchungen über das Binnennetz der Spinalganglienzellen zu der wohl auch recht allgemein gehuldigten Ansicht gezwungen werde, dass die fraglichen Bildungen einen lediglich cytoplasmatischen Ursprung haben. Trotzdem wir nun mit verbesserter Methodik das Binnennetz bis hinab zu den Zellen der kleinen Ganglien bei jungen Embryonen ver-

¹⁾ Ich will nicht unterlassen auch zu betonen, dass ich keineswegs von der Richtigkeit der Homologisierung verschiedener Strukturen (Binnennetze, Mitochondria, ergastoplasmatische Bildungen) überzeugt bin, die Goldschmidt vorgenommen hat, sondern schliesse mich vollständig der Auffassung Meves' an, die verschiedenen Bildungen lieber auseinanderzuhalten, bis Beweise für deren Homologie erbracht worden sind.

folgen können, kann nämlich doch keine andere Beziehung zum Kerne als eine Lagebeziehung beobachtet werden, und man muss sich wohl sagen, dass, wenn eine derartige intimere Beziehung zu finden gewesen wäre, sie unserer Aufmerksamkeit nicht gänzlich hätte entgehen können.

Gleichwohl dürfte es, wie erwähnt, vorsichtiger sein, in dieser Hinsicht noch nicht zu viel zu behaupten, sondern das Resultat der sicherlich nicht ausbleibenden weiteren Untersuchungen über diese, für unsere Auffassung von dem Aufbau der Zelle so wichtigen Fragen abzuwarten. Hoffen wir bis dahin mit Golgi, dass, nachdem erweiterte Untersuchungen zu sicherem Wissen geführt haben, wir die verschiedenen Ansichten wiederfinden werden, »reunies dans le but commun vers le quel elles tendent«.

Literaturverzeichnis.

1. Albrecht, Über tropfige Entmischung von Zellen. Verh. d. anat. Ges. 1902.
2. Derselbe, Artefakte zur Cytologie. Ibidem.
3. Derselbe, Experimentelle Untersuchungen über die Kernmembran. Beiträge zur pathol. Anat. Bollinger-Festgabe. Wiesbaden 1903.
4. Ballowitz, Demonstrationsbericht. Verh. d. anat. Ges. 1898.
5. Derselbe, Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges etc. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56, 1900.
6. Derselbe, Eine Bemerkung zu dem von Golgi und seinen Schülern beschriebenen „Apparato reticolare interno“ der Ganglien- und Drüsenzellen. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
7. van Beneden et van Bambeke, Rapport. Acad. royale de Belgique. Bull. d. l. classe d. sciences. 1899, pag. 55—61.
8. Berg, Beiträge zur Theorie der Fixation mit besonderer Berücksichtigung des Zellkerns und seiner Eiweisskörper. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 62, 1903.
9. von Bergen, Zur Kenntnis gewisser Strukturbilder („Netzapparate“, „Saftkanälchen“, „Trophospongien“) im Protoplasma verschiedener Zellenarten. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 64, 1904.
10. Bethe, Einige Bemerkungen über die „intrazellulären Kanälchen“ der Spinalganglienzellen und die Frage der Ganglienzellenfunktion. Anat. Anz., Bd. 17, 1900.
11. Derselbe, Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems. Leipzig 1903.
12. Blum, „Formaldehyd“ in Encyklop. d. mikr. Technik. 1903.
13. Bochanek, Ref. v. Gehuchten im Handb. d. pathol. Anat. d. Nervensystems. Berlin 1904.
14. Boveri, Beiträge zur Kenntnis der Nervenfasern. Abh. d. math.-phys. Klasse d. k. bayr. Akad. d. Wiss., Bd. 15, 1886.
15. Buehler, Untersuchungen über den Bau der Nervenzellen. Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, Bd. 31, 1897.

16. de Buck et de Moor. Lésions des cellules nerveuses dans le tétanos expérimental du cabaye. Acad. royal de Belgique. Bull. d. l. classe d. sciences 1899.
17. Cajal, Une methode simple pour la coloration élective du reticulum protoplasmatique et res résultats dans les divers centres nerveux. Bibl. anat., Bd. 14, 1905.
18. Chiò, Sur quelques particularités de structure de la fibre nerveuse myélinique soumise à l'action de l'acide osmique. Arch. ital. d. biol., Bd. 41, 1904.
19. Fischer. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, 1899.
20. Derselbe Über Protoplasmastruktur. Arch. f. Entw.-Mechanik d. Org., Bd. 13, 1901.
21. Flemming, Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45, 1895.
22. Fürst, Ein Beitrag zur Kenntnis der Scheide der Nervenfasern. Morphol. Arb., Bd. 6, 1896.
23. Derselbe, Ringförmige Bildungen in Kopf- und Spinalganglienzellen bei Lachsembryonen. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
24. Derselbe, Ringe, Ringreihen, Fäden und Knäuel in den Kopf- und Spinalganglienzellen bei Lachse. Anat. Hefte, Bd. 19. 1902.
25. Derselbe, Zur Kenntnis der Histogenese und des Wachstums der Retina. Lunds Universitets årskrift, Bd. 40, 1904.
26. Gad und Heymans, Über das Myelin, die myelinhaltigen und myelinlosen Nervenfasern. Arch. f. Anat. u. Phys. Physiol. Abt., Bd. 14, 1890.
27. van Gehuchten. Pathologische Anatomie der Nervenzellen. Handb. d. pathol. Anat. d. Nervensystems. Berlin 1904.
28. Goldschmidt, Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 21. 1904.
29. Golgi, Sur la structure des cellules nerveuses. Arch. ital. d. biol., Bd. 30, 1898.
30. Derselbe. Sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. Ibidem.
31. Derselbe, De nouveau sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. Arch. ital. d. biol., Bd. 31, 1899.
32. Derselbe, Intorno alla struttura della cellulle nervose della corteccia cerebrale. Verh. d. anat. Ges., 1900.
33. Derselbe, Sur la structure des cellules nerveuses de la moelle epinière. Cinquantenaire de la soc. de biol. d. Paris, 1899.

34. Derselbe, Assoc. d. Anat. Lyon, 1901 (ref. Misch).
35. Heidenhain, Über die Zentralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus etc. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
36. Heidenhain und Cohn, Über die Mikrozentren in den Geweben des Vogelembryos. insbesondere über die Zylinderzellen und ihr Verhältnis zum Spannungsgesetz. Morphol. Arb., Bd. 7, 1897.
37. Held, Über den Bau der Neuroglia etc. Abh. d. math.-phys. Klasse d. kgl. sächs. Ges. d. Wiss., Bd. 28, 1903.
38. Henschen, Zur Struktur der Eizelle gewisser Crustaceen und Gastropoden. Anat. Anz., Bd. 24, 1903.
39. Holmgren, Zur Kenntnis der Spinalganglienzellen von Lophius piscatorius Lin. Anat. Hefte, Bd. 12, 1899.
40. Derselbe, Zur Kenntnis der Spinalganglienzellen des Kaninchens und des Frosches. Anat. Anz., Bd. 16, 1899.
41. Derselbe, Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. Ibidem
42. Derselbe, Weitere Mitteilungen über die „Saftkanälchen“ der Nervenzellen. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
43. Derselbe, Studien in der feineren Anatomie der Nervenzellen. Anat. Hefte, Bd. 15, 1900.
44. Derselbe, Beiträge zur Morphologie der Zelle. I. Nervenzellen. Anat. Hefte, Bd. 18, 1901.
45. Derselbe, Neue Beiträge zur Morphologie der Zelle. Ergebn. v. Merkel-Bonnet, XI. Band (1901) 1902.
46. Derselbe, Weiteres über die Trophospongien verschiedener Drüsenzellen. Anat. Anz., Bd. 23, 1903.
47. Derselbe, Über die Trophospongien der Nervenzellen. Anat. Anz., Bd. 24, 1903.
48. Derselbe, Über die Trophospongien zentraler Nervenzellen. Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt., Bd. 28, 1904.
49. Derselbe, Beiträge zur Morphologie der Zelle. II. Verschiedene Zellarten. Anat. Hefte, Bd. 25, 1904.
50. Jaworowski, Ref. v. Bergen.
51. Kaiserling und Germer, Über den Einfluss der gebräuchlichen Konservierungs- und Fixationsmethoden auf die Grössenverhältnisse tierischer Zellen. Virchows Arch., Bd. 133, 1893.
52. v. Koelliker, Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Auflage. Teil II. 1896.

53. Derselbe: Kurzer Bericht über den anatomischen Kongress zu Pavia 1900.
Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg. N. F., Bd. 34, 1902.
54. Kolster, Über Zentralgebilde in Vorderhornzellen der Wirbeltiere.
Anat. Hefte, Bd. 16, 1901.
55. Kopsch, Die Darstellung des Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen
und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitz.-Ber. d. k. preuss.
Akad. d. Wiss., phys.-math. Klasse, Bd. 40, 1902.
56. von Lenhossek, Centrosom und Sphäre in den Spinalganglienzellen
des Frosches. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895.
57. Marengi, Ref. Goldschmidt.
58. Misch, Das Binnennetz der spinalen Ganglienzellen bei verschiedenen
Wirbeltieren. Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Phys., Bd. 20, 1903.
59. Nelis, Un nouveau détail de structure du protoplasme des cellules
nerveuses (état spirémateux du protoplasme). Acad. r. d. Belgique.
Bull. d. classes d. sciences 1899.
60. Pertik, Untersuchungen über Nervenfasern. Arch. f. mikr. Anat.,
Bd. 19, 1881.
61. Pewsner-Neufeld, Über die Saftkanälchen in den Ganglienzellen
des Rückenmarks und ihre Beziehungen zum pericellulären Saftlücken-
system. Anat. Anz., Bd. 23, 1903.
62. Prenant, Bouin et Maillard, Traité d'histologie. Paris 1904.
63. Rawitz, Über den Einfluss der Osmiumsäure auf die Erhaltung der
Kernstruktur. Anat. Anz., Bd. 10, 1895.
64. Retzius, Weiteres zur Frage von den freien Nervenendigungen und
anderen Strukturverhältnissen in den Spinalganglien. Biol. Unters.
N. F., Bd. 9, 1900.
65. Schultze und Rudneff, Weitere Mitteilungen über die Einwirkung
der Übersosmiumsäure auf tierische Gewebe. Arch. f. mikr. Anat.,
Bd. 1, 1865.
66. Sjöbring, Über das Formol als Fixierungsflüssigkeit. Anat. Anz.,
Bd. 17, 1900.
67. Sjövall, Über die Spinalganglienzellen des Igels. Anat. Hefte, Bd. 18, 1901.
68. Derselbe. Die Nervenzellenveränderungen bei Tetanus und ihre Be-
deutung. Jahrb. f. Psych. u. Neurol., Bd. 23, 1903.
69. Smirnow, Einige Beobachtungen über den Bau der Spinalganglienzellen
bei einem viermonatlichen menschlichen Embryo. Arch. f. mikr. Anat.
Bd. 59, 1901.

70. Soukhanoff, Sur le réseau endocellulaire de Golgi dans les éléments nerveux du Ganglion de Gasser. Arch. russ. de Path., Méd. clin et Bact., 1902.
 71. Derselbe, Sur le réseau endocellulaire de Golgi dans les éléments nerveux de l'écorce cérébrale. La Névrose, Bd. 4, 1902.
 72. Derselbe, Réseau endocellulaire de Golgi dans les cellules nerveuses de la moelle épinière. Revue neurol. 1902.
 73. Derselbe, Sur le réseau endocellulaire de Golgi etc. Journ. de Neurol., 1902.
 74. Derselbe, On the intracellular network of Golgi of the nervous elements of the spinal cord in the adult superior vertebrate. Journ. of mental pathol., Bd. 5, 1903.
 75. Spalteholz, Mikroskopie und Mikrochemie. Leipzig 1904.
 76. Studnicka, Über das Vorkommen von Kanälchen und Alveolen im Körper der Ganglienzellen und in dem Axenzylinder einiger Nervenfasern der Wirbeltiere. Anat. Anz., Bd. 16, 1899.
 77. Derselbe, Beiträge zur Kenntnis der Ganglienzellen. Sitz.-Ber. d. böhm. Ges. d. Wiss. in Prag, 1900
 78. Tellyesniczky, Fixation im Lichte neuerer Forschungen. Ergebn. von Merkel-Bonnet, Bd. 11 (1901) 1902.
 79. Derselbe, „Fixation“ in Encycl. d. mikr. Technik, 1903.
 80. Totsuka, Über die Centrophormien in dem Descemetschen Epithel des Rindes. Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Phys., Bd. 19, 1902.
 81. Veratti, Siehe Golgi, Cinquantenaire de la soc. de biol. de Paris, 1899.
-

Figuren-Erklärung.

Die Figuren sind sämtlich bei 160 mm Länge des Tubus eines Zeiss-Mikroskopes angefertigt; Fig. 11 mit Obj. D D., Comp. Oc. 12 (Vergr. 660 mal); alle übrigen Figuren mit Apochrom. Obj. 2 mm, Hom. Jmm, Comp. Oc. 6 (Vergr. 750) gezeichnet. Abbes Camera. Projektion auf Objekttischhöhe.

Fig. 1—6. Spinalganglienzellen von Huhn, die Variationen im Aussehen des Binnennetzes zeigend, die man durch Einwirkung der Kopsch'schen Methode erhält.

Fig. 1. Diffuse Körnchen mit hier und da beginnender Anordnung in Körnchenreihen.

Fig. 2. Ausgeprägte Anordnung in Körnchenreihen.

Fig. 3. Netz mit feinen, gleichdicken Fäden.

Fig. 4. Tropfenverdichtungen in noch ziemlich wohl erhaltenem Netze.

Fig. 5. Größere Tropfen; die Netzanordnung im Zerfall.

Fig. 6. Diffuse, plumpe Tropfen.

Fig. 7—8. Teile eines und desselben Schnittes eines Spinalganglions von Huhn, den Unterschied zwischen den peripherischen und zentralen Teilen des Ganglions nach Behandlung mit der Kopsch'schen Methode zeigend.

Fig. 7. Stelle an der Peripherie des Ganglions mit ungefärbten Zellen und ebenen, homogen gefärbten Markscheiden.

Fig. 8. Stelle, zentral im Ganglion gelegen; in der Zelle ist das Binnennetz gefärbt; die die Zellen umgebenden Markscheiden sind körnig.

Fig. 9. Spinalganglienzelle von Huhn; Kopsch' Methode. In den Kapselzellen zahlreiche osmiumgeschwärzte Körnchen.

Fig. 10. Zellen und eine Markscheide eines Spinalganglions von Huhn nach primärer Wassereinwirkung (1 Tag in Zimmertemperatur) und nachfolgender Behandlung mit der Kopsch'schen Methode. Die Zellen zeigen

schwarzgefärbte, freiliegende Ringe von oft recht grossem Durchmesser; die Markscheide zeigt netzförmige Aufteilung des Nervenmarkes (das Lantermannsche Netz).

Fig. 11. Zwei Spinalganglienzellen von Huhn; Golgi-Verattis Methode. Zelle links zeigt eine gefärbte Kapselzelle, und die gefärbten Netzteile der Ganglienzelle drängen sich in unmittelbare Nähe dieser Kapselzelle vor; hier gibt es sonach keine bestimmte, peripherische, von Netzteilen freie Zone der Ganglienzelle. In der Zelle rechts ist diese Zone dagegen schön ausgesprochen.

Fig. 12. Epithelzellen der Membrana descemeti eines erwachsenen Kaninchens. Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode. Die „Centroformien“ osmiumgeschwärzt.

Fig. 13. Spinalganglienzellen von Huhn. Kopsch' Methode. Keine Auswässerung der Ganglien nach der Osmierung. Die Zellen zeigen lichte Züge mit der Lokalisation des Binnennetzes (v. Bergens „Kanälchen des Typus I“).

Fig. 14—15. Dasselbe. Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode.

Fig. 14. Einwirkung von 40 0/0-igem (unverdünntem) Formaldehyd in Zimmertemperatur während 4 Tage. Zahlreiche „Kanälchen des Typus II“ (v. Bergen). Das Binnennetz ungefärbt.

Fig. 15. Gleiche Einwirkung, aber 20 0/0-iges Formaldehyd. Sowohl Färbung des Binnennetzes wie Auftreten einiger „Kanälchen des Typus II“, gleichwohl nicht so zahlreich wie in Fig. 14; keine Lagebeziehung zwischen den beiden Bildungen.

Fig. 16. Dasselbe. Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode. Kurzdauernde Osmierung (4 Tage 23° C.). Die Zellen zeigen beginnende Färbung des Binnennetzes, sowie mit den Fäden desselben übereinstimmende lichte Züge. („Kanälchen des Typus I.“)

Fig. 17—19. Dasselbe. Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode. Demonstriert die Verschiedenheit im Bilde nach verschieden langer Osmierung.

Fig. 17. Die ersten feinen Andeutungen zum Netze (nach Osmierung 4 Tage, 23° C.; keine Auswässerung nach der Osmierung).

Fig. 18. Das gewöhnliche Aussehen der Spinalganglienzellen vom erwachsenen Huhn nach Behandlung mit 10 0/0-igem Formaldehyd, Kälte, 8 Stunden — Wasser 1 St. — 2 0/0 Os O₄, 35° C. 2 Tage.

Fig. 19. Lange dauernde Osmierung (17 Tage 23° C.), das Binnennetz bedeutend gequollen (vergl. Golgi-Bilder Fig. 11).

Fig. 20—21. Schnittteile von Spinalganglien eines Hühnchenembryos von 13 Tagen.

Fig. 20. Fixierung mit Perenyis Flüssigkeit. Färbung mit Eisen-hämatoxylin-Erythrosin. Die Zellen bei etwas verschiedener Einstellung gezeichnet, um die im Schnitte vorkommenden Zentralkörperchen zu demonstrieren. Man beobachtet den zentralen, erythrosingefärbten Ball im Zellenplasma von einem Kranze von Tigroidschollen umgeben

Fig. 21. Behandlung mit Kopsch-Methode. Man sieht die helle peripherische Zone des Zellenplasmas (der Lage der Tigroidschollen entsprechend) und den zentralen Ball, welcher letzterer jetzt dunkler gefärbt ist als die Zellenperipherie und eine mehr oder weniger hervortretende noch dunklere Ausdifferenzierung zeigt.

Fig. 22. Spinalganglienzellen eines 9 Tage alten Hühnchenembryos. Modifizierte Kolstersche Zentralkörperchenfärbungs-Methode.

Fig. 23. Spinalganglienzellen eines 5 Tage alten Hühnerembryos. Perenyis Flüssigkeit; Eisenhämatoxylin.

Fig. 24. Schnittteil eines Spinalganglions von einem 5 Tage alten Hühnchenembryo. Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode. Neben dem hellen Kerne der Ganglienzellen nimmt man denselben dunkelgefärbten Ball wahr, wie bei älteren Embryonen.

Fig. 25. Schnittteil eines Spinalganglions. Embryo von 16 Tagen. Kopsch' Methode. Man beobachtet dasselbe wie in Fig. 21.
