

Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien und Reptilien.

Von

A. S. Dogiel,

Professor der Histologie an der Universität zu Tomsk.

Hierzu Tafel XVI.

Im Verlaufe eines langen Zeitraumes, bis zu den interessanten Beobachtungen Ehrlich's „Ueber die Methylenblaureaction der lebenden Nervensubstanz“¹⁾, mussten wir, um die Nervenendigungen in den quergestreiften Muskeln klarzulegen, uns fast nur mit der Vergoldungsmethode begnügen. Abgesehen davon, dass diese letztere Methode, einerlei ob wir sie in ihrer ursprünglichen, von Cohnheim vorgeschlagenen Form, oder aber in der von Ranvier, Löwit oder Bremer angegebenen Modification anwenden, durchaus nicht immer zufriedenstellende Resultate liefert und ausserdem eine gewisse Uebung in der Technik verlangt, so ist dieselbe auch in vielen anderen Beziehungen ungenügend.

Bei der Bearbeitung der Muskeln mit Gold werden nicht nur die Endverzweigungen der Nervenapparate in denselben, sondern ausserdem, wenn auch gewöhnlich in bedeutend schwächerem Grade, die Contractilsubstanz und das Sarkoplasma gefärbt, welche nicht selten eine fast ebenso intensive Färbung annehmen, wie die Achsencylinder der Nervenfasern. Letzterer Umstand ist, aller Wahrscheinlichkeit nach, auch die Ursache gewesen, weshalb einige Forscher, wie Gerlach, Bremer und andere, sich zu Gunsten der Ansicht ausgesprochen haben, dass die Endnervenfäden, die durch Theilung des Achsencylinders entstanden sind, zwischen die contractilen Elemente der Muskelfasern eindringen und in unmittel-

1) Deutsche Medicinische Wochenschrift, Nr. 4. 1886.

barer Beziehung zu dem Sarkoplasma stehen, indem sie den von Gerlach sogenannten „intravaginalen Nervenplexus“ bilden.

Ausserdem wird durch Gold oftmals auch die fein granulirte Substanz der motorischen Nervenendplatten (in den Muskeln der Reptilien und Säugethiere) gefärbt, was die Erforschung der eigentlichen Nervenenden bedeutend erschwert. Dank der Ehrlich'schen Methode haben wir die Möglichkeit erhalten schon beim lebenden Thiere ausschliesslich nur den Nervenendapparat zu tingiren und somit einerseits die Mängel, welche mit der Vergoldungsmethode verbunden waren, zu umgehen, anderseits einige Data zu bestätigen, die bereits durch die oben genannte Vergoldungsmethode gewonnen waren.

Ehrlich führte zum Zwecke der Tinktion der Nervenenden der quergestreiften Muskeln die Methylenblaulösung direct in das Blut des Thieres (Frosches, Kaninchens) ein, wobei es ihm hierbei gelang, die Enden der motorischen Nerven nur in bestimmten Muskeln (des Auges, Diaphragmas, der Kehle) zu färben. Die Beobachtungen von A. Smirnoff und Prof. Arnstein haben aber bewiesen, dass beim Frosche man mit Methylenblau die motorischen Nervenenden in fast allen Muskeln — Sartorius, Bauchmuskeln etc. — tingiren kann. G. Cuccati färbte die Muskelnerven des Frosches (*Rana temporaria* und *esculenta*) und des Tritons (*Triton cristatus*) ebenfalls nach der Ehrlich'schen Methode, wobei er bei dem ersten 4, bei dem zweiten 5 verschiedene Typen der motorischen Nervenendigungen unterscheidet.

Eine Tinktion der Nerven mittelst Methylenblau, nicht allein in den Muskeln, sondern auch in anderen Organen und Geweben kann, wie zuerst meine und Prof. Arnstein's Untersuchungen gezeigt haben, auch auf eine andere und einfachere Weise erhalten werden, als nach der Methode von Ehrlich, und zwar: durch einfache Injektion einer 4% Methylenblaulösung¹⁾ in die Blutgefässe derjenigen Organe und Gewebe, in welchen wir die Nerven-elemente zu tingiren wünschen. Die Injektion wird an dem eben erst getödteten Thiere vorgenommen. Gewöhnlich wird nach der Injektion das Gewebe oder das betreffende Organ auf einige Zeit in dem Körper des Thieres gelassen, solange nämlich, bis die Tinktion der Nerven eingetreten ist, oder aber, es wird das Gewebe

1) Methylenblau löst man in einer physiologischen Kochsalzlösung.

(wenn es genügend dünn ist) sogleich auf ein Objektglas in einige Tropfen humor aqueus oder der Flüssigkeit des Glaskörpers übertragen, in welcher dann die Färbung der Nerven vor sich geht.

Im ersteren Falle muss das Gewebe, dessen Nerven wir zu untersuchen wünschen, in, nach Möglichkeit, nahe Berührung mit dem Sauerstoff der Luft kommen, zu welchem Zwecke es frei gelegt wird, die Höhlungen, die dieses oder jenes Organ einschliessen, müssen geöffnet werden, wobei nach Verlauf von einigen Minuten, manchmal auch erst nach Stunden, die Tinktion der Nerven eintritt. Im zweiten Falle sind wir nicht allein im Stande das injicirte Organ in äusserst nahe Berührung mit der Luft zu bringen, sondern wir haben auch die Möglichkeit, unter dem Mikroskope Schritt für Schritt den ersten Eintritt der Färbung der Nerven zu verfolgen und genau die Zeit zu bestimmen, wann die Tinktion als beendet anzusehen ist und wann dieselbe fixirt werden muss.

Meistentheils erscheint gleich nach der Injektion das Gewebe völlig farblos, nur die Gefässe erweisen sich mehr oder weniger mit Methylenblau gefüllt, bald jedoch, oft nach Verlauf von wenigen Minuten, fängt die blaue Färbung der Gefässe zu verblassen an, während als Ersatz hierfür in dem Gewebe die Tinktion der Nervelemente hervorzutreten beginnt. Zu allererst, soviel ich beobachten konnte, färben sich die Nervenfibrillen, die Nervenendapparate, die Nervenzellen-Fortsätze und die Zellen selbst, darauf die nackten Achsencylinder und die marklosen Nervenfasern, die Ranvier'schen Kreuze und die Theilungsstellen der markhaltigen Fasern; am schwierigsten nehmen die Achsencylinder der markhaltigen Nervenfasern die Färbung an, was höchst wahrscheinlich durch die Markscheide bedingt wird, welche den Zutritt des Methylenblaus zu den Achsencylindern erschwert.

Anfänglich ist die Tinktion der Nervelemente gewöhnlich äusserst schwach, darnach wird dieselbe allmählich immer deutlicher, zuletzt aber, nach Verlauf einiger Zeit, wird die Farbe aufs neue blasser und verschwindet zuguterletzt gänzlich. Die entschwundene Färbung kann man übrigens aufs neue wieder hervorrufen (wenn nämlich das zu untersuchende Gewebe noch lebt) indem man zu der Flüssigkeit, in welcher das Präparat eingesenkt ist, etliche Tropfen einer $\frac{1}{15}$ — $\frac{1}{16}$ % Methylenblaulösung hinzufügt.

Wenn man die Nerven mit Methylenblau tingirt und die

hierbei resultirende Färbung zu fixiren wünscht, so ist es von grosser Wichtigkeit den richtigen Zeitpunkt zu erfassen, wann die Nerven am intensivsten tingirt erscheinen, was bei einem gewissen Grade von Gewöhnung leicht gelingt, da wir ja die Möglichkeit besitzen, fortwährend unter dem Mikroskop den Gang der Tinktion zu verfolgen. Mit Hülfe dieser Methode ist es mir nun gelungen, eine ausgezeichnete Färbung der Nervelemente in der Netzhaut der Fische, Amphibien, Reptilien, Vögel und Säugethiere, der Nervenenden in den glatten und quergestreiften Muskeln der Amphibien und Reptilien zu erhalten. Professor Arnstein erhielt so die Tinktion der Nerven der Hornhaut, der Iris, der Schweissdrüsen und der Pacini'schen Körperchen. In neuerer Zeit hat Lawdowsky, indem er die obenbeschriebene Methode anwandte, die Tinktion der Nerven in den glatten und quergestreiften Muskeln des Frosches, der Haut, der Zunge, der Speiseröhre etc. erhalten. Doch kann die oben erwähnte Methode der Methylenblau-tinktion, wie meine Beobachtungen gezeigt haben, noch weiter vereinfacht und durch eine bedeutend weniger complicirte ersetzt werden, welche sogar sehr gut in praktischen Cursen der Histologie zur Demonstration der Nerven in gewissen Organen und Geweben Verwendung finden kann. Die Tinktion der Nervelemente nach besagter Methode wird in folgender Weise ausgeführt: von dem lebenden oder eben erst getödteten Thiere wird dieses oder jenes Gewebe genommen, auf das Objektgläschen oder ein Uhrglas in einige Tropfen humor aqueus oder der Flüssigkeit des Glaskörpers gethan, zu welcher 2—3 Tropfen einer $\frac{1}{15}$ — $\frac{1}{16}$ % Methylenblaulösung in einer physiologischen Kochsalzlösung hinzugefügt werden. Das Präparat wird nun der unmittelbaren Lufteinwirkung ausgesetzt und nur, um es vor dem Verstauben zu bewahren, mit einem grossen Uhrglase überdeckt, wobei man von Zeit zu Zeit das Präparat unter einem Mikroskope mit schwacher Vergrösserung untersucht.

Gewöhnlich beginnt bereits nach 5—10 Minuten in dem untersuchten Gewebe die Tinktion der Nervelemente; anfänglich ist die Färbung recht schwach, verstärkt sich aber darauf, bis zuletzt, nach Verlauf einer gewissen Zeit, die vollständige Tinktion fast aller Nervelemente (der Nervennetze, der Nervenendapparate, der Nervenzellen etc.), welche in dem betreffende Gewebe eingelagert sind, eintritt.

Die Schnelligkeit, mit welcher die Tinktion der Nerven eintritt, hängt von der Dicke des Gewebes und von der Art der Vertheilung der Nervelemente in demselben ab, ob sie nämlich in einer oder in mehreren Schichten vertheilt sind u. s. w. In der Netzhaut sind zur Tinktion der Nerven der verschiedenen Schichten dieser Haut eine, zwei, drei Stunden, oftmals auch noch mehr Zeit nöthig. Die Enden der motorischen Nerven färben sich schon nach Verlauf von 5–10 Minuten. Auf die Schnelligkeit des Eintretens der Färbung hat auch der Umstand einen Einfluss, ob man das Gewebe eines kaltblütigen oder warmblütigen Thieres untersucht: bei den ersteren färben sich die Nerven langsamer, als bei den letzteren.

Was die Frage betrifft, in welchen Theilen die Tinktion der Nervelemente früher eintritt, so beobachtet man hier dasselbe, was auch bei der Färbung durch Injektion der Blutgefässe mit Methylenblau beobachtet worden ist und zwar: die Nervennetze, die Nervenendapparate, die multipolaren Nervenzellen u. s. w. werden bedeutend früher, als die Achsencylinder der markhaltigen Nervenfasern gefärbt.

In der Netzhaut färben sich, wenn man dieselbe auf das Objektglas mit der Nervenfasernschicht nach oben (zum Beobachter gewandt) legt, zuerst die Achsencylinder der Nervenfasern, darauf die Ganglienzellen mit ihren Fortsätzen, dann die Nervennetze, welche durch die inneren Fortsätze der bipolaren Zellen gebildet werden, worauf die Tinktion der inneren Fortsätze selbst, der Spongioblastenzellen und deren Fortsätze etc. etc. erfolgt. Im Falle, dass die Färbung der Nerven sehr lange Zeit beansprucht (mehrere Stunden), so muss man zu dem Präparate, um das Austrocknen desselben zu verhindern, von Zeit zu Zeit abwechselnd bald 2–3 Tropfen der Flüssigkeit des Glaskörpers, bald einen Tropfen Methylenblau hinzufügen.

Indem ich diese eben beschriebene Methode anwandte, habe ich eine sehr vollständige Tinktion der Nervelemente der Netzhaut (bei Fischen, Amphibien, Reptilien, Vögeln, Säugethieren und Menschen) erhalten, ebenso der Hornhaut (bei Menschen), der Choroidea (bei weissen Ratten und Vögeln), der Iris (bei weissen Ratten), der Harnblase (bei Amphibien und Reptilien) und der motorischen Nervenenden in den quergestreiften Muskeln der Amphibien und Reptilien. Professor Arnstein färbte, indem

er dieselbe Methode anwandte, die Nerven der Hornhaut, der Iris, der Wandung von *Cysterna lymph. magna* und den Brusthaut-muskel des Frosches.

Bei den Knorpelfischen (Ganoiden) kann man die Tinktion der Nervenelemente der Netzhaut sogar 24 Stunden nach dem Tode des Thieres erhalten; in den vorher von dem Körper des Thieres getrennten Extremitäten des Frosches färben sich die Endnervenapparate der quergestreiften Muskeln sehr intensiv noch nach Verlauf von 2—3 und sogar 7—8 Tagen. Aller Wahrscheinlichkeit nach werden wir durch die Bestimmung, wie lange nach dem Tode des Thieres die Nervenelemente in den verschiedenen Geweben das Vermögen durch Methylenblau tingirt zu werden bewahren, die Möglichkeit erhalten, zugleich auch genau die Zeit zu bestimmen, wann erstere ihre Lebensthätigkeit verlieren — absterben.

Die Tinktion der Nerven erhält sich, wie Ehrlich gezeigt hat, gewöhnlich nur eine verhältnissmässig kurze Zeit (von einigen Minuten bis zu etlichen Stunden), worauf sie sich entfärben und das ganze Gewebe eine diffuse Färbung erhält; die Entfärbung tritt besonders schnell dann auf, wenn man den Zutritt der Luft zu dem Präparate verhindert, indem man zum Beispiel das Präparat mit einem Deckgläschen bedeckt.

Zur Vermeidung dieses eben bezeichneten grossen Uebelstandes, der die Erforschung der Gewebe mit Hülfe starkvergrössernder Objektive verhindert, ist es nothwendig, die gewonnene Tinktion zu fixiren.

A. Smirnoff wandte als Fixirmittel eine gesättigte wässerige Lösung von Jod in Jodkalium an, ebenso auch Pikrokarmín. Nach meinen Beobachtungen wird das Fixiren der Färbung der Nerven bedeutend bequemer durch eine gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium bewerkstelligt, welches letztere das Methylenblau in Form eines feinkörnigen violetten Niederschlages fällt und ausserdem noch das Gewebe stark durchsichtig macht, wodurch wir die Möglichkeit erlangen, recht dicke Häutchen und Gewebestückchen in toto zu untersuchen. Diese Fähigkeit des pikrinsauren Ammoniaks, die Gewebe durchsichtig zu machen, benützend, habe ich, ohne zu Durchschnitten zu greifen, die Nervenelemente in allen Schichten der Netzhaut erforschen können, in

so hohem Grade wurde die letztere durchsichtig. Ausserdem lockert das Pikrinsalz auch noch das Gewebe, so dass man, wenn es erforderlich ist, sehr leicht dasselbe in kleine Stückchen zer-zupfen kann.

Das Fixiren wird von mir direkt auf dem Objektglas ausgeführt (wenn das Gewebe auf demselben tingirt worden war) oder aber es wird das Stückchen Gewebe in ein Uhrgläschen gebracht, in welchem sich etliche Kubikcentimeter einer Pikrinammoniaklösung befinden; im ersteren Falle wird gewöhnlich das Methylenblau recht vorsichtig mit Fliesspapier entfernt und durch einige Tropfen von pikrinsaurer Ammoniaklösung ersetzt.

Grösstentheils ist, um die Tinktion der Nervelemente zu fixiren, es genügend, wenn man mit dem pikrinsauren Ammoniak im Verlaufe von 20—30 Minuten auf das Gewebe einwirkt; in einigen Fällen, in welchen das zu untersuchende Gewebe recht dick ist; wird eine länger dauernde Einwirkung der Pikrinammoniaklösung erfordert (von 2—12 Stunden).

Ueberhaupt muss während der Bearbeitung des Gewebes mit Pikrinsalz sorgfältig darauf gesehen werden, dass die ursprüngliche blaue Färbung der Nervelemente in eine violette übergehe, ohne die geringsten Spuren einer grünen Schattirung, da im entgegengesetzten Falle das Präparat rasch sich entfärben kann. Das fixirte Präparat wird dann in mit Wasser verdünntes Glycerin (Glycerini, Aq. destill. āā) eingeschlossen, in welchem es, ohne jegliche Veränderung in der Färbung, im Verlaufe vieler Monate verbleiben kann.

Das Erhärten der mit Methylenblau tingirten Präparate führte ich in einer gesättigten spirituösen Lösung von Pikrinammoniak aus, in welcher ich das Gewebe 2—3 Stunden stehen liess, dann zwischen Hollundermark oder Leber schloss und die Schnitte mit einem Rasirmesser, welches zuvor mit derselben Pikrinammoniaklösung benetzt worden war, fertigte; die Schnitte trug ich darauf in Glycerin über. Noch bequemer ist es, das mit Methylenblau gefärbte Gewebe gefrieren zu lassen, aus demselben dann die Schnitte anzufertigen, dieselben nach besprochener Methode zu fixiren und zuletzt in Glycerin einzuschliessen; gewöhnlich verschwindet die Färbung der Nervelemente bei dem Gefrieren nicht.

Mit Hülfe der eben beschriebenen Methode habe ich die Nervenenden im Brusthautmuskel (bei Fröschen), in den verschied-

denen Muskeln der vorderen und hinteren Extremitäten und in den Brust- und Rückenmuskeln von Fröschen und Eidechsen gefärbt. Der eine oder andere der Muskeln wurde zur Färbung der in ihnen enthaltenden Nerven auf einem Objektglas in einen Tropfen der Flüssigkeit des Glaskörpers eines Frosches oder eines anderen Thieres gebracht, dann sorgfältig auseinandergebreitet oder zerzupft und darauf in obengenannter Weise tingirt; gewöhnlich muss die Fläche des genommenen Muskels (wenn derselbe vorher nicht zerfasert worden), auf welcher das dieselbe mit seinen Verzweigungen versorgende Nerverstämmchen liegt, zum sichereren Erfolge der Färbung, nach oben gerichtet sein. Bereits nach 5—10 Minuten von Anfang der Färbung kann man bemerken, dass stellenweise auf einigen Muskelfasern eine schwache Tinktion der Endnervenapparate entsteht, während die markhaltigen Nervenfasern noch völlig farblos bleiben. Allmählich verstärkt sich die Färbung der Nervenendigungen immer mehr, wobei zugleich auch die mit ihnen verbundenen Achsencylinder sich zu tingiren anfangen. Nach Verlauf von vielleicht 20 Minuten erlangen gewöhnlich fast alle Nervenenden des betreffenden Muskels eine intensiv-blaue Farbe. Was die Achsencylinder der zugehörigen markhaltigen Nervenfasern anbelangt, so sind dieselben nur stellenweise auf eine längere Strecke gefärbt; in den meisten Fällen ist eine intensive Tinktion nur an der Stelle ihrer Theilung und in den Ranvier'schen Einschnürungen zu beobachten.

Sobald bemerkt wurde, dass die Nervenenden genügend tingirt waren, wurde der Muskel auf eine $\frac{1}{2}$ Stunde in eine Lösung von pikrinsaurem Ammoniak übergeführt oder aber die Färbung wurde auf dem Objektglas selbst fixirt und das Präparat in Glycerin eingeschlossen; zur Tinktion der Kerne kann man beiläufig den Muskel in eine Lösung von Pikrokarmmin bringen.

Beim **Frosche** (*Rana temporaria*) beobachten wir in dem Brusthaut- ebenso auch in den anderen Muskeln, deren Nerven durch Methylenblau tingirt wurden, in dem Nervenstämmchen, welches den betreffenden Muskel innervirt, eine grosse Menge markhaltiger Fasern, deren Achsencylinder an den Ranvier'schen Einschnürungen sich in 2—3 und 4 Zweige theilen; die letzteren umgeben sich bald mit einer Markscheide, wobei etliche von ihnen sogleich, andere aber, nachdem sie vorher eine gewisse Strecke in dem Nervenstämmchen zurückgelegt haben, sich von

letzterem abzweigen und unter verschiedenen Winkeln zur Seite treten. Diese Fasern theilen sich ihrerseits wiederum in 2—3 kurze Fasern, von welchen jede dann in den Endnervenapparat übergeht oder auf's neue sich in mehrere kurze Fasern theilen kann. Gewöhnlich haben die beschriebenen kurzen Nervenfasern auf ihrem Wege einige Ranvier'sche Einschnürungen, an welchen Punkten die Achsencylinder feine marklose Nerven Zweige abgeben, welche letztere die ihnen zunächst liegenden Muskelfasern mit den Endnervenapparaten versorgen.

Eine Muskelfaser erhält, so viel ich beobachten konnte, einen, zwei oder mehrere motorische Nervenendapparate. In den Bestand eines jeden solchen Nervenendapparates können nun ihrerseits ein oder mehrere ungetheilte oder aber sich theilende End-Nervenzweige treten.

Im ersten Falle tritt die markhaltige Nervenfaser an irgend eine Stelle der Muskelfaser heran, verliert in dem Sarkolemma ihre Schwann'sche und Henle'sche Scheide, die Marksubstanz aber sammt dem Achsencylinder tritt unter das Sarkolemma, wobei die erstere bald verschwindet, der entblösste Achsencylinder aber zieht sich, indem er sich an die Muskelsubstanz legt, längs der Muskelfaser in Form eines mehr oder weniger stark gebogenen varicösen Fädchens hin, welches nicht selten mit einer grossen varicösen Verdickung endigt (Fig. 3). Die Endnervenzweige haben oft eine recht bedeutende Dicke, wobei von denselben, nach der einen oder der anderen Seite, kurze Fortsätze sich abzweigen, so dass der Nervenzweig gezähnt erscheint; jedes Zähnchen kann seinerseits wiederum von sich noch weitere kürzere Seitensprossen abgeben, so dass auf diese Weise der Endnervenzweig eine besondere charakteristische Gestalt erhält. In einigen Fällen zerfällt der Achsencylinder in 2—3 sich nicht weiter theilende Endästchen, welche in einer Richtung längs der Muskelfaser laufen, oder sie gehen in verschiedenen Richtungen auseinander (Fig. 1).

Was den Fall anbelangt, in welchem der Nervenapparat aus sich theilenden Endästchen besteht, so beobachten wir, dass der Achsencylinder der Nervenfaser, welcher die Schwann'sche und die Markhülle verloren hat, in einen dicken oder dünnen gezähnten Endzweig übergeht, von welchem nach der einen und der anderen Seite dünne Fädchen sich abzweigen, die oft mit einer

grossen Verdickung endigen (Fig. 7 d); oftmals können sich von den bezeichneten Fädchen noch weitere ganz kurze, an den Enden verdickte Fädchen abzweigen.

Ausserdem sehen wir nicht selten, dass der Achsencylinder der Nervenfasern, welche unter dem Sarkolemma ihre Markscheide verloren hatte, anfänglich in 2—3—4 dünne Zweige zerfällt, die entweder nur nach einer Seite, oder aber nach verschiedenen Seiten gerichtet sind (Fig. 2 b; Fig. 3 c; Fig. 4 c; Fig. 5 c und d), darauf sich sehr bald stark verdicken, gezähnt werden und, indem sie eng sich an die Substanz der Muskelfaser anlegen, längs derselben hinziehen. Auf diesem Wege gehen von ihnen lange Secundärzweige aus, die den Charakter des Hauptendzweiges bewahren, sich auf verschiedene Weise hin und her biegen und auch ihrerseits verzweigen (Fig. 2, 3, 4 und 5). Auf diese Art resultirt ein ganzes System von secundären und tertiären Endnervenzweigen, deren Enden abgestumpft, verdickt oder zugespitzt erscheinen. Es giebt Fälle, in welchen der Achsencylinder der Nervenfasern, welche die Marksubstanz schon vor ihrem Eintritt unter das Sarkolemma verloren, in mehrere Endästchen zerfällt, von welchen eines auf eine unbedeutende Strecke hin sich auf's neue mit einer Markhülle umgiebt (Fig. 3 e).

In den Muskeln der Extremitäten werden viele Muskelfasern mit Nervenapparaten versorgt, die sich, wie dieses Fig. 6 zeigt, in ihrer Form fast durch nichts von den motorischen Endplatten in den Muskeln der Reptilien, Vögel und Säugethiere unterscheiden; der ganze Unterschied liegt nur in der Abwesenheit derjenigen, granulirte Kerne enthaltenden Substanz, in welcher der Endnervenapparat bei den obengenannten Thieren eingelagert ist. Anastomosen unter den einzelnen Endzweigen finden sich gewöhnlich selten, dennoch kann man unter den Muskelfasern eines und desselben Muskels solche finden, deren Endnervenapparate aus einem Netze von dünnen anastomosirenden Nervenzweigen bestehen. Bei vollständig gelungenen und reinen Methylenblautinktionen ist es mir nicht gelungen, zwischen den gefärbten Endnervenapparaten und den ungefärbten Muskelfasern irgend einen anderen Zusammenhang zu constatiren, als den des einfachen Anlagerns. Die Beziehung zwischen der Muskelfaser und den in derselben endenden Nerven tritt besonders klar in den Fällen zu Tage, in welchen der Endnervenapparat im Profil zu liegen kommt; dann ist ganz

deutlich zu sehen, dass die Endzweige zwischen dem Sarkolemma und der Substanz der Muskelfaser liegen ohne in die Tiefe derselben zu dringen. Nicht selten zerreisst die Muskelfasersubstanz genau an der Stelle, an welcher der Endnervenapparat an dieselbe sich anlegt; der letztere verbleibt gewöhnlich im Zusammenhang mit dem Sarkolemma, während die Muskelsubstanz sich sowohl nach dem einen, als auch nach dem anderen Ende der Muskelfaser hinzieht. In solchen Fällen ist der violett gefärbte Endnervenapparat ausnehmend gut in dem Sarkolemmrohre zu sehen. Wenn die Färbung der Muskeln allzulange dauert oder die Muskelfasern einer fettigen Degeneration unterworfen worden waren, so tingiren sich bei diesen Bedingungen nicht allein die Nervenenden, sondern auch das Sarkoplasma und, wie es schon Professor Arnstein beobachtet hat, die in Reihen liegenden Fettkörnchen, wobei ein Bild erhalten wird, das an den intravaginalen Nervenplexus von Gerlach erinnert. Bei einer gehörig gelungenen Tinktion normaler Muskelfasern ist nichts derartiges zu bemerken.

Jede Muskelfaser besitzt, wie ich schon oben erwähnt habe, einen, zwei oder drei motorische Nervenapparate (Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7), wobei, wenn dieselbe nur durch einen motorischen Nervenendapparat versorgt wird, der letztere am häufigsten eine zusammengesetzte Form annimmt und, wie dieses in Fig. 2 zu sehen ist, aus etlichen nach verschiedenen Richtungen laufenden und sich verzweigenden Endästchen besteht. In den Fällen, in welchen die Muskelfaser einige, 2 bis 3 motorische Nervenendapparate erhält, hat der eine von ihnen eine zusammengesetzte, die übrigen eine mehr einfache Form (Fig. 3 u. 4).

An der Bildung mehrerer Nervenendapparate, welche zu einer Muskelfaser gehören, nimmt gewöhnlich nur eine Nervenfasern Theil, die vorerst in 2—3 markhaltige, in oben beschriebener Weise endende, Zweige sich theilt (Fig. 2, 4 und 5). Manchmal verliert einer von diesen Zweigen, noch bevor er unter das Sarkolemma tritt, seine Marksubstanz (Fig. 7 c), oder besitzt sogar letztere nicht mehr auf seinem ganzen weiteren Verlaufe, bis zu dem Uebergange in den Endapparat (Fig. 7 d).

Muskelfasern, die durch mehrere motorische, mit einer Nervenfasern verbundene Nervenendapparate versorgt werden, finden sich, so viel ich beobachten konnte, fast in allen Muskeln des Frosches in ziemlich bedeutender Anzahl. Doch trifft man

ausserdem nicht selten auch solche Muskelfasern, welche 2—3 Nervenenden nicht von einer, sondern von 2—3 verschiedenen markhaltigen Nervenfasern erhalten (Fig. 7 b und c). Was die Kerne anbelangt, so bleiben, wie schon ganz richtig Prof. Arnstein bemerkt hat, dieselben ungefärbt; die Tinktion derselben tritt nur dann auf, wenn in dem Präparate auch die übrigen, nicht zu den Nerven gehörigen Gebilde tingirt werden, wie zum Beispiel die Muskelkerne des Bindegewebes etc. etc.

Die Beziehung der Nerven zu den Muskelspindeln (Kühne) oder den Muskelknospen (Kölliker). In dem Brusthautmuskel des Frosches treten, nach der Tinktion mit Methylenblau, die Muskelspindeln gewöhnlich sehr deutlich in Form von spindelförmigen, nicht selten mehr oder weniger gebogenen und recht dicken Bildungen auf, auf deren Oberfläche, sogar bei schwacher Vergrösserung, man eine Menge blauer Körnchen von verschiedener Grösse bemerkt, die den benannten Bildungen eine intensive Färbung verleihen. Fast in allen von mir untersuchten Brusthautmuskeln des Frosches habe ich 2—3 und mehr Muskelspindeln gefunden. An jede Muskelspindel tritt eine markhaltige Nervenfaser heran (Fig. 8 a), welche, soviel ich beobachten konnte, sich weiter in ihrem ganzen Verlaufe nicht theilt; nur wenn dieselbe an den dicksten oder verengtesten Theil der Spindel herankommt, zerfällt sie erst in 2—3 Zweige (Fig. 8 b, c und d). Die letzteren, indem sie, ähnlich der Hauptfaser, mit Marksubstanz umgeben sind, ziehen sich in einer gewissen Länge auf der Oberfläche der Muskelspindel hin, oder umwinden dieselbe in Form einer Spirale und verlieren darauf die Schwann'sche Scheide und die Marksubstanz; die erstere verschmilzt gewöhnlich mit der Spindelhülle. Nicht selten zerfällt einer der durch Theilung der Nervenfaser entstandenen Zweige aufs neue in 2—3 kurze, markhaltige Zweiglein, welche, bevor sie ihre Marksubstanz einbüssen, sich bogenförmig auf der Oberfläche der Spindel hinwinden, oftmals in die Tiefe der letzteren tauchen, darauf aufs neue an die Oberfläche derselben treten, oder aber die Spindel verschiedenartig umwinden. Sobald dies oder jenes Nervenfäserchen seine Marksubstanz verloren hat, so zerfällt sogleich der entblösste Achsencylinder desselben, indem er unter die Spindelhülle zu liegen kommt, in etliche dünne Aestchen (Fig. 8, b, c, und d); die letzteren verlaufen nach einer oder nach

verschiedenen Seiten gegen den Spindelrand hin. Nachdem sie eine gewisse Strecke in der beschriebenen Art durchlaufen, theilen sich die bezeichneten Aestchen zu guterletzt in eine Menge von allerfeinsten varicösen Nervenfibrillen, die sich über die Oberfläche der Spindel hinranken (Fig 8).

Die Endnervenfädchen liegen gewöhnlich nahe bei einander, wobei ihre varicösen Verdickungen eine verschiedene, bald bedeutendere, bald geringere Grösse besitzen. Von der Färbung dieser Nervenfädchen und der varicösen Verdickungen hängt die Längsstreifung und das körnige Ansehen der Muskelspindel ab, welches schon bei der Betrachtung des Präparates durch ein schwaches Objectiv zu bemerken ist. In einigen Fällen treten an die Muskelspindeln 2 Nervenfasern heran; doch mag die Spindel eine oder zwei Fasern erhalten — immer sind dieselben ausschliesslich für die gegebene Spindel bestimmt und stehen nicht in irgend welcher Beziehung mit den motorischen Nervenendapparaten der ihnen nächstliegenden Muskelfasern.

Bei den **Reptilien** (*Lacerta agilis* und *viridis*) wird die Tinktion der Nervenendigungen in den Muskeln eben so leicht, wie bei den Amphibien erhalten. Gewöhnlich bereits nach 5—10 Minuten der Methylenblaeinwirkung stellen sich die Nervenenden schon so intensiv tingirt dar, dass das Präparat durch pikrinsaures Ammonium fixirt werden kann.

In Präparaten wie in Fig. 9 sehen wir das den Muskel innervirende Nervenstämmchen, von welchem nach verschiedenen Seiten aus 2—3 oder mehr markhaltigen Fasern bestehende Nervenästchen sich abzweigen. Nach und nach trennen sich die Nervenfasern von den bezeichneten Nervenästchen und, indem sie hierbei sich häufig in verschiedener Art hin und her winden, treten sie zu den Muskelfasern heran, wobei sie unter das Sarkolemma der letzteren gehen.

Die Schwann'schen und Henle'schen Scheiden der Nervenfasern verschmelzen mit dem Sarkolemma, der mit Marksubstanz umgebene Achsencylinder aber tritt in die feinkörnige Substanz (Sohle), verliert bald seine Marksubstanz und zerfällt darauf zu Anfang in einige dünne, intensiv tingirte Aestchen (Fig. 10 und 11). Jedes solcher Aestchen verdickt sich am Grunde der feinkörnigen Scheibe ganz bedeutend, theilt sich in etliche (2—3—4) ähnliche, mehr oder weniger dicke und kurze, häufig stellenweise erweiterte

Aestchen, welche sich verschiedenartig hin und her winden und darauf mit einer Verdickung endigen (Fig. 9, 10 und 11); keinerlei Fortsetzungen derselben in die Tiefe der Muskelsubstanz sind zu beobachten; nur selten werden Anastomosen zwischen den einzelnen Endästchen angetroffen. Gewöhnlich erscheinen die dicken Endästchen ungleichmässig gefärbt: ihr mittlerer Achsentheil erscheint immer bedeutend intensiver als der periphere Theil gefärbt und hat die Gestalt eines dünnen Fadens, welcher leicht bis zur Theilungsstelle des Achsencylinders verfolgt werden kann (Fig. 10 c). Die fein granulierte Substanz der motorischen Endplatten und die in denselben eingelagerten Kerne, ebenso die den motorischen Nervenendästchen angehörenden Kerne werden durch Methylenblau nicht tingirt. Nur in Präparaten, die mit pikrinsaurem Ammonium fixirt und darauf mit Pikrokarmine gefärbt worden sind, treten die obengenannten Kerne und die granulierte Substanz selbst, wie dieses in Fig. 11 zu sehen ist, mehr oder weniger scharf hervor.

Grösstentheils versorgt bei den Reptilien eine Nervenfasern, indem sie sich in 2—3—4 Fasern theilt, eine entsprechende Anzahl Muskelfasern mit motorischen Endapparaten; ähnliche Fälle wie bei den Fröschen, in welchen die Muskelfaser mehrere Nervenendungen von einem oder zwei Nervenfasern erhalten würde, kommen bei den Reptilien sehr selten vor.

Bei der Anwendung der obenbeschriebenen Methode der Methylenblautinktion erhalten wir also die Möglichkeit einerseits, die Beobachtungen, die über die motorischen Nervenendungen mit Hilfe der Vergoldungs- und anderer Methoden erlangt worden sind, zu bestätigen; andererseits vermögen wir äusserst leicht und schnell eine Tinktion der Nervenendungen in den Muskeln von einer Deutlichkeit und Genauigkeit zu erhalten, wie solche nur in Ausnahmefällen durch die besten der bis jetzt bekannten Methoden erzielt worden sind.

Literatur ¹⁾.

- 1) C. Arnstein. Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. Anat. Anzeiger Nr. 5 und 17, 1887.
 - 2) Ramón y Cajal. Terminaciones nerviosas en los husos musculares de la rana. Revista trimestral de Histología Normal y Patológica. Nr. 1. 1888.
 - 3) G. Cuccati. Delle terminazioni nervee nei muscoli addominali della rana temporaria e della rana esculenta. Internation. Monatsschrift für Anatomie und Physiologie, Bd. V, H. 9, 1888.
 - 4) Derselbe. Intorno al modo onde i nervi si distribuiscono e terminano nei pulmoni e nei muscoli addominali del triton cristatus. Diss. Bd. VI, H. 7, 1889.
 - 5) Lawdowsky. Weitere Beobachtungen über die Nervenendigungen auf Grundlage der Methode ihrer Tinktion bei Lebzeiten. Arbeiten der K. Akademie der Wissenschaften. Bd. LXI. Nr. 2, Petersburg 1889 (Russisch).
 - 6) v. Gerlach. Einwirkung des Methylenblau auf die Muskelnerven. Sitzungsber. der math.-physikalischen Klasse der H. K. bair. Akademie der Wissenschaften. Bd. XIX. 1889.
-

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XVI.

Alle Abbildungen sind mit Hülfe der Camera lucida von Präparaten genommen, welche mit Methylenblau nach der im Texte angegebenen Methode tingirt worden waren.

- Fig. 1. a) Muskelfaser; b) Nervenfaser, deren Achsencylinder in zwei Endästchen zerfällt. Frosch. Obj. 8 a Reichert.
- Fig. 2. Motorischer Nervenapparat, bestehend aus mehreren sich theilenden Endästchen; a) Muskelfaser; b) der in Endästchen zerfallende Achsencylinder der Nervenfaser. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 3. Muskelfaser (a), welche zwei motorische Nervenapparate erhält, einen einfachen, bestehend aus einem sich nicht theilenden Endnervenästchen und einem complicirten, der aus zwei sich theilenden Äestchen besteht; b) markhaltige Nervenfaser, welche sich an der Stelle der Ranvier'schen Einschnürung in zwei Fasern c und d theilt, der Achsencylinder der ersteren (c) geht in einen complicirten, der der zweiten (d) in einen einfachen motorischen Apparat über; e) Marksubstanz. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 4. Muskelfaser (a) mit zwei Endnervenapparaten; b) markhaltige Nervenfaser, welche sich in zwei Fasern c und f theilt; die erstere
-

1) Ich citire nur die Arbeiten derjenigen Autoren, welche die motorischen Nervenendigungen in den quergestreiften Muskeln mit Hülfe von Methylenblau untersucht haben.

theilt sich auf's neue in drei Aestchen *d*, *e* und *g*, wobei das Aestchen *e* in einen complicirten, das Aestchen *d* in einen einfacheren motorischen Apparat übergeht. Frosch. Obj. 8 a Reich.

- Fig. 5. Muskelfaser (a), zwei zusammengesetzte motorische Nervenapparate erhaltend. b) der in zwei Aestchen *c* und *d* sich theilende Achsencylinder der Nervenfaser; das Aestchen *c* zerfällt in vier, das Aestchen *d* aber in drei sich theilende varicöse Endästchen. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 6. Muskelfaser (a), deren motorischer Nervenapparat seiner Form nach den motorischen Nervenplatten der Reptilien gleicht. b) markhaltige Nervenfaser. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 7. Muskelfaser (a), die drei motorische Nervenapparate erkält. b) markhaltige Nervenfaser, deren Achsencylinder an der Ranvier'schen Einschnürung ein markloses Aestchen *d* abgiebt, welches letztere in den motorischen Apparat übergeht; die Faser *b* selbst endigt, nachdem sie eine kurze Strecke durchlaufen, in einen motorischen Apparat. c) markhaltige Nervenfaser, deren Achsencylinder, nachdem er seine Marksubstanz verloren, in einer bedeutenden Entfernung von der Muskelfaser in den motorischen Endapparat übergeht. e) Kerne der Endästchen. Das Präparat ist mit Pikrokarmine gefärbt. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 8. Muskelspindel, an welche eine markhaltige Nervenfaser *a* herantritt; die letztere zerfällt in drei Aeste *b*, *c* und *d*; die Aeste *c* und *d* theilen sich auf's neue in mehrere dünnere Aestchen, welche zu guter letzt in Nervenfibrillen zerfallen. Der Ast *b* erscheint wie eine Fortsetzung der Nervenfaser *a*, umgiebt sich mit Marksubstanz und theilt sich darauf in drei Aestchen *e*, *f* und *g*, von welchen jedes in Fibrillen zerfällt. Frosch. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 9. Einer der Muskeln aus den unteren Extremitäten der Eidechse. a) Muskelfasern; b) ein Nervenstämmchen, das allmählich in die aus einigen markhaltigen Fasern *d* bestehenden Nervenästchen *c* zerfällt; die markhaltigen Fasern *d* endigen in der motorischen Nervenplatte *e*. *Lacerta agilis*. Obj. 4. Reich.
- Fig. 10. Die Nervenfaser (a) theilt sich in drei Aestchen; der Achsencylinder des Aestchens *b* geht in den motorischen Nervenapparat über. Der Achsentheil (c) der dicken Endästchen ist intensiver als der periphere Theil gefärbt. *Lacerta agilis*. Obj. 8 a Reich.
- Fig. 11. a) Muskelfaser; b) Nervenfaser, die durch c) in eine motorische Nervenplatte endigt, welche letztere etwas im Profil dargestellt ist; d) feinkörnige Substanz der motorischen Nervenplatte mit den Kernen. Das Präparat ist nach dem Tingiren mit Methylenblau, durch Pikrokarmine gefärbt. *Lacerta agilis*. Obj. 8 a Reich.