Zur Kenntniss der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe.

Von

Dr. Th. Leber.

Im Nachfolgenden sollen einige Methoden mitgetheilt werden, mit deren Hülfe es sehr leicht gelingt, verschiedenartige extracelluläre Niederschläge, ähnlich den bekannten Silberbildern, in der Hornhaut zu erzeugen und wodurch man Präparate erhalten kann, welche vor letzteren in mehreren Punkten den Vorzug verdienen. — Bekanntlich stellt sich die Structur der Hornhaut und ähnlicher Gewebe durch Imprägnation mit metallischen Niederschlägen auf zwei verschiedene Arten dar: entweder erhalten wir ein Netz von ungefärbt bleibenden Parthien auf dunkeltem Grunde, das man nach dem Vorgang v. Recklinghausen's als Ausdruck eines anastomosirenden Kanalsystems zu betrachten pflegt; oder es treten den vorigen ähnliche, aber dunkle Zeichnungen auf hellem Grunde auf, welche durch Niederschläge in das Innere jener Kanäle und die in denselben befindlichen zelligen Gebilde hervorgebracht werden.

Erstere Bilder, die auf extracellulären Niederschlägen beruhen, will ich der Kürze halber als negative, letztere, durch intracelluläre Niederschläge bedingte, dagegen als positive Bilder bezeichnen. Auf erstere beziehen sich vorzugsweise die folgenden Mittheilungen.

Mittelst Silberlösungen lassen sich bekanntlich von der Hornhaut, je nach der angewandten Methode, sowohl negative als positive Bilder erhalten. Die Cohnheim'sche Goldmethode liefert dagegen, wie man weiss, nur positive Bilder, und nur ausnahmsweise, unter bis jetzt nicht controllirbaren Bedingungen erhält man stellenweise eine negative Färbung. Für die durch Gold- und Silberlösungen oder ähnliche Methoden hervorgebrachten intracellulären Niederschläge steht jetzt wohl fest, dass sie der stärker reducirenden Wirkung der Zellsubstanz auf die Lösungen der leicht reducirbaren Metalle ihre Entstehung verdanken, und nicht etwa dem Umstande, dass sie in hohlen, mit Flüssigkeit gefüllten Kanälchen entstehen, wie v. Recklinghausen in seiner ersten Mittheilung annahm.*) Gegen letztere Annahme spricht schon der Umstand, dass bei Anwendung von Silberlösungen, wie His**) später fand, unabhängig von der Concentration, zuerst immer in der Grundsubstanz ein Niederschlag auftritt und erst später, unter gewissen Bedingungen, im Innern der Körperchen. Es löst sich nämlich der extracelluläre Niederschlag in der die Hornhaut durchtränkenden Flüssigkeit wieder auf, wenn er nicht in zu grosser Menge vorhanden ist, um sich dann erst auf's Neue in den Körperchen niederzuschlagen. Für die Annahme einer reducirenden Wirkung der Zellen

*) v. Recklinghausen, eine Methode, microscopisch hohle und solide Gebilde zu unterscheiden. Virch. Arch. XIX, p. 451.

**) His, über die Einwirkung von Arg. nitric. auf die Hornhaut. Schweiz. Zeitschr. f. Heilk. Bd. II, 1. 2. 1863.

spricht die Nothwendigkeit der Einwirkung des Lichtes, die Länge der Zeit, welche zur Hervorrufung der Färbung nothwendig ist, die analoge Färbung der Nerven und der Vergleich mit der Wirkung der Osmiumsäure auf letztere. Es kann demnach auch aus der Färbung oder Nichtfärbung gewisser Gewebsbestandtheile durch Niederschläge an und für sich weder ein Hohl- noch ein Solidesein derselben gefolgert werden. Auch die körnige oder gleichmässige Beschaffenheit der Fällung macht hierin keinen Unterschied, da man körnige Niederschläge nicht nur in den Zellen, sondern auch in der Grundsubstanz erhalten kann.

Auf anderem Wege erhielt v. Wittich*) Niederschläge in dem Lückensystem der Hornhaut (und in dem der Sehnen) nämlich durch Imbibition mit reducirtem Indigo, wobei sich Indigokörnchen in den Kanälchen niederschlugen; auch mittelst chromsauren Blei's will er ähnliche Präparate erhalten haben.

Während nun zur Production positiver Färbungen der Hornhautkörperchen (und Nerven) die Goldmethode vor der Versilberung bei weitem den Vorzug verdient, hat bis jetzt zur Erzeugung negativer Bilder neben der Silbermethode kein anderes Verfahren allgemeinen Eingang gefunden. Es fehlt jedoch nicht an Angaben, dass auch andere metallische Mittel die Silberlösung zu dem gedachten Zwecke ersetzen können. Schon in seinem ersten Aufsatz**) bemerkte His, dass er durch Application von krystallinischem Bleizucker oder starker Bleiessiglösung auf frische Hornhäute hübsche extracelluläre Abscheidungen erhielt. Ferner wurde vor einigen Jahren

*) v. Wittich, Bindegewebs-, Fett- und Pigmentzellen. Virchow's Archiv IX. p. 185.

**) His, über das Verhalten des salpetersauren Silberoxyds zu thierischen Gewebsbestandtheilen. Virchow's Archiv XX. p. 207.

von L. Landois*) in einer vorläufigen Mittheilung zu dem gleichen Zwecke die Imprägnation der Gewebe mit Schwefelmetallen empfohlen. Ueber die Details der Methode wird uns indessen Nichts mitgetheilt, und es lässt sich aus der kurzen Notiz nicht einmal entnehmen, ob die erhaltenen Niederschläge intra- oder extracelluläre waren. Eine ausführlichere Mittheilung des Verfassers über diesen Gegenstand habe ich in den mir zugänglichen Zeitschriften vergeblich gesucht. v. Recklinghausen**) konnte dagegen mit chromsaurem Bleioxyd, Berliner Blau und Carmin keine Präparate erhalten, welche die Schärfe der Silberbilder erreichten. Eine Mittheilung meiner eigenen Versuche mag demnach gerechtfertigt erscheinen, um so mehr, als dieselben auch einigen Aufschluss über die Bedingungen der Entstehung extracellulärer Niederschläge im Allgemeinen geben können.

Was die negativen Silberbilder betrifft, so scheint es sich dabei nur um eine Fällung des Silbersalpeters durch die Chlorverbindungen zu handeln, welche in der die Hornhautgrundsubstanz durchtränkenden Flüssigkeit enthalten sind, mit nachfolgender Schwärzung des entstandenen Chlorsilbers unter dem Einflusse des Lichts. Das Freibleiben der Körperchen von der Fällung kann alsdann nur darauf beruhen, dass die Silberlösung im Anfang gar nicht ins Innere der Kanälchen gelangt, da die Körperchen gleichfalls, wie schon die positiven Silberbilder beweisen, durch Silberlösungen fällbare Verbindungen enthalten. His hat, entgegen seiner früheren Meinung, dass der Niederschlag in der Grundsubstanz wesentlich aus Silberalbuminat bestehe, später den Nach-

*) L. Landois, über die Imprägnation der Gewebe mit Schwefelmetallen. Vorl. Mitth. Centralbl. f. d. med. Wiss., 1865. Nr. 55.

**) v. Recklinghausen, die Lymphgefäße in ihrer Beziehung zum Bindegewebe. S. 14.

weis geliefert, dass es sich um Chlorsilber handelt.*) Von Silberalbuminat unterscheidet er sich durch einige Reactionen, namentlich die Unlöslichkeit in Essigsäure und verdünnter Salpetersäure; auch ist die Grundsubstanz der Hornhaut ausserordentlich arm an Albumin. Von einer Chondrinverbindung kann nach His desshalb nicht die Rede sein, weil Chondrin mit Silber keine Verbindung eingeht; auch trübt sich eine mit destillirtem Wasser ausgewaschene Hornhaut nach His durch Silberlösungen nicht mehr.

Mit dieser His'schen Erklärung stimmt auch die Thatsache überein, dass Goldchlorid, wenigstens für gewöhnlich, keine negativen Bilder liefert, weil es durch die in der Hornhaut enthaltenen Salzlösungen keine Fällung erleidet.

Man sollte nun erwarten, dass man auch mit anderen Niederschlägen den negativen Silberbildern ähnliche Präparate erhalten könnte, indem man successive das Gewebe mit zwei Lösungen sich durchtränken lässt, welche zusammen einen Niederschlag geben, ähnlich wie dies von Landois zur Imprägnation mit Schwefelmetallen angegeben wurde. Und in der That kann man auch unter den gehörigen Cautelen mit einer ganzen Reihe von Niederschlägen derartige Präparate herstellen. Ich habe eine Anzahl derselben durchprobirt und gefunden, dass sehr viele sich ganz ähnlich zu thierischen Geweben verhalten, wie das entstehende Chlorsilber. Eisen-, Blei-, Kupfersalze etc., theils in neutraler, theils in schwach alkalischer Lösung (wo sie dergestalt erhalten werden können) liefern nicht nur mit Schwefelwasserstoff oder Schwefelammonium, sondern auch durch verschiedene andere Mittel niedergeschlagen, den Silberbildern ganz

*) His, über die Einwirkung von Argent. nitric. auf die Hornhaut. Schweiz. Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. II, 1. 2, 1863.

ähnliche Präparate. Bei der Mannigfaltigkeit der möglichen Niederschläge konnte es nicht meine Absicht sein, alle erdenklichen Combinationen zu versuchen, sondern ich begnügte mich damit, einige Verfahrungsweisen auszuprobiren, welche für die Hornhaut brauchbare Präparate liefern, und suchte dabei die Bedingungen für ein möglichst vollkommenes Gelingen der Imprägnation im Allgemeinen zu ermitteln. Die folgenden Angaben beziehen sich zunächst nur auf die Hornhaut des Frosches, welche mir als Versuchsobject diente, indessen habe ich mich überzeugt, dass auch die Hornhäute anderer Thiere sich in dieser Beziehung ziemlich gleich verhalten, und dass man auch von anderen flächenhaften Organen, die v. Recklinghausen'schen Saftkanälchenbilder erhalten kann. In letzterer Beziehung ist es mir indessen noch nicht gelungen, ein vollkommen geeignetes Verfahren aufzufinden, und meine Zeit erlaubt mir leider nicht, mich allzuweit auf diesen mir etwas ferner liegenden Gegenstand einzulassen.

Ich bemerke nur noch, dass auch die Contouren der Epithelzellen sich bei den im Folgenden angegebenen Verfahren ganz ebenso dunkel färben, wie bei der Versilberung.

Beim Durchprobiren verschiedener Niederschläge fiel mir sehr auf, dass einige derselben mit der grössten Leichtigkeit Präparate von vorzüglicher Schärfe und Deutlichkeit lieferten, so z. B. das sog. Turbull's Blau (Ferridcyaneisen) und aus schwach alkalischer Lösung niedergeschlagenes Ferrocyan kupfer, während andere, diesen sehr nahe stehende Niederschläge bei den anfänglichen Versuchen immer nur eine ganz diffuse Färbung des Gewebes hervorbrachten, so das gewöhnliche Berliner Blau (Ferrocycaneisen) und Ferrocyan kupfer aus neutraler Lösung gefällt. Auch v. Recklinghausen erhielt, wie schon oben angeführt wurde, mit Berliner Blau (vermuthlich Ferrocycaneisen) keine brauchbaren Präparate.

Diese Verschiedenheiten scheinen, wie ich aus zahlreichen Versuchen schliessen muss, wenigstens der Hauptsache nach auf Nebenumständen zu beruhen, und namentlich auf dem Verhalten des Epithels in der angewandten Flüssigkeit. Einige Lösungen machen dasselbe schrumpfen und fest an der Oberfläche des Gewebes anhaften, wodurch das Eindringen der Flüssigkeit in das Gewebe selbst erheblich erschwert wird; die zur Entfernung des Epithels angewandten Manipulationen verursachen alsdann leicht ein Eindringen der Flüssigkeit in das Lückensystem oder das Innere der Zellen, während doch die Methode gerade darauf beruht, dass die Flüssigkeit in das Innere der Kanälchen nicht eindringt. Auch von der Silbermethode her ist ja bekannt, dass möglichstes Vermeiden von Druck oder Zug an dem Gewebe zum Gelingen unerlässlich ist. Andere Lösungen dagegen, namentlich die schwach alkalischen, lockern die Epithelien, wodurch die Einwirkung auf das Gewebe befördert und die Entfernung des Epithels, wo es nöthig ist, durch ein unschädliches Abpinseln oder sanftes Streichen mit dem Messerrücken ermöglicht wird.

Wenn sich das Epithel leicht entfernen lässt, so ist dies für die Gleichmässigkeit und Sauberkeit der Präparate vortheilhaft; wo nicht, so muss dasselbe sitzen bleiben, bis der Niederschlag erfolgt ist und erst nachträglich beseitigt werden. In diesem Falle ist natürlich ein längeres Einwirken der Flüssigkeiten nothwendig, um durch das Epithel hindurchzudringen. Mit Berücksichtigung dieses Umstandes ist es mir gelungen, auch mit solchen Niederschlägen zum Ziele zu gelangen, welche früher immer nur diffuse Färbungen lieferten, namentlich auch mit den beiden oben erwähnten Fällungen, wenn auch die Präparate nicht so vollkommen waren, dass ich sie als Methode empfehlen wollte.

Man lege die frische Hornhaut eines Frosches einige

Minuten in eine $\frac{1}{2}$ —1% Lösung eines Eisenoxydulsalzes, entferne alsdann vorsichtig das Epithel, das in der Regel sich sehr leicht abstreifen lässt, bringe die Hornhaut noch kurze Zeit in die Flüssigkeit zurück, so dass sie im Ganzen nur ca. 5 Minuten darin gelegen hat; spüle sie durch momentanes Eintauchen in Wasser ab und bringe sie sofort in eine 1% Lösung von Ferridcyankalium, wo sie mit der Pincette so lange hin und her geschwenkt wird, bis sie eine intensive und gleichmässige blaue Färbung angenommen hat, was schon nach wenigen Augenblicken geschieht. Das Präparat ist nun fertig, und muss nur noch zur Entfernung der überschüssigen Salzlösung kurze Zeit mit Wasser ausgewaschen werden.

Wenn man sorgfältig verfahren ist, so erhält man über die ganze Vorder- und Hinterfläche der Hornhaut eine intensive Färbung der Grundsubstanz mit völlig freibleibenden Kanälchen und gröberen Nervenverzweigungen; etwa sitzengebliebene Epithelzellen pflegen in ihren Umrissen dunkel gefärbt zu sein. Hat man bei der Entfernung des Epithels zu viel Druck angewandt, so wird die Imprägnation an der Vorderfläche häufig diffus, allein selbst dann wird man ein theilweises Gelingen, namentlich an der Hinterfläche kaum je vermissen, so dass ich kein sichereres und rascheres Verfahren zur sofortigen Darstellung und dauerhaften Fixirung des Kanalsystems der Hornhaut in seiner ganzen Zierlichkeit und Schönheit kenne, als das soeben beschriebene. Namentlich hat man nicht, wie bei der Versilberungsmethode zum sichern Gelingen nöthig, das Epithel vorher durch warme Wasserdämpfe zu entfernen, was immer umständlich und zeitraubend ist, sondern dasselbe lockert sich schon hinlänglich durch die Wirkung der Eisenoxydullösung. Dies gilt jedoch nicht, wie ich beiläufig bemerken will, für das viel fester haftende

Epithel der Nickhaut des Frosches, weshalb ich auch hier mit dieser Methode nicht recht zum Ziel gelangte.

Die Wirkung der Imprägnation erstreckt sich übrigens nicht, wie bei den extracellulären Silberniederschlägen, nur auf die oberflächlichste Schicht, sondern es lassen sich immer zwei oder mehrere übereinander liegende gefärbte Schichten erkennen, so dass häufig die Froschhornhaut in ihrer ganzen Dicke imprägnirt zu sein scheint. Es fällt daher bei dieser Methode der Einwand weg, welchen einige Autoren noch immer gegen die negative Silberimprägnation erheben, als handle es sich dabei ausschliesslich um zufällige Niederschläge an der Oberfläche des Gewebes. Dass letztere bei Anwendung von Silberlösungen vorkommen können, wird von Niemanden bezweifelt, ja es ist bekannt, dass solche Niederschläge ähnliche Bilder erzeugen können, wie diejenigen, welche von der Structur der Hornhaut abhängig sind. Trotzdem sind aber letztere bei nur einiger Uebung nicht mit ersteren zu verwechseln, und ich glaube, dass die oben beschriebene Methode dazu dienen kann, jeden Zweifel in dieser Beziehung zu beseitigen. Unregelmässige Niederschläge an der Oberfläche des Gewebes kommen nämlich dabei gar nicht vor, wenn man die Hornhaut vor dem Eintauchen in die zweite Flüssigkeit gehörig abgespült hat und das Uebereinanderliegen mehrerer Schichten von Kanälchen beweist zur Evidenz, dass die dargestellten Zeichnungen wirklich dem Gewebe selbst angehören. Letzteres geht auch sofort daraus hervor, dass überall im Innern der Kanälchen die Kerne der Hornhautkörperchen mit der grössten Deutlichkeit sichtbar sind, und genau dieselben unregelmässigen und wechselnden Formen zeigen, wie man sie auch an der frischen Hornhaut sieht. Es scheint daraus hervorzugehen, dass die Hornhaut durch die Einwirkung der angewandten Reagentien keine erhebliche Veränderung

erlitten hat, wie denn auch weder ein merkliches Aufquellen, noch ein Schrumpfen, noch ein Verlust der Durchsichtigkeit an ihr wahrnehmbar ist.

Auch bei umgekehrter Reihenfolge der Anwendung beider Lösungen, gelingt die Imprägnation, doch schien mir das oben empfohlene Verfahren das zweckmässigere. Ein etwas längeres Verweilen der Hornhaut in der Eisenoxydullösung schadet nicht viel, wenn es nicht Stunden lang andauert; nach einer halben Stunde waren die erhaltenen Präparate noch ziemlich scharf und deutlich; selbst nach zwölfstündiger Einwirkung des Eisensalzes erhielt ich noch stellenweise ungefärbt gebliebene Körperchen, doch im Allgemeinen eine ziemlich diffuse Färbung. Ganz frische Hornhäute zu verwenden, ist nicht absolut nothwendig, doch gelingt die Imprägnation bei diesen sicherer und besser.

Ein weiterer Vorzug der beschriebenen Methode besteht darin, dass die imprägnirte Hornhaut noch sehr leicht die Anwendung anderer Tinctionsmittel erfahren kann, so von Carmin, Fuchsin, Jodlösung etc., was bei negativen Silberpräparaten nur schwer gelingt. Dagegen ist es mir nicht gelungen, nachträglich noch die Goldmethode anzuwenden; die sternförmigen Zellen färbten sich dabei nur sehr unvollkommen und die blaue Färbung der Grundsubstanz fing nach und nach an zu verblassen. Es gelingt ferner sehr leicht, von einer mit Berliner Blau imprägnirten Hornhaut (wenigstens beim Frosch) sehr dünne Lamellen abzuspalten, bloss durch vorsichtiges Abschaben mit einem nicht zu scharfen Scalpell; dasselbe findet übrigens statt auch nach Einwirkung verschiedener anderer Metalllösungen, und unter diesen auch des Goldchlorids. Die auf diese Weise isolirten Hornhautlamellen können mit Leichtigkeit so dünn erhalten werden, dass sie nur eine einzige Lage von Hornhautkörperchen enthalten. Sie zeigen (am deut-

lichsten nach Einwirkung von verdünnten Eisenchloridlösungen) eine sehr feine und dichte parallele Streifung, welche man bekanntlich auch mit verschiedenen anderen Mitteln erhalten kann, und die der Zusammensetzung der Lamellen aus feinen parallelen Fasern entspricht, wie dies unter Anderen auch von Henle und neuerdings von Engelmann angenommen wird. Durch Zerpupfen mit Nadeln nehmen diese Lamellen am Rande ein ausgefranztes Aussehen an, es ist mir aber auf mechanischem Wege eine wirkliche Isolirung der Fibrillen nicht gelungen; chemische Mittel habe ich nicht versucht. *)

Ganz dieselben Resultate erhält man durch Fällung einer 2% Lösung von schwefelsaurem Kupferoxydammoniak, welche einen geringen Ueberschuss von Ammoniak enthält, durch eine 5% Lösung von Kaliumeisencyanür, wobei das Verfahren mutatis mutandis ganz dasselbe bleibt. Die angegebenen Concentrationen scheinen mir die besten, doch scheint es auf kleine Unterschiede derselben nicht besonders viel anzukommen. Die Farbe des Niederschlags ist die bekannte braunrothe des Ferrocyankupfers. Will man gelbe Färbungen hervorrufen, so dienen dazu schwache Lösungen von Bleizucker (c. 1%) durch chromsaures Kali von derselben Concentration niedergeschlagen. Hier scheint es aber besser, das Epithel bis nach der Einwirkung der zweiten Lösung sitzen zu lassen und erst nachträglich zu entfernen, wobei natürlich die Lösungen etwas längere Zeit einwirken müssen. Dasselbe gilt für Schwefelblei, niedergeschlagen aus Bleizuckerlösung durch Schwefelammonium (Landois),

*) Ich bemerke beiläufig, dass beim Huhn und der Taube die faserige Structur der Hornhautgrundsubstanz schon in ganz frischem Zustand nachweisbar ist, indem hier die Fibrillen sich durch einfaches Zerpupfen mit Nadeln sehr leicht isoliren lassen. Ich wurde auf dieses Verhalten zufällig aufmerksam, kann aber nicht angeben, ob es sich bei anderen Vögeln und anderen Thierklassen gleichfalls findet.

was eine bräunlich schwarze Färbung liefert. Man verdünnt beide Lösungen so lange, bis sie im Reagenzglas gemischt keinen wirklichen Niederschlag, sondern nur eine dunkle Färbung liefern; ich habe auch hiermit Präparate von sehr grosser Schärfe erhalten. Auch die oben empfohlenen Eisenoxydul- und alkalischen Kupferlösungen geben mit Schwefelammonium ähnliche Fällungen, erstere von leicht grünlich schwarzem, letztere von mehr röthlich braunem Ton. Ich kann demnach die Angaben von Landois im Allgemeinen bestätigen und erweitern, ziehe aber die zuerst angegebene Methode mittelst Turnbull's Blau allen anderen vor. Man hat auch bei dieser Methode kein Nachdunkeln der Präparate zu befürchten, wie bei den auf Reduction beruhenden Verfahrungsweisen, dagegen hat bekanntlich das Berliner Blau die unangenehme Eigenschaft sich allmählig zu entfärben; für Präparate, die man aufbewahren will, wären daher vielleicht die Schwefelmetalle oder ein anderer der oben angegebenen Niederschläge vorzuziehen.

Ich habe schon oben erwähnt, dass Eisenchlorid und neutrale Kupferlösungen sich mir wenig geeignet zeigten, und überhaupt nur dann bei Betrachtung der Froschhornhaut in toto etwas anderes als diffuse Färbungen lieferten, wenn das Epithel anfangs sitzen gelassen wurde. Ich glaube übrigens, dass auch mit diesen Lösungen, wenn man es der Mühe werth halten sollte, sich geeignete Verfahren würden ausfindig machen lassen. Dass die Ursache des Misslingens hauptsächlich am Eindringen der Metalllösung in die Körperchen beim Entfernen des Epithels gelegen ist, scheint mir daraus hervorzugehen, dass wenn man nach der Imprägnation einzelne Lamellen von der Hornhaut abspaltet, diese sich zwar schwach aber ziemlich gleichmässig gefärbt zeigen. An Kupferpräparaten erkennt man, wenn das Epithel vor der Einwirkung des Kaliumeisencyanürs entfernt wurde, überhaupt Nichts von

Hornhautkörperchen, bei den Eisenchloridpräparaten dagegen zeigen die abgespaltenen Lamellen, wo die Hornhaut in toto gleichmässig gefärbt erscheint, das System der Hornhautkörperchen in einer von der gewöhnlichen abweichenden Weise. In der schwach blau gefärbten Grundsubstanz, welche ganz exquisit ihre fibrilläre Structur erkennen lässt, treten die Kanälchen wie gewöhnlich als hellere Lücken hervor; dagegen sind wiederum in ihrem inneren blaugefärbt die Kerne der Hornhautkörperchen und eine dieselben umgebende, unregelmässig coagulirt aussehende Substanz, welche sich auch stellenweise bis in die Ausläufer hineinerstreckt. Es macht den Eindruck, als ob die Substanz des Hornhautkörperchens durch die Einwirkung des Reagens coagulirt und zu einer unförmlichen Masse geschrumpft wäre, wodurch jetzt der grösste Theil der früher von ihm eingenommenen Lücke leer geworden sei. Diese Bilder unterscheiden sich wesentlich von den früher beschriebenen, wo der Inhalt der Kanälchen vollständig ungefärbt bleibt und man überhaupt im Inneren derselben zunächst von Zellsubstanz nichts wahrnimmt, sondern nur die Kerne. Da hier die Reagentien nicht ins Innere der Kanälchen eindringen, so ist auch begreiflich, dass sie auf die in denselben enthaltenen Zellen keine Einwirkung ausüben werden.

Es fragt sich nun, ob sich aus den beschriebenen Beobachtungen einige Folgerungen über die Structur der Hornhaut ziehen lassen. Zunächst möchte ich hervorheben, dass der Unterschied des Durchmessers der Elemente des Netzes bei gelungenen Goldpräparaten und bei den nach obigen Methoden erhaltenen extracellulären Niederschlägen, ein sehr geringer ist, während bei negativen Silberbildern die Kanälchen, wohl durch Schrumpfung der Grundsubstanz, oft eine erhebliche Weite besitzen. Bei meinen Präparaten stellt sich der Unterschied der Weite kaum grösser dar als man ihn erwarten muss

zwischen zwei einander einschliessenden Gebilden, selbst bei ziemlich inniger Berührung. Am leichtesten würde man begreiflicher Weise hierüber urtheilen, wenn es gelänge ein Präparat mit extracellulärer Imprägnation noch nachträglich zu vergolden. Dies ist mir jedoch nicht gelungen, dagegen kann man durch Tinction mit Jodlösung, auch durch Lösungen von chromsaurem Kali, weniger gut durch Carmin, die Zellen, ohne erhebliche Schrumpfung, im Inneren der farblos gebliebenen Lücken zur Anschauung bringen. Während ohne diese Mittel nur die Kerne sichtbar sind, sieht man z. B. nach Anwendung von Jodlösung die Zelle als eine feinkörnige, schwach gelblich gefärbte Masse, welche mit ihrem Körper der Wandung der Lücke ziemlich dicht anliegt, während sie in den Ausläufern oft nur den centralen Theil einzunehmen scheint, so dass zwischen den Ausläufern der Zellen und den Wandungen der Kanälchen freie Zwischenräume auftreten. Doch sind die Conturen der Zellen immer nur schwach angedeutet, auch lässt sich natürlich nicht bestimmen, ob die Jodlösung nicht eine Schrumpfung der zarten Zellenfortsätze zu Stande bringt. Jedenfalls scheint mir aber, dass im frischen Zustand die sternförmigen Zellen die Lücken zum grössten Theil ausfüllen, wesshalb wir auch wohl an der frischen Hornhaut nur einen einzigen Contour, nämlich den der Körperchen wahrnehmen und nicht noch einen davongetrennten, der der Wand der Lücke entspricht. Die Injectionsfähigkeit der sternförmigen Räume spricht nicht dagegen, da die Kanälchen, wie bekannt, eine grosse Dilatirbarkeit besitzen.

Eine andere Frage ist die nach der selbständigen Wandung der Kanälchen. Dieselbe ist von den meisten Beobachtern der letzten Zeit verneinend beantwortet worden, so namentlich von Engelmann*), C. F. Müller**)

*) Engelmann, über die Hornhaut des Auges. Leipzig 1867.

**) C. F. Müller, Histologische Untersuchungen über die Cornea. Virch. Arch. XLI. p. 110—148.

u. A., während ich selbst in einer früheren Arbeit*) die entgegengesetzte Ansicht zu vertreten gesucht habe. Wenn man nach der Ursache fragt, warum bei den extracellulären Niederschlägen die eine oder beide Flüssigkeiten nicht in die Kanälchen eindringen, so liegt allerdings die Annahme von Membranen, welche das Eindringen erschweren oder verlangsamen, am nächsten. Indessen muss ich bemerken, dass man sich den Hergang auch ohne Membran erklären kann, sei es durch die Annahme, dass die äusserste Schicht der Zellen durch die Metalllösung verändert oder coagulirt, und hierdurch das weitere Eindringen der Flüssigkeit verhindert oder erschwert wird, sei es, was wahrscheinlicher sein dürfte, durch die Annahme, dass die Substanz der Zellen an und für sich wegen ihrer physikalischen Beschaffenheit oder vitalen Eigenschaften**) dem Eindringen der Flüssigkeiten einen grösseren Widerstand bietet, so dass letztere, ehe sie Zeit haben, ins Innere der Kanälchen einzudringen, bereits ausserhalb derselben vollständig präcipitirt würden etc. Ohne mich hier weiter auf Hypothesen einlassen zu wollen, scheint mir jedenfalls die Existenz von Membranen zur Erklärung der besprochenen Thatsachen nicht absolut erforderlich. Selbst die oben beschriebenen Bilder, welche man durch Eisenchlorid und Ferrocyankalium erhält, und welche im Inneren der

*) Th. Leber, die Lymphwege der Hornhaut. Monatsbl. f. Augenh. 1868.

**) Ich erinnere hier nur an das durch Gerlach und v. Wittich bekannte Verhalten thierischer Zellen zu Farbstofflösungen. Letztere dringen nicht in die Zellen ein, so lange diese noch vitale Eigenschaften besitzen; erst nach dem Absterben färben sich die Zellen. Ich selbst habe abgelöste Gruppen von Flimmerzellen in conc. Farbstofflösungen einen Tag lang sich ungefärbt erhalten sehen, wobei die Flimmerbewegung fort dauerte, während andere abgelöste Zellen deren Bewegung aufhörte, sofort die Färbung annahmen. Sollten nicht auch andere Lösungen sich ähnlich verhalten und sich auf diese Weise das Frei bleiben der Hornhautzellen von Niederschlägen erklären?

leer gebliebenen Lücken die geschrumpften Hornhautkörperchen mit ihren Kernen zeigen, lassen noch eine andere Deutung zu. Wenn nämlich die Hornhaut aus übereinander liegenden Schichten feiner Fasern besteht, zwischen denen die Netze der Hornhautkörperchen liegen, so kann, wenn die Körperchen durch das Reagens geschrumpft sind, die Begrenzung der Lücken durch die Kittsubstanz gebildet werden, welche die Lamellen unter einander verbindet, aber natürlicher Weise in der Ausdehnung der Lücken fehlt. Es lässt sich demnach aus den Imprägnationsversuchen ein Beweis für die Existenz von selbständigen Membranen der Kanälchen nicht entnehmen, wenn diese Versuche auch eher zu Gunsten von Membranen zu sprechen scheinen. Die Gründe, warum ich früher diese Ansicht vertreten habe, beruhten auf den Resultaten von Macerationsversuchen mit Terpenthinöl injicirter Hornhäute. Bei Maceration in verdünnter Essigsäure hatten sich nämlich die sternförmigen, mit Terpenthinöltropfen erfüllten Kanälchen selbst dann noch mit voller Deutlichkeit erhalten, als das Gewebe bis zu Kleisterconsistenz erweicht war; bei Maceration in Schwefelsäure liessen sich gleichfalls die Kanälchen, ebenso wie die mit Terpenthinöl gefüllten Bowman'schen Röhren anscheinend vollständig isoliren. C. F. Müller hat diese Versuche mit negativem*) Erfolg wiederholt, ich besitze aber noch jetzt durch Essigsäure-Maceration erhaltene Präparate, welche meine Angaben vollkommen bestätigen können. Nur möchte ich jetzt, was die Deutung dieser Versuche betrifft, ihre Beweiskraft nicht mehr so hoch anschlagen wie früher. Es ist nämlich denkbar, dass bei der immerhin unvollständigen, d. h. nicht bis zur vollständigen Verflüssigung der Grundsubstanz getriebenen Maceration in Essigsäure die Oeltröpfchen durch ihre Klebrigkeit an

*) Loc. cit. p. 117.

den verästelten Zellen nur äusserlich adhärirten, aber durch die kleisterartig gequollene Grundsubstanz verhindert wurden in die umgebende Flüssigkeit zu entweichen. Bei der Schwefelsäuremaceration könnte man gleichfalls eine unvollkommene Lösung der Grundsubstanz oder die Bildung von Pseudomembranen durch Einwirkung der Schwefelsäure auf das Terpenthinöl oder dgl. mehr zur Erklärung herbeiziehen. Man würde demnach mit His anzunehmen haben, dass die Zellen selbst bei den Macerationsversuchen resistiren und selbst durch mässig verdünnte Schwefelsäure und anhaltendes Kochen nicht aufgelöst werden. Ich erwähne diese Einwände gegen meine eigenen Versuche desshalb, weil die grosse Dilatirbarkeit der Kanälchen, welche die Injectionen unzweifelhaft nachgewiesen haben, mir immer mit der Existenz von Membranen schwer vereinbar schien und ich desshalb nur durch die scheinbar ganz beweisenden Macerationsversuche mich zur Annahme derselben entschloss. Ich möchte daher jetzt die Frage vorderhand noch als offene betrachten, da immerhin noch einige Erfahrungen zu Gunsten meiner früheren Annahme zu sprechen scheinen. Uebrigens dürfte dieser Frage keine erhebliche Wichtigkeit zuzuschreiben sein: gehen den Kanälchen selbständige Wandungen ab, so kann trotzdem die die Lamellen verbindende Kittsubstanz, welche in der Ausdehnung der Lücken fehlen muss, eine gewisse Abgrenzung der letzteren zu Stande bringen; sind aber Membranen vorhanden, so haben diese jedenfalls eine sehr grosse Erweiterungsfähigkeit, so dass von einer nur einigermassen resistenten Begrenzung der Kanälchen doch nicht die Rede sein kann.