Befunden gemein haben. gesehen habe. Mit der Conservierungsmethode kann diese Differenz mit den Boveri'schen Befunden nicht zusammenhängen, da Boveri bei gleicher Conservierungsflüssigkeit (70 % Alcohol) keine Centrosomen gefunden hat. Jedenfalls scheint mir hierdurch der Beweis geliefert zu sein, dass die Degeneration des Ovocentrums von *Ascaris* durchaus nicht immer so früh erfolgen muss, wie es Boveri annimmt¹⁾. Meine Befunde beweisen, dass in vielen Fällen, auch bei *Ascaris*, „das Ovocentrum erst nach Ausstossung des zweiten Richtungkörpers degeneriren kann“¹⁾ (pag. 162).

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Hofrath Professor Dr. Wiedersheim für die Ueberlassung des Arbeitsplatzes im hiesigen anatomischen Institut, sowie meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Keibel, für die Anregung und das stete, wohlwollende Interesse an meiner Arbeit auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ans dem anatomisch-biologischen Institut in Berlin.

Direktor: Geheimrath Prof. Hertwig.

Ueber Silberimprägnation der Nervenzellen und der Markscheiden.

Von

Dr. **Max Mosse**.

Assistenten der medicinischen Poliklinik.

Die bisher angewandten Methoden zur Darstellung des feineren Baues der Nervenzellen beruhen auf ihrer Färbbarkeit mit Hämatoxylin oder mit den Anilinfarbstoffen. Die Zahl der für diesen Zweck angewandten Anilinfarbstoffe ist gross und vermehrt sich von Jahr zu Jahr; man könnte sagen, fast jeder Autor, der auf diesem Gebiete arbeitet, hat seine bevorzugte Anilinfarbe.

Im Gegensatz zu diesen Färbungen steht die Imprägnation der Nervenzelle nach der Golgi'schen Methode; bei dieser kommt aber bekanntlich die Zelle als Ganzes mit ihren Fortsätzen zur Darstellung.

¹⁾ Th. Boveri, Ueber den Antheil des Spermatozoön an der Theilung des Eies. Sitz.-Ber d. Gesellschaft f. Morph. und Phys. z. München, Bd. III Heft 3.

Es ist mir nun gelungen, ebenfalls mittels einer Imprägnationsmethode ein Bild der Einzelheiten des Baues der Nervenzellen zu gewinnen und zwar durch Anwendung eines Principes, das schon lange Gemeingut der Histologen ist und das ich mit Benutzung und Kenntniss der Vorarbeiten für meine Zwecke verwendet habe. Dieses Princip beruht auf der bekannten Tatsache, dass aus Silbersalzlösungen entweder durch das Sonnenlicht oder durch Anwendung chemischer Lösungen metallisches Silber niedergeschlagen wird.

In historischer Beziehung sei daran erinnert, dass zuerst C. Krause (1844) eine Versilberung der Zellgrenzen der Epidermis durch Reduction von Silbernitrat durch Sonnenlicht erzielt hat, an die Bedeutung, die die Recklinghausen'sche Silbermethode für die Histologie bekommen hat, an die Einführung der Entwickler in die histologische Technik durch Kallius (1892 Reduction von Golgi-Bildern) und durch van Ermengem (1894 Darstellung der Geisselfäden durch reducirtes Silber). Neuerdings haben Salge und Stöltzner ebenfalls mittels Entwickler rhachitische Knochen versilbert (Vortrag in der Charitégesellschaft 1899) und Fajersztajn (Neurol. Centralblatt 1901, No. 3) giebt an, dass er die Axencylinder nach einem etwas complicirten Verfahren, das er übrigens selbst als launenhaft bezeichnet, durch Reduction ammoniakalischer Silberlösung darstellen könne.

Bei meinen eignen Versuchen, über die ich bereits kurz berichtet habe (Deutsche med. Woch. 1900, No. 23), ergab sich naturgemäss, dass die Silbereiweissverbindungen, die wegen ihrer schweren Zersetzlichkeit in der praktischen Medicin Verwendung finden, für meine Zwecke nicht anwendbar waren. Am brauchbarsten erwies sich eine 1—2 % Lösung der in den Handel als Argentamin kommenden Flüssigkeit, brauchbarer als der gewöhnlich angewandte Höllenstein, bei dem die Darstellung der Nervenzellen allein schon durch einen störenden feinkörnigen Niederschlag weniger gut gelingt, andererseits das Farbenbild als solches ebenfalls nicht so prägnant erscheint, wie bei der Anwendung des Argentamin.

Als Reduktionsmittel kam der Einfachheit wegen eine 10 % Pyrogallollösung zur Benutzung; die Objekte wurden nach Carnoy-Gehuchten auf Grund der im Institute gemachten

guten Erfahrungen fixirt und in Paraffin eingebettet. Demnach gestaltet sich das Verfahren folgendermassen.

1. Fixirung in der Carnoy-Gehuchten'schen Flüssigkeit (Alkohol absol. 6 Theile, Chloroform 3 Theile, Eisessig 1 Theil);
2. Paraffineinbettung;
3. die aufgeklebten Schnitte kommen für ca. 2 Minuten in eine 1—2 % Argentaminlösung;
4. Abspülen in destillirtem Wasser;
5. Ueberführen für kurze Zeit (ca. 1 Minute, bis die graue Substanz einen bräunlichen Farbenton annimmt) in eine 10 % Pyrogallollösung;
6. Wasser, Alkohol etc.

Die Präparate, die nach diesem, wie man sieht, einfachen Verfahren dargestellt werden, ergeben nun folgendes Bild: während die Grundsubstanz und die Axencylinder bräunlich erscheinen, haben die Nissl'schen Körperchen, sowie der Zellkern und die Kernkörperchen eine schöne schwarz-violette Tinction angenommen und bilden durch diese Farbe einen scharfen Contrast gegenüber der bräunlich gefärbten Grundsubstanz. Ein Unterschied im Farbton zwischen den Nissl'schen Körperchen einer-, dem Kern und der Kernkörperchen andererseits ist nicht wahrnehmbar. Dieses Ergebniss hat — von der rein praktischen Seite abgesehen — nach zwei Richtungen hin Interesse. Einmal ist es wohl zum ersten Male gelungen, eine Metallimprägnation der chromatischen Substanz der Nervenzelle zu erzielen und zwar mit einem Resultat, das sich in Bezug auf die Darstellung des feineren Baues der Nervenzelle nicht von den auf andere Weise erzielten Resultaten unterscheidet. Hiermit sind wir einen Schritt weiter in der Frage nach der Herkunft der Nissl'schen Körperchen — allerdings gewissermassen nach der negativen Seite hin. Wenn nach so verschiedenen Methoden, sowohl durch Färbung mit Hämatoxylin, wie mit den verschiedenen Anilinfarbstoffen wie endlich auf dem Wege der Metallimprägnation eine Darstellung der Nissl'schen Körperchen gelingt, so kann jedenfalls das mit Sicherheit gesagt werden, dass der Vorgang der Vereinigung der die Farbe oder das Metall aufnehmenden Substanz mit der Farbe oder dem Metall nicht die Ursache der Bildung dieser Körperchen sein kann.

Zweitens erscheint es interessant, die Resultate, die mittels der Silbermethode erzielt werden, mit denen anderer Methoden in Bezug auf die Frage der chemischen Differenzirung zu vergleichen. Zunächst kann es als wahrscheinlich bezeichnet werden, dass der Vorzug des Argentamins vor den andern Silberpräparaten auf seiner alkalischen Reaction beruht, von der man sich bei der farblosen Flüssigkeit leicht überzeugen kann; wissen wir doch durch die Untersuchungen von Nissl, Kotlarewsky und Rosin, dass die Nissl'schen Körperchen basophil sind, d. h. dass sie, um mit Ziehen zu reden, basische Farbstoffe bevorzugen. (Literatur s. b. Ziehen: Centralnervensystem S. 144). Weiterhin spricht die Thatsache, dass bei der Silberimprägnation der Nervenzelle die Nissl'schen Körperchen, der Zellkern und die Kernkörperchen denselben Farbton annehmen, gegen die Anschauung derjenigen, die Kern und Kernkörperchen einen anderen chemischen Charakter zuschreiben, wie den Nissl'schen Schollen. Hiermit gewinnt die Vermuthung von Ziehen, die anderweitigen Resultate von Levi beruhten zum Theil auf der Vorbehandlung, weitere Anhaltspunkte.

Im Gegensatz zu den positiven Resultaten, die bei Anwendung des Silbersalzes erzielt wurden, gelang es nicht, mit andern Metallsalzen zu demselben Ergebniss zu kommen. Ich verwandte Gold-, Quecksilber-, Palladium- und Platinsalzlösungen; aber mit keiner von diesen wurde ein Bild erhalten, das annähernd an Vollkommenheit mit dem bei Verwendung des Argentamin erhaltenen zu vergleichen gewesen wäre.

Dagegen sind nach einer anderen Richtung hin die Versuche, wichtige Bestandtheile des Nervensystems durch Imprägnation mit Metallsalzen darzustellen, erfolgreich gewesen. Bei entsprechender Vorbehandlung gelingt die Darstellung der Markscheiden durch Imprägnation mit Silbersalzen und zwar ebenfalls nach meinen Erfahrungen am besten mit Argentamin. Es beruht diese Markscheidendarstellung auf Einführung des Silbers in die Chromverbindung der Markscheiden, ohne dass, wie beim Weigert'schen Verfahren, das Einlegen der Stücke in eine Kupfersalzlösung nöthig wäre. Für die Differenzirung ziehe ich die Palsche Lösung vor. Im einzelnen wird bei dieser Methode der Markscheidendarstellung nun folgendermassen vorgegangen:

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit oder anderen Chromsalzlösungen.

2. Nachhärtung in Alkohol ohne Anwendung von Wasser.
3. Celloidineinbettung.
4. Einlegen der Schnitte auf 24 Stunden in Müller'sche Flüssigkeit.
5. Uebertragung der Schnitte auf 10 Minuten in eine 1—2 % Lösung der in den Handel als Argentamin kommenden Flüssigkeit.
6. Abspülen in Wasser.
7. Reduction in etwa 10 % Pyrogallollösung, bis die Schnitte ganz schwarz werden; es geschieht dies in einer bis zwei Minuten.
8. Abspülen in Wasser.
9. Differenzirung nach Pal etc. in der üblichen Weise.

Man erhält auf diese Weise Bilder, die denjenigen Präparaten, die nach Weigert oder einer der üblichen Modificationen der Weigert'schen Methode erhalten werden, nicht nachstehen. Sie unterscheiden sich von ihr eigentlich nur durch die Farbe. Die Markscheiden erscheinen braunschwarz, sie heben sich von der Umgebung scharf ab und lassen sich bis in ihre feinsten Vertheilungen verfolgen; die Nervenzellen werden citronengelb, mindestens ebenso deutlich wie bei der Weigert'schen Methode.

Es mag noch nebenbei bemerkt werden, dass die eben geschilderte Methode der Markscheidendarstellung nicht als eine Modification der Weigert'schen Methode gelten kann. Denn während es sich bei Weigert und den andern im Anschluss an Weigert angewandten Methoden stets um eine Hämatoxylinfärbung handelt, ist hier der Versuch gemacht worden, eine Imprägnation der Markscheiden mit einem Silbersatz anzuwenden.

Da die erhaltenen Resultate denen gleichen, die nach Anwendung des Weigert'schen Verfahrens erhalten werden, ebenso sicher sind wie diese, das Verfahren ferner noch etwas kürzer ist, als das Weigert'sche, so dürfte es sich empfehlen, neben dem älteren, allseitig anerkannten und gerühmten Verfahren die Silberimprägnation der Markscheiden ebenfalls anzuwenden. Uebrigens sind die Präparate, die ich nun bald 1½ Jahre habe, durchaus haltbar. Es gilt dies auch von den anderen Präparaten, in denen es sich um Darstellung der Nervenzellen handelt: nur haben in einigen Präparaten im Laufe der Zeit die Axencylinder eine mehr röth-

lich-gelbliche Färbung angenommen, ein Umstand, der den Gesamteindruck des Bildes natürlich in keiner Weise stört und die Nervenzellen speciell nicht angeht.

Auch bei der Imprägnation der Markscheide mit Metallsalzen habe ich versucht, an Stelle der Silber- andere Salzlösungen einzuführen. Es gelang, in einigen Fällen mit Goldsalzlösungen einigermaßen befriedigende Resultate zu erzielen; hierbei nahmen die Markscheiden dunkelblaue Färbung an. Da indessen das Resultat kein konstantes war, ausserdem häufig nur die gröberen Markscheiden zur Darstellung kamen, während die feineren ausfielen, so habe ich die Versuche nach dieser Richtung hin aufgegeben und kann auch eine Goldimprägnation der Markscheiden nicht empfehlen. Dasselbe gilt sowohl in Bezug auf die Resultate wie auf ihre Verwendbarkeit von der Imprägnation der geschromten Schnitte mit Osmiumsäure und ihre nachherigen Differenzirung mit dem hochconcentrirten Hydrogenium peroxydatum (Merck), das übrigens als gutes Differenzierungsmittel zu empfehlen ist; nur muss es häufig verdünnt werden, wirkt aber auch dann schneller und intensiver als die bisher in den Handel gekommenen Wasserstoffsuperoxyde. —

Um Missverständnissen zu begegnen, sei bemerkt, dass die Werthschätzung meiner eigenen wenig erfolgreichen Versuche mit Osmiumsäure, die nur als Fortsetzung analoger, positiv ausgefallener Versuche mit Argentamin dienten, natürlich nicht die älteren Robertson'schen und Heller'schen Versuche mit Osmiumsäure betreffen.

Endlich möge noch die Anwendung der von mir angewandten Verfahren auch für pathologische Zwecke empfohlen werden. Es gaben beide Verfahren auch bei der Prüfung pathologischer Objekte gute Resultate, sowohl bei der Untersuchung der Medulla spinalis von Tabikern, wie bei experimentellen Untersuchungen, die ich gemeinsam mit Tautz über die Wirkung des Berberins u. A. auch in Bezug auf das Centralnervensystem angestellt habe. (conf. Zeitschrift für klin. Med. 43. Bd.) —

Zum Schluss dieser Arbeit ergebenen Dank Herrn Geheimrath Hertwig für die Erlaubniss, in seinem Institute zu arbeiten, und ihm wie Herrn Privatdocent Dr. Krause für das liebenswürdige Interesse, das sie der Arbeit entgegengebracht haben.