III. Aus der III. medicinischen Klinik und Universitäts-poliklinik in Berlin.

(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Senator.)

Ein Beitrag zur Lehre vom Bau der Ganglienzellen.¹⁾

Von Dr. H. Rosin, Assistenzarzt.

M. H.! Ich hatte vor einiger Zeit die Ehre, in diesem Verein über eine Eigenthümlichkeit der Ganglienzellen zu berichten, durch welche sie sich von anderen Organzellen unterscheiden. Während bei allen anderen der Kern Verwandtschaft zu basischen Farbstoffen besitzt und das Protoplasma umgekehrt die sauren Farben liebt, während also die meisten Organzellen einen basophilen Kern und acidophiles Protoplasma haben, ist dies bei den Ganglienzellen nahezu umgekehrt der Fall, wenigstens ist der Kern nicht basophil, und das Protoplasma ist dicht gefüllt mit einer Unzahl oft stäbchenförmiger, bis in die Fortsätze sich erstreckender Granula, die basophil sind, — ich habe sie als basophile Granula bezeichnet —, Nissl hat sie schon seit längerer Zeit genau verfolgt, und seine Färbungsmethoden verdanken ihren Werth gerade dieser basophilen Eigenschaft der Granula, da die von Nissl angewandten Farben stark basisch sind.

Heute möchte ich über eine andere Eigenschaft der Nervenzellen berichten, von der ich glaube, dass sie nicht minder geeignet ist, die Sonderstellung dieser Gebilde vor anderen Organzellen zu illustriren.

Ich bin durch die Güte des Herrn Leitz, hier, in die Lage versetzt worden, an der Hand von 25 Präparaten diese Eigenschaft Ihnen ad oculos demonstrieren zu können, und kann mich daher mit Worten kürzer fassen. Nur folgendes sei bemerkt: Ich hatte vor einigen Jahren in einem pathologischen Rückenmark, bei einem Falle von Myelitis, den ich mit Ueberosmiumsäure nach Marchi behandelte, gefunden, dass die Ganglienzellen der Vorderhörner zu einem beträchtlichen Theil vollgefüllt waren mit dunkelschwarzen oder braunschwarzen Körnern. Ich hielt diesen Vorgang zunächst für pathologisch und dachte an Verfettung oder ähnliches. Als ich in zwei weiteren, anders gearteten pathologischen Fällen dasselbe fand, ging ich daran, normale Rückenmarke zu untersuchen. Es sind im ganzen 17 normale Rückenmarke gewesen, und ich fand in allen nicht nur in den grossen Ganglienzellen der Vorderhörner, sondern auch in allen kleineren Ganglienzellen, auch den kleinsten in den Hinterhörnern, dieselben schwarzen Körner in einem ganz beträchtlichen Theil des Leibes angehäuft. Man sieht aus den aufgestellten Präparaten, dass sie zuweilen ein ganzes Drittel des Leibes, zuweilen noch mehr davon einnehmen. Ich habe weiterhin gesehen, dass nicht etwa nur das Rückenmark diese schwarzen Körner enthält, sondern ebenso die Grosshirnrinde davon erfüllt ist, d. h. nicht nur die grossen, sondern auch die kleinen und kleinsten Zellen. An einem Osmiumpräparat der Grosshirnrinde sieht man jede noch so kleine Ganglienzelle, wie die Präparate zeigen, dadurch aufs deutlichste, dass sie einen Haufen kleinster schwarzer Körner enthält. Bei Untersuchung der Kleinhirnrinde kam ich zu einem überraschenden andern Ergebniss. Die so grossen Zellen derselben, die Purkinje'schen Zellen, sind ausserordentlich arm an solchen schwarzen Körnern, man sieht nur wenige staubförmige, schwarze Pünktchen, und die übrigen kleineren Ganglienzellen der Kleinhirnrinde sind überhaupt frei davon, sie bilden so eine Ausnahme von der Regel. Die Spinalganglien hingegen zeigen ebenso wie die übrigen Ganglienzellen, soweit sie nicht mit reinem Pigment erfüllt sind, wovon ich noch zu sprechen haben werde, die schwarzen Körnerhaufen bei Osmiumbehandlung.

Nun, m. H., es stellte sich also heraus, dass die Körnchen einen Befund in der Zellsubstanz der normalen Centralorgane bildeten; pathologische Fälle waren es nicht, die ich untersucht hatte, wenigstens das Nervensystem war gesund, es handelte sich um Kranke, die an Phthise oder an anderen, chirurgischen oder internen Krankheiten gestorben waren.

Ich musste mich aber fragen: konnte vielleicht ein Artefact hier vorliegen? Ist vielleicht die Färbungsmethode an dem Auftreten der Körnchen schuld gewesen? Ich hatte das Rückenmark

¹⁾ Vortrag mit Demonstration von Präparaten, gehalten im Verein für innere Medicin am 4. Mai 1896.

in Müller'sche Flüssigkeit gelegt, und die sogenannte Marchi-Färbung genommen, indem ich einen Theil einer 1%igen Osmiumsäure mit zwei Theilen Müller'scher Flüssigkeit vermischte. Ich habe deshalb frisches Material genommen, ausserdem aber noch in Formol gehärtetes, und ferner auch reine Osmiumsäure, zu $\frac{1}{3}\%$ verdünnt, angewandt, und ich fand genau dasselbe, wie ich ebenfalls Ihnen durch die Präparate demonstrieren kann. Also es konnte sich um keine Artefacte handeln.

Sodann kam eine weitere Vermuthung in Betracht. Vielleicht, so dachte ich, könnte hier eine senile Erscheinung vorliegen. Ich prüfte darauf hin die 17 Fälle: einer stand im Alter von 60 Jahren, aber von den übrigen waren nur 5 über 30, zwischen 30 und 40, und 10 unter 30 Jahre alt, im Alter von 20—30, einer sogar 17 Jahre alt. Ich habe gerade diesen letzteren Fall ebenfalls für die Demonstration verwendet. Also ein seniles Vorkommniss liegt keinesfalls vor.

Nun fragte ich mich weiter, wie steht es denn beim Neugeborenen? Ich untersuchte zwei Fälle, ein Präparat davon habe ich ausgestellt, von einem zwölf Monate alten Kinde. Hier fand ich, dass das Pigment fast gar nicht vorhanden ist. Erst glaubte ich, es sei auch nicht eine Spur davon da, ich habe mich aber überzeugt, dass doch ein kleiner Staub im Protoplasma liegt, den ich zuerst als einen zufälligen Befund angesehen hatte. Man sieht in dem aufgelegten Präparat deutlich die spärlichen und feinen Staubchen.

Dann untersuchte ich Thiere und fand, dass kein kleines Thier von der in Frage stehenden Substanz auch nur eine Andeutung in irgend einer Nervenzelle enthielt. Ich habe Kaninchen, aber auch Ratten, Katzen, Hunde und Mäuse untersucht, sie sind völlig frei. Von grossen Thieren habe ich nur das Rind untersucht in drei Fällen, und auch da fand ich nur eine kleine Menge von schwarzen Körnchen, wie ich Ihnen hier demonstrieren kann. Möglich, dass andere grosse Thiere mehr davon haben, ich will darüber noch kein sicheres Urtheil abgeben.

Jetzt trat eine wichtige Frage an mich heran. In welcher Beziehung stehen diese schwarzen Körnchen zu dem, was man als Pigment der Nervenzellen bezeichnet, das man schon seit langer Zeit kennt? Es handelt sich um zweierlei Pigment, zunächst ein dunkelbraunes, braunes oder rothbraunes; das findet sich in jenen Theilen des Nervensystems, welche makroskopisch schon ein dunkles Aussehen haben, im Locus coeruleus und der Substantia nigra und in einigen Hirnnervenkernen, auch in den Spinalganglien. Weit aus der grösste Theil der Nervenzellen zeigt sich aber erfüllt mit einem hellgelben, nur bloss gefärbten Pigment (Obersteiner und Pilez). Ich meine nur dieses blassgelbe Pigment. Ob es sich bei diesem um ein normales oder ein pathologisches Gebilde handelt, darüber waren die Autoren lange Zeit in zwei Lager gespalten. Ein Theil sprach von Pigmentatrophie, von pigmentöser Degeneration der Nervenzellen. Ich habe noch kürzlich in einigen Arbeiten diese Bezeichnungen gefunden. Andere Autoren aber waren schon seit längerer Zeit geneigt, das Pigment für etwas Normales, jedenfalls nicht Pathologisches zu halten. Westphal spricht sich dahin aus, dass das Vorkommen von Pigment nur ein seniler Vorgang sei. Dasselbe sagt Charcot. Virchow lässt es dahingestellt, ob das Pigment pathologisch oder senil sei, und v. Leyden hat in seinem 1874 erschienenen Werk den Satz ausgesprochen, dass das Vorhandensein von Pigment in den Nervenzellen keineswegs allein darauf hinweisen könne, dass hier ein pathologischer Fall vorliege. Neuere Autoren kommen immer mehr dahin, das Pigment nicht als pathologisch zu betrachten, so z. B. Wight und Schäfer, die in zwei Arbeiten behaupten, dass gerade das Vorhandensein derselben erst die „functional activity“ der Ganglienzellen bedeute. Aber erst 1895 ist von Pilez auf Veranlassung von Obersteiner, der schon vorher dieser Frage nähergetreten war, eine sehr werthvolle Arbeit über das Pigment in den Nervenzellen erschienen, welche über diese Angelegenheit wesentlich neue Gesichtspunkte lieferte. Er kommt zu dem Ergebniss, dass das hellgelbe Pigment — auch das dunkle übrigens behandelt er ausführlich — ein durchaus normaler Bestandtheil der Nervenzellen sei und keine Alterserscheinung ist, sondern bereits im Pubertätsalter sich entwickelt, im Laufe der Jahre zunimmt und im Alter etwas dunkler erscheint. Ferner erwähnt er, dass das hellgelbe Pigment im Gegensatz zum dunklen mit Osmiumsäure sich schwärzt. Ich selbst konnte nun zunächst sicher constatiren, dass das hellgelbe, sogenannte Pigment mit meinen schwarzen Körnern nach Sitz und Lage in den Nervenzellen identisch war. Allerdings fanden sich beim genauen Vergleich mehr schwarze Körner als Pigment, und in den kleinsten Zellen, in denen sich die Körner fanden, war Pigment nicht wahrnehmbar. Doch trat an mich die Frage heran: ist diese schwarze Färbung vielleicht nichts als der Einfluss der Osmiumsäure auf das Pigment? Giebt also der

Pigmentfarbstoff an sich mit Osmium eine Schwarzfärbung? Wahrscheinlich von vornherein war das allerdings nicht, denn die meisten Pigmente, z. B. der Blutfarbstoff, werden keineswegs durch Osmiumsäure geschwärzt, aber möglich war es immerhin, dass im Nervensystem ein Pigment vorhanden sei, das diese Eigenschaft besitzt.

Zunächst sprach eins dagegen: die dunkel pigmentirten Nervenzellen des Locus coeruleus und der Substantia nigra waren nicht geschwärzt. Vielmehr liess sich sogar — ich habe auch ein solches Präparat aufgestellt — z. B. am Vagus-kern erkennen, dass diese Zellen ihre rothbraunen Körner unverändert beibehielten, während dazwischen die nicht dunkel pigmentirten die meist etwas kleineren schwarzen Körner enthielten.

Ferner konnte aus dem oben erwähnten Umstande, dass mehr schwarze Körner als hellgelbes Pigment vorhanden waren, geschlossen werden, dass das Osmium nicht das Pigment, sondern ein farbloses Substrat schwärzte, das nur zum Theil blassgelb gefärbt war.

Allein dies Alles konnte nicht genügen. Ich suchte vielmehr das Pigment direkt zu entfernen und dann mit Osmium zu färben. Ich habe deshalb in Formol gehärtete Stücke zweimal 24 Stunden in Chlorwasser gelegt, von solchen Stücken einen Theil direkt eingebettet und geschnitten und einen zweiten in Osmiumsäure gethan und dann eingebettet und geschnitten. Der eingebettete Schnitt ist absolut farblos geworden, so gebleicht, dass nicht nur das Pigment völlig geschwunden, sondern selbst die rothen Blutkörperchen keine Spur mehr von Farbstoff haben. Der andere Theil zeigte die Körner eben so schwarz als vorher, obwohl sie des Pigments beraubt waren. Der Bleichungsprocess hatte also keinerlei Einfluss auf die Schwarzfärbung. Also mit dem Pigment hat die Schwarzfärbung an sich nichts gemein. Zwei Präparate von Rückenmark und Hirnrinde mögen das Gesagte illustriren.

Nun komme ich zur letzten wichtigsten Frage: was für eine Substanz stellen dann thatsächlich diese durch Osmium geschwärzten Körnchen vor? Die Ueberosmiumsäure ist in solcher Verdünnung, wie ich sie anwandte, seit langem bekannt als Reagenz für Fette. Concentrirte Osmiumsäure färbt allerdings alles schwarz, aber $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}\%$ ige färbt nur Fett schwarz. Ich würde gar kein Bedenken getragen haben, mich darauf zu verlassen, dass hier eine Fettsubstanz vorliegt, da sie doch durch Osmiumsäure schwarz gefärbt wird, wenn ich nicht geglaubt hätte, dass gerade im Nervensystem so viel unbekannte Substanzen vorhanden sind und Ueberraschungen sich einstellen können, dass noch ein anderweitiges Vorgehen erforderlich war, um zu beweisen, dass hier wirklich eine Fettsubstanz vorlag. Dieser Nachweis bestand in der Extrahirung des Fettes mit Alkohol und Aether. Wenn man nämlich die Körnchen damit gründlich behandelt hat, so sieht man sofort, dass die Osmiumsäure nicht mehr arbeitet, dass die Körner nicht mehr schwarz werden.

Ich habe frische Hirnrinde oder Rückenmark sofort oder nach Formolhärtung in Aether gelegt, und zwar für mehrere Tage, bis ich sicher war, dass alles Fett entfernt war. Denn so einfach ist das nicht, in kurzer Zeit gelingt es ebensowenig, wie beim normalen Fettgewebe der Haut, die feinen Körnchen völlig in allen Ganglienzellen zu extrahiren. Nachdem aber alles ausgezogen war, was mehrere Tage beanspruchte, sah ich keine Spur von schwarzer Färbung mehr.

Sodann wandte ich aber auch noch Essigsäure an. Verdünnte Essigsäure löst Eiweiss, also wenn etwa die Körnchen Eiweisskörper waren, so mussten sie darin gelöst werden. Es zeigte sich keinerlei Veränderung. Die Osmiumsäure schwärzte nach wie vor die Körner.

Es giebt nun noch einige andere Fettreagentien, welche ich versuchte, die aber zu keinem Ergebniss führten; die Alkannatinctur, eine alkoholische Lösung, und die von Ranvier eingeführte Cyaninmethode (Chinoleinblau). Diese Farben lassen sich im Nervensystem nicht anwenden, da die alkoholischen Lösungen das Nervenmark zur Gerinnung bringen und verwaschene Bilder erzeugen; ich kann nach eingehender Prüfung von Versuchen damit abrathen, während diese Flüssigkeiten erfolgreich in anderen Geweben, z. B. von Maass zum Nachweis von Fettkörnchen im Herzmuskel angewendet worden sind.

Dann möchte ich ganz kurz den Einfluss von Härtungsflüssigkeiten anführen. Zunächst die Müller'sche Flüssigkeit. Sie imprägnirt die Körnchen und conservirt sie vorzüglich zur nachherigen Schwarzfärbung mit Osmium. Selbst durch die Weigert'sche Färbung wird nach guter Härtung in Chrom und nicht zu starker Entfärbung eine Schwarzfärbung der Körnchen erzielt. Auch Formol conservirt sie ausgezeichnet. Hingegen Alkohol extrahirt sie und bewirkt, dass die gelbe Pigmentation, welche die Körnchen haben, in den übrigen Theil der Nervenzelle

diffundirt. Nicht sehr lange in Chrom gehärtetes Material wird ebenfalls durch Alkohol extrahirt. Nach der Extraction bleibt ein zartes Gerüst übrig, welches den Rest der Körnchen andeutet und in welchem die pigmentirte, mit Osmium sich schwärzende Substanz schwammartig gesessen hat.

Nach dem Gesagten stehe ich nicht an, den Satz auszusprechen, dass die normalen Ganglienzellen des erwachsenen Menschen mit körnchenartigen Gebilden angefüllt sind, welche eine Fettsubstanz darstellen, die häufig hellgelb pigmentirt ist, deren Pigmentirung im Alter zunimmt, welche aber bis zu einem gewissen Grad unabhängig von der Fettsubstanz ist. Es handelt sich also um ein Lipochrom (Krukenberg), welches die meisten Ganglienzellen erfüllt, welches in den Purkinje'schen Zellen fast und in den übrigen Kleinzellen völlig fehlt, beim Neugeborenen kaum vorhanden ist, welches die kleinen Thiere gar nicht besitzen; betreffs der grösseren habe ich noch nicht genug Material gesammelt.

Zum Schluss möchte ich mit wenigen Worten noch auf ein anderes Vorkommniss aufmerksam machen, das wohl eben so wichtig und charakteristisch für das Centralnervensystem ist; es betrifft die Gefässe, die Arterien, Venen und Capillaren. Diese sind in ihrer Adventitia streckenweise von derselben Substanz, demselben Lipochrom erfüllt, wie die Ganglienzellen. Frisch documentirt sich diese Substanz, wie ich Ihnen demonstirt habe, als gelb gefärbte Körnchen, welche stellenweise grösser sind und sogar Schollen darstellen, die sich genau so den Reagentien gegenüber verhalten, wie die Körnchen in den Ganglienzellen. Ich brauche dies nicht nochmals zu wiederholen. Die physiologische Bedeutung dieser Substanz bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, ebenso wie ich auch über pathologische Ergebnisse heute nicht berichten kann. Was ich soeben über die Gefässe gesagt habe, hat bereits Obersteiner hervorgehoben. Ich kann seinen Befund und seine Vermuthung, dass es mit Fett zusammenhänge, bestätigen und möchte hervorheben, dass nicht nur Arterien, sondern auch andere Gefässgattungen reichlich davon erfüllt sind.

In einer ausführlicheren Arbeit über den Gegenstand werde ich die einschlägige Litteratur, die ich hier nur vorübergehend erwähnt habe, genauer berücksichtigen.