

Aus dem physiologischen Institut Strassburg i. E.

## Endozelluläre Netze oder durchlaufende Fibrillen in den Ganglienzellen?

Von

G. A. Jäderholm, Stockholm.

---

Hierzu Tafel VIII u. IX.

---

Max Schultze, Kupffer, Becker, Levy und Cox werden als diejenigen genannt, welche zuerst die Primitivfibrillen beobachtet haben, erst aber durch Apáthys klassische Untersuchungen erwarb der Begriff „Neurofibrillen“ als leitende Elemente des Nervensystems sein Heimatsrecht in der Neurologie. Bei den Vertebraten wurde die Existenz der Primitivfibrillen in den meisten Zellarten des Zentralnervensystems, ihr Verlauf und ihre Verteilung zuerst durch Bethe (2, 3) überzeugend demonstriert. Es ist bekannt, wie seine Resultate zu einem der Argumente wurden, welche eine Revision der Neurontheorie notwendig erscheinen liessen. Bethe zeigte ja, dass, wenn auch die Fibrillen in den Spinalganglienzellen und in Lobus electricus von *Torpedo marmorata* sicher schöne Gitterwerke bilden, das doch bestimmt eine Ausnahme ist: in der Regel verlaufen die Fibrillen nach Bethe durch die Nervenzellen, ohne Anastomosen untereinander einzugehen und so Netze zu bilden. Wenn dies der Fall ist, so könnte der Begriff der funktionellen Einheit der Nervenzelle nicht mehr gut aufrecht erhalten werden.

Der Betheschen Meinung haben einige Forscher zugestimmt, aber von weitaus den meisten Forschern, Neuronisten und anderen, ist ihr widersprochen worden. Hierbei hat man sich meistens auf zwei spätere Fibrillenmethoden gestützt, die von Cajal und die von Donaggio. Um den wirklichen Verhältnissen näher zu kommen, habe ich mich eine Zeit lang speziell mit der Donaggiomethode beschäftigt und sie mit der Bethemethode verglichen. Ich beschränkte mich bei diesem Vergleich auf die grossen Zellen der Vorderhörner des Rückenmarks.

---

Bethe (2, p. 111) beschreibt das Verhalten der Neurofibrillen in den betreffenden Zellen folgendermaßen:

„Beim jungen Hund finde ich, dass die inneren Fibrillen nicht so zahlreich sind, wie die mehr an der Peripherie hinziehenden. Ich finde an den Vorderhornzellen ein und desselben Rückenmarkschnittes die verschiedensten Proportionen zwischen Zentralfibrillen und Peripheriefibrillen, wie ich sie der Kürze wegen bezeichnen will. Bei einigen Zellen sind fast nur Peripheriefibrillen vorhanden, und die wenigen Zentralfibrillen sind nur schwach geschlängelt. Bei anderen Zellen sind mehr und stärker geschlängelte Zentralfibrillen vorhanden, doch sind sie noch gut zu verfolgen. Schliesslich existieren hier schon Zellen, bei denen die Innenfibrillen ein ziemlich dichtes Gewirre bilden, das nur schwer aufzuklären ist. Dies legt den Gedanken nahe, den ich aber noch nicht als meine unveränderliche Ansicht ausgeben will, dass auch die Innenfibrillen glatt durch die Zellen hindurchziehen, d. h. dass sie kein wirkliches Netz im Zellinnern bilden, wie Apáthy beobachtet zu haben scheint, sondern nur ein für unsere Hilfsmittel noch schwer analysierbares Filzwerk. Dafür spricht vor allem, dass es auch noch bei erwachsenen Tieren gelegentlich in sehr klaren Präparaten möglich ist, wenigstens einzelne Zentralfibrillen durch die ganze Zelle hindurch zu verfolgen. Es wird dadurch ja nicht ausgeschlossen, dass andere Fibrillen doch ein Netz bilden, wie man es in den Ganglienzellen von wirbellosen Tieren findet, aber ich meine, es ist unwahrscheinlich. Ich erwähnte schon, dass man gelegentlich an den Zentralfibrillen Teilungen wahrzunehmen imstande ist; wenn nun ein Netzwerk bestände, so müssten die Teilstellen häufiger in Erscheinung treten, sie sind aber in meinen Präparaten recht spärlich zu finden. — Bei genauerer Prüfung kann ich fast immer anscheinende Netze in sich überschneidenden Fibrillen auflösen, so dass ich zwar noch nicht imstande bin, mit Sicherheit zu verneinen, dass Netze in den Vorderhornzellen existieren, aber ihr Vorkommen in diesen Zellen, wie überhaupt bei Wirbeltieren, als sehr fraglich erscheinen muss.“

In einer späteren Arbeit (3, p. 517) spricht sich Bethe gelegentlich der Netzbilder in den Zellen des Ammonshornes folgendermaßen aus:

„Es kann sich auch um Verklebungen sehr dünner Zentralfibrillen handeln, Verklebungen, welche man im grossen Maßstab häufig bei den Zentralfibrillen der Vorderhornzellen sieht und die dann Gitter vortäuschen, wo besser konserviertes und besser differenziertes Material keine zeigen.“

Von verschiedenen Seiten wurden Einwände gegen diese Auffassung erhoben, während andere Forscher sich dafür ausgesprochen haben, je nachdem die eine oder die andere Methode für die Darstellung der Fibrillen gebraucht wurde.

Bei seiner Untersuchung der Retina mit Bethes Methode fand Emden, dass in den Zellen, wo sich die Fibrillen färben lassen, d. h. in den Horizontalzellen und in den Zellen des Ganglion Nervi optici, das Verhalten der Fibrillen der Beschreibung Bethes für Nervenzellen im allgemeinen entspricht. Für die Richtigkeit dieser Angabe Emdens spricht auch ein Bild der Horizontalzellen bei Cajal (4, Fig. 9) aus einem Präparat, das mit der Methode des genannten Verfassers hergestellt war.

Ferner scheinen die Resultate mit den Methoden von Bielschowsky und Joris für die Meinung Bethes zu sprechen. Bei der Beurteilung der „Netzbilder“ in den motorischen Vorderhornzellen beim Neugeborenen „muss man“, sagt Bielschowsky (p. 176), „der Tatsache Rechnung tragen, dass diejenigen Dendriten, welche nicht in der Schnittebene liegen, an den Kreuzungsfiguren ebenso beteiligt sind, wie die sichtbaren. Insbesondere ist zu betonen, dass weder in der Umgebung des Kernes, noch in den oberflächlichen Schichten des Zelleibes Teilungen der einzelnen Fädchen oder Anastomosen festzustellen sind.“ — „Es entspricht dies Bild in seinen wesentlichen Zügen demjenigen, welches Bethe auf Grund seiner Molybdänmethode entworfen hat.“ — „Das Bild der motorischen Vorderhornzelle des Erwachsenen ist insofern von demjenigen des Neugeborenen verschieden, als hier die Verteilung der einzelnen Fädchen eine nicht so gleichmäßige, sondern eine mehr bündelförmige zu sein pflegt.“ Joris spricht sich in seiner ersten Arbeit für die Existenz von durchlaufenden Fibrillen und endozellulären Netzen aus (1, p. 76); in der zweiten Untersuchung (2), wo die Resultate seiner eigenen Methode dargestellt werden, spricht er sich aber für die Meinung Bethes aus.

Von den Opponenten gegen diese Anschauung stützen sich Cajal, Held, van Gehuchten, Marinesco und Lugaro

auf die Befunde mit der neuen Cajalmethode, Donaggio auf die Präparate, die man mit seiner Pyridin-Thionin-Methode bekommt.

Ramon y Cajal (1, 2, 3, 4) spricht sich in seiner Mitteilung über seine Befunde mit der Bethemethode sehr vorsichtig aus; nach der Entdeckung seiner eigenen neuen Methode aber hat er sich mehrmals mit Entschiedenheit für die Existenz von Netzen in Ganglienzellen (auch den Vorderhornzellen) ausgesprochen. So nennt er ja seine Methode „Un sencillo metodo de coloración selectiva del reticulo protoplasmico.“ In der Modifikation seiner Methode, bei welcher mit ammoniakalischem Alkohol vorbehandelt wird, zeigen aber seine Bilder der motorischen Vorderhornzellen nur ausnahmsweise Netze (3, p. 12); dies ist beachtenswert, da er in seiner letzten Arbeit angibt, dass zum Studium der motorischen Vorderhornzellen gerade diese Modifikation am geeignetsten sei (5).

Die Beobachtungen von Held, die er mit der Cajalschen Methode erhalten hat, sind von dem Verfasser selbst am klarsten so zusammengefasst worden (p. 161): „Auf jeden Fall ist Cajal jetzt durch seine neue Silbermethode in die Lage gekommen, mit Sicherheit demonstrieren zu können, dass im Protoplasma der Ganglienzellen ein Fibrillennetzwerk vorkommt.“ Dies soll aber nach Held nicht nur in dem Ganglienzellkörper selbst, sondern auch in den Dendriten der Fall sein. — Van Gehuchten äussert sich folgendermaßen (p. 103): „Les neurofibrilles, indépendantes les unes des autres dans les ramifications protoplasmiques, s'anastomosent donc entre elles et forment un réseau dès leur entrée dans le corps d'un bon nombre de cellules nerveuses.“ Die scheinbare Unabhängigkeit einzelner Fibrillen sei durch das reichliche Vorhandensein von Fibrillen, durch ihren ziemlich parallelen Verlauf und durch die geringe Dicke der sie verbindenden Trabekel zu erklären. — Van Gehuchters Schüler, A. Michotte, hat niemals die Existenz wirklich ungeteilter Fibrillen beobachten können. — Marinesco spricht sich für die Existenz der endozellulären Netze aus. Wenn man auch einzelne Fibrillen kontinuierlich aus einem Zellfortsatz in einen anderen übertreten sehen könne, so sei es darum doch nicht unmöglich, dass dieselben einzelne Äste abgäben, die in das endozelluläre Netz einträten. — Noch energischer hat sich Lugaro bei dem

XII. Kongress der „Società freniatria Italiana,“ Oktober 1904 in Genua ausgesprochen. Er leugnet überhaupt bestimmt die Existenz von durchlaufenden ungeteilten Fibrillen; auch in den Dendriten sollen die Fibrillen Netze bilden usw.

Am eingehendsten und energischsten hat sich aber wohl Donaggio gegen die Auffassung Bethes gewandt. Es ist dies auch der Grund, weswegen eine Nachprüfung der Methode, welche ihn zu seinen überaus sicheren Behauptungen veranlasste, in erster Linie wünschenswert erschien. Die nach der Ansicht Donaggios wichtigsten Resultate auf diesem Gebiete fasst er etwa folgendermaßen zusammen: es ist ihm gelungen, in der Zelle nachzuweisen: 1. ein endozelluläres, fibrilläres Netz; 2. einzelne lange, ungeteilt verlaufende Primitivfibrillen, die an der Peripherie hingleichen. Er behauptet nachgewiesen zu haben (p. 13): „l'esistenza negli elementi nervosi dell'asse cerebro-spinale di due sistemi fibrillari: il primo distribuito nel corpo cellulare e formante per anastomosi di fibrille un fitto reticolo in rapporto con fibrille protoplasmatiche e cilindriche; il secondo, transcorrente a traverso l'elemento cellulare.“ — „In seguito, richiamai l'attenzione su elementi, in cui non apparivano due sistemi —, ma un solo sistema, data dal reticolo fibrillare endocellulare; questi elementi, che si possono riscontrare in varie parti dei centri nervosi, assumono la massima evidenza quando sono scarsamente provvisti di prolungamenti. — Anche in questi elementi appariva il rapporto discontinuità del reticolo col cilindriche.“ Da Bethe seine Befunde als Argument gegen die Neurontheorie formuliert hatte, fügte der Verfasser hinzu: „Nella esistenza di sole fibrille lunghe attraversante l'elemento cellulare il Bethe riponeva il caposaldo (!) morfologico<sup>1)</sup> della sua dottrina sul decorso degli stimoli.“ — Während in den Betheschen Präparaten, nach den Angaben des Verfassers (4, p. 7), die Fibrillen in der nächsten Nähe des Kernes ungefärbt bleiben wegen der starken Affinität, mit denen die Kernsubstanzen den Farbstoff für sich in Beschlag nehmen, findet Donaggio in seinen Präparaten „un caratteristico addensamento del reticolo fibrillare verso il mezzo della cellula, nella por-

<sup>1)</sup> Ausrufungszeichen von mir; gesperrt im Original.

zione perinucleare: e a questo addensamento, più facile a riscontrarsi negli elementi più ricchi di prolungamenti, diedi il nome di cercine perinucleare.“ — Dieses Kernnetz findet man auch in den Bildern und Beschreibungen Cajals.

Hier stehen Resultate gegen Resultate und Methode gegen Methode. Denn Donaggio behauptet, dass mit der Bethemethode bloss das periphere System, mit seiner Pyridin-Thionin-Methode dagegen auch das andere System zur Darstellung kommt.

Und jetzt teile ich die Ergebnisse meiner Untersuchungen mit.

Während Bethes Methode von der Cajals, Bielschowskys und Joris' wesentlich verschieden ist, kann man das von der Donaggioschen wohl nicht sagen.

Das Prinzip der Betheschen Methode beruht nach den Angaben des Verfassers (4, p. 3) in Folgendem: Man sucht eine Fixierung, welche möglichst viel von der primär färbbaren Substanz der Nervenzellen herauslöst und doch gleichzeitig genügend viel Eiweiss koaguliert. Bethe gebraucht dazu Salpetersäure, 3, 5 und 7 %. Durch die kombinierte Wirkung von Salpetersäure und ammoniakalischem Alkohol wird die Färbbarkeit der Nisslsubstanzen unterdrückt. — Das Färbungsprinzip wird durch folgende Formel anschaulich gemacht:

- 1) ysaure Substanz X + molybdänsaures Ammonium = molybdänsaure Substanz X + ysaures Ammonium
- 2) molybdänsaure Substanz X + salzsaures Toluidinblau = molybdänsaures Toluidinblau + salzsaure Substanz X.

Dieses Prinzip ist von Donaggio stillschweigend aufgenommen worden. Seine Methode III (s. 21) ist diejenige, welche in diesem Fall zum Vergleich dienen soll. Die Prozeduren sind folgende:

1. Fixierung in Pyridin während 5—6 Tagen; damit die Fixierungsflüssigkeit vollkommen durchdringt, dürfen die Stücke nicht grösser als höchstens 5 mm sein. Das Pyridin wird wenigstens einmal gewechselt.
2. Übertragen in dest. Wasser während 24 Stunden; nach einigen Stunden werden die Stücke herausgenommen und zu 2—3 mm dicken Stücken zerschnitten. Das Wasser wird oft gewechselt, zuletzt unter Benutzung eines neuen, reinen Gefässes.

3. Beizung in einer Lösung von 4 % Ammoniummolybdat + 1 Tropfen HCl pro grm. Molybdat; 24 Stunden. (Nach Donaggio darf die Lösung von Ammoniummolybdat bei Hinzufügung von HCl nicht warm sein, da die in der Kälte auftretende Fällung in der Wärme ausbleibt. Für denjenigen, der weiss, dass diese Fällung nichts ist als freie Molybdänsäure, die sich in der Kälte langsamer als in der Wärme mit dem Überschuss von molybdänsaurem Ammonium zu sauren Salzen verbindet, ist es natürlich gänzlich gleichgültig, ob der Zusatz in der Wärme oder Kälte erfolgt.)
4. Spülung in dest. Wasser 2—4 Minuten, während dieser Zeit ein- bis zweimal wechseln. Nachher Alkohol 96 % (6 Stunden); Alkohol absolutus (12 Stunden); Xylol und Paraffin.
5. Schneiden und Färben. Die Schnitte sollen 3—7  $\mu$  dick sein. Sie werden mit warmem oder besser kaltem destillierten Wasser aufgeklebt. Nachher Xylol-Alkoholdest. Wasser; letzteres nicht mehr als eine Minute. Die Schnitte werden in Thionin  $\frac{1}{10000}$  gebracht, und die Färbung wird unter dem Mikroskop verfolgt. Drei verschiedene Phasen können beobachtet werden; die letzte ist dadurch charakterisiert, dass der Kern, der erst stark gefärbt war, jetzt farblos ist. In diesem Zeitpunkt soll die Färbung unterbrochen werden. Die Färbung kann nachher nochmal mit Ammoniummolybdat fixiert werden. Montiert werden die Präparate in neutralem Canadabalsam.

Die in der Bethemethode gebrauchte Salpetersäure und der ammoniakalische Alkohol werden in dieser Methode von dem Pyridin ersetzt. De Souza, der zuerst das Pyridin für histologische Zwecke empfohlen hat, charakterisiert diesen alkalischen Körper als gutes Eiweissfällungsmittel und als gutes Lösungsmittel für Fette und Anilinfarbstoffe; es soll sehr leicht tierische Gewebe durchdringen. — Das Färbungsprinzip ist dasselbe; der einzige Unterschied, dass Toluidinblau durch Thionin ersetzt worden ist. Donaggio behauptet aber, seine Färbung sei spezifisch, das heisst wohl durch eine Reaktion zwischen Pyridin

und Farbstoff bedingt sein. Wie überhaupt diese Reaktion möglich sein soll zwischen ausgesprochen basischen Körpern, darüber fehlt jede Auskunft. — Nach den Angaben Donaggios soll das Thionin durch andere Farbstoffe nicht ersetzt werden können. Auch Toluidinblau gibt nach meinen Untersuchungen wenigstens ebenso gute Bilder wie Thionin. Darüber später. — Wenn die Fibrillenfärbung von der hypothetischen Reaktion zwischen Pyridin und Thionin abhängig sein sollte, dann wäre das Ammoniummolybdat ganz überflüssig und wäre nur als „ontogenetisches Residuum“ eines früheren Bethestadiums anzusehen. — Ob die Salzsäure erst in einer etwas grösseren Konzentration eingeführt wird und einen Tag nachher das Ammoniummolybdat in 4%iger Lösung, oder die beiden erst vorher vereinigt und dann zugesetzt werden, scheint wohl ziemlich gleichgültig zu sein. Übrigens stammt Donaggios Verfahren auch in diesem Falle von Bethe, der es in seiner Methylenblaumethode gebraucht hat (1). — Nach dem Schneiden werden die Betheschnitte mit Eiweissglyzerin aufgeklebt und dann mit warmem destillierten Wasser ausgelaut, „differenziert“; nach Donaggio werden sie am besten mit kaltem Wasser aufgeklebt; und so kann in Donaggios Untersuchung wenigstens der Ausdruck Differenziation wegfallen.

Die Idee zu dieser Untersuchung hat sich darum folgendermaßen formulieren müssen: Die einzigen Unterschiede der Donaggiomethode von der Bethemethode bestehen in der Einführung von Pyridin und Thionin in die Färbungsprozeduren. Wie wirken diese beiden Stoffe auf das histologische Bild? Lassen sich durch diese beiden Stoffe die Netzbilder der Donaggiuschen Methode als Artefacte erklären?

---

Das Material für meine eigenen Untersuchungen stammte von Kaninchen und Hunden. Verglichen wurden nur Präparate desselben Tieres und derselben Hauptabteilung des Rückenmarks. Die Resultate gelten für beide Tierspezies.

Die Fixierungen, die ich gebraucht habe, waren, abgesehen von den normalen Bethfixierungen mit 3, 5 und 7%iger Salpetersäure, die ich mit B 3, B 5, B 7 bezeichne, und der normalen Donaggiofixierung, bezeichnet Don. III: 1) Vorbehandlung nach Bethe und nachher Pyridin; 2) Vorbehandlung nach Donaggio



und nachher die normale Bethemethode; und 3) Pyridin in steigender Konzentration.

1. Vorbehandlung nach Bethe und nachher Pyridin: Bp<sub>3</sub>, Bp<sub>5</sub>, Bp<sub>7</sub>.
  - a) 3 resp. 5 und 7% Salpetersäure : 24 Stunden; Fortsetzung wie in der normalen Bethemethode mit ammoniak. Alkohol, salzsaurem Alkohol; darauf Alkohol 96 % : 10—24 Stunden.
  - b) Pyridin : 2—3 Tage; Fortsetzung wie in der normalen Donaggiomethode.
2. Pyridin nach der normalen Donaggiomethode; nachher die Bethemethode. Don. III; mod. 1.
  - a) Pyridin 100 % : 5—6 Tage; dest. Wasser : 24 Stunden.
  - b) Alkokol 96 % : 24 Stunden, ammoniak. Alkohol usw. nach den Angaben von Bethe.
3. Pyridin in steigender Konzentration: Don III; mod. 2. Pyridin 25 % in dest. Wasser : 24 Stunden; Pyridin 50 % : 24 Stunden; Pyridin 75 % : 24 Stunden; Pyridin 100 % : 1—2 Tage. Die Lösungen werden einige Stunden vor dem Benützen gemacht. Dest. Wasser : 24 Stunden; nachher Fortsetzung wie in der normalen Donaggiomethode.

Die Schnitte von B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>7</sub>, Bp<sub>3</sub>, Bp<sub>5</sub>, Bp<sub>7</sub> wurden im allgemeinen in einer Dicke von 10  $\mu$  geschnitten; dagegen die Schnitte von der Donaggiomethode und von meinen Varianten davon 5  $\mu$ . Es waren Anhaltspunkte für die Meinung vorhanden, dass die Unterschiede in der Aufklebung Einfluss hatten auf das mikroskopische Bild, und darum wurden in der ersten Zeit die Donaggioschnitte auf beide Art aufgeklebt, also mit Wasser oder mit Eiweissglyzerin. Wie zu erwarten war, zeigten mit Wasser aufgeklebte Donaggiopräparate (welche wie üblich auf dem Paraffinofen getrocknet wurden) eine Differenzierung: die Bilder waren etwas klarer. Während der Untersuchung wurde nachher der Bequemlichkeit wegen immer die Aufklebung mit Eiweissglyzerin gebraucht. — Von jedem Block wurden mehrere Serien in verschiedenen Höhen geschnitten und zum Vergleich herangezogen.

Dann wurden die mit Eiweissglyzerin aufgeklebten Schnitte bei 60—62° C. mit 1,5—2 ccm dest. Wasser auf dem Objektträger 3, 5, 7 Minuten lang differenziert. Nachher wurden sie mit Toluidinblau ( $1/1000$ — $1/3000$ ) oder mit Thionin gefärbt, im

ersten Falle nach den Vorschriften von Bethe, das andere nach Donaggio. Wenn dies Verfahren nicht genügend klare Bilder geliefert hatte, ging ich zu einer Differenzierung im Tubus mit 25 ccm. dest. Wasser (60—62° C.) über; falls dies wieder nicht genügte, konnte manchmal eine Ausdifferenzierung in sehr verdünnten Lösungen von Ammoniummolybdat ( $1/4000$ — $1/8000$ ) gute Resultate geben. — Wenn im Folgenden von einer bestimmten Fixierung mitgeteilt wird, dass sie dieses oder jenes Resultat geliefert hat, so bedeutet das, dass immer verschiedene Differenzierungen versucht worden sind, von denen diejenige zum Vergleiche ausgewählt wurde, welche die klarsten Bilder lieferte.

Die Färbung betreffend wurde schon im Anfang die Erfahrung gemacht, dass das Entfärben der Kerne in den Donaggio-schen Präparaten nicht als sicheres Zeichen der klarsten Fibrillenfärbung angesehen werden kann. Ich habe eine ziemlich grosse Zahl von Präparaten durch Überfärbung verloren, weil die Kerne sich erst spät oder überhaupt, so lange ich es verfolgen konnte, nicht entfärbten. So habe ich zum Beispiel ein Präparat, wo der Kern erst nach 50 Minuten endlich klarer wurde. Donaggio gibt als Färbungsminimum 3—5 Minuten an, was nach meiner Erfahrung zu wenig ist; als Maximum 30 Minuten.

Der Meinung Donaggios von der Spezifizität seiner Fibrillenfärbung kann ich nicht beistimmen. Denn auch in normalen Bethepräparaten erfolgt Entfärben der Kerne bei Thioninfärbung; und ich habe auch Zellen gesehen, die nach Bethe gefärbt und fixiert gewesen sind, die aber doch ganz farblose Kerne hatten. Den Anfang zum Entfärben kann man schon in den Kernen von einigen Zellen sehen, die nur zehn Minuten gefärbt worden sind (Fig. 1). Wenn die Donaggiofärbung eine spezifische Pyridin-Thionin-Färbung wäre, wäre natürlicherweise auch das Ammoniummolybdat als überflüssig weggelassen worden. Nicht veröffentlichte Experimente, die von Dr. A. Bethe schon früher ausgeführt worden sind, zeigen auch, dass nach Pyridinfixierung ohne Ammoniummolybdat keine Fibrillenfärbung zum Vorschein kommt. Donaggio gibt zwar an (p. 9), dass in diesem Falle Färbung eintreten soll, und dass in der Weise, „che la sola piridina ha preparato, per così dire, l'ambiente propizio alla colorazione del reticolo fibrillare endocellulare.“

Wenn es sich auch so verhält, ist das aber für die Spezifität der Fibrillenfärbung nicht beweisend, sondern ist nur eine Bestätigung der Betheschen Beobachtung, dass der Neurotropismus gewisser Anilinfarbstoffe auch in dem fixierten Gewebe sich geltend macht, d. h. die Färbung ist primär und wahrscheinlich nur in der Beziehung von Pyridin abhängig, dass das Pyridin die primärfärbbare Substanz der Fibrillen (wie Ammoniak-Alkohol) nicht in Lösung bringt und durch seine Alkalinität die Färbbarkeit der Nisslschollen unterdrückt. (Bethe, 5. Kap. 8: Die primäre Färbbarkeit der Ganglienzellen und der Neurofibrillen. p. 125). — Wenn Schnitte von Don. III., Don. III : 1 und Don. III : 2 nach derselben Differenzierungszeit mit Toluidinblau resp. Thionin gefärbt werden, zeigt es sich schon mit bloßem Auge, dass die Thioninpräparate viel stärker gefärbt sind, wie die anderen; unter dem Mikroskop sieht man, dass nicht nur die Fibrillen gefärbt sind, sondern auch sehr viel vom anderen Zellinhalt. Daher sind natürlich diese Bilder viel schwieriger zu analysieren. Zum Teil rührt diese Überfärbung sicher von der längeren Einwirkungsdauer des Thionins her; ob auch im Schnitte gebliebene Reste des Pyridins (?) dabei eine Rolle spielen, ist schwer zu sagen. — Aber auch das Toluidinblau besitzt diese ungünstige Eigenschaft, wenn auch in geringerem Grade wie das Thionin. Die Stücke von Bp<sub>3</sub> (Bp<sub>5</sub>, Bp<sub>7</sub>) sind viel schwieriger zu differenzieren, d. h. bei konstanter Wassermenge brauchen sie viel längere Zeit, um klar zu werden, als die entsprechenden B<sub>3</sub> (B<sub>5</sub>, B<sub>7</sub>). Als Belege hiefür diene unter sehr vielen anderen diese:

- 1) B<sub>7</sub>; diff. auf dem Objektträger in dest. Wasser 3½ Min. Toluidinblau: Die Schnitte sind fast vollständig entfärbt.  
Bp<sub>7</sub> diff. auf dem Objektträger in dest. Wasser 7 Min.; Toluidinblau: Die Bilder sind stark überfärbt.
- 2) B<sub>5</sub>; diff. in Tubus in dest. Wasser 3½ Min.; Toluidinblau: Die Bilder sind sehr klar und weder zu viel noch zu wenig gefärbt.  
Bp<sub>5</sub>; diff. in Tubus in dest. Wasser 5 Min.; Toluidinblau: Die Bilder sind stark überfärbt.

Was von der Spezifität der Färbung also übrig bleibt, kann nach diesen Erfahrungen höchstens eine Einwirkung von dem Pyridin auf die Gewebe der Art sein, dass mehr Ammoniummolybdat zurückbehalten wird; aber nicht nur in den Fibrillen, sondern auch in dem übrigen koagulierten Zellinhalte.

## Die Einwirkungen von Pyridin und Thionin auf das mikroskopische Bild.

1. Das Pyridin ruft ungewöhnlich grosse Schrumpfungen hervor. (In den Figuren sind die Grenzen der Schrumpfräume eingezeichnet. — Z. B. Fig. 5, 6, 7, 8 der echten Donaggio-methode; dagegen Fig. 1, 2, 3, 4 nach dem Bethe-Verfahren.) Durch diese Schrumpfungen werden die Fibrillen geschlängelt, gewunden und nach der Mitte der Zelle gedrängt. Dabei kommen die Fibrillen häufig so nahe aneinander zu liegen, dass sie nicht mehr optisch voneinander zu trennen sind und miteinander verklebt erscheinen. (Figur 3, aus einem Präparat der echten Bethe-methode, zeigt, dass nur diejenigen Fibrillen, die zu dem einzigen erheblicher geschrumpften Zellfortsatze gehen, geschlängelt sind.)

Diese ungewöhnlich grossen Schrumpfungen werden durch folgende Tatsachen ohne weiteres erklärlich. Wenn Pyridin und Wasser zusammentreffen, tritt eine heftige chemische Reaktion ein. Es bildet sich ein Hydrat, und dabei steigt die Temperatur beträchtlich (z. B. wenn 10 ccm Pyridin und 10 ccm dest. Wasser, beide von 11° C., zusammengegossen werden, steigt binnen 6 Sekunden die Temperatur der Mischung bis zu 21° C. Bei weitem grösser ist natürlich die hier in Betracht kommende molekulare Wärme). Diese Reaktion mit allen heftigen Reaktions- und Diffusionsströmungen vollzieht sich mitten in dem frischen, eben aus dem physiologischen Medium herausgenommenen Gewebe, wenn dieses in das Pyridin eingelegt wird, und nachher noch einmal: wenn das überflüssige Pyridin mit Wasser wieder ausgezogen wird.

Um die Richtigkeit dieser Erklärung der Schrumpfbilder zu prüfen, habe ich, wie schon oben gesagt wurde, eine Fixierung mit Pyridin versucht, die diese Fehler der Donaggioschen Methode, wenn meine Behauptung richtig wäre, wenigstens zum Teil beseitigen sollte (Don. III, 2). Es zeigte sich in der Tat, dass in den Präparaten, die ich mit Pyridin in steigender Konzentration erhielt, die Schrumpfräume im allgemeinen kleiner waren als in den Präparaten nach der echten Donaggiomethode, und dass sie niemals zu solchen Grössen gelangen, wie bei dem in Fig. 6 gezeichneten Beispiel. Derartige starke Schrumpfungen sind in den echten Donaggiopräparaten aber gar nicht selten.

(Man vergleiche Fig. 5, 6, 7, 8 der echten Donaggiomethode mit Fig. 12, 13, 14 meiner Modifikation Don. III, 2!) Darum sind auch die sogenannten endozellulären Netze bei Don. III, 2 viel leichter zu analysieren und lassen sich in einzelnen Zellen (besonders in solchen, die mit Toluidinblau gefärbt sind; Erklärung siehe unten!) in individuelle, nicht übermäßig gewundene und geschlängelte Fibrillen auflösen (z. B. Fig. 12).

Die Bilder der anderen Modifikation der Donaggioschen Methode (III, 1) zeigten, dass in Pyridin gehärtetes Material durch folgende Bethembehandlung sich nicht mehr verändern lässt; sie ähneln durch und durch denen der echten Donaggioschen Methode, sodass auf eine Reproduktion derartig behandelter Zellen verzichtet werden konnte. Der ammoniakalische Alkohol, der nach Cajal die Zellen zum Quellen bringen und so die verbindenden Trabekeln der „Fibrillennetze“ zerreißen soll, vermag also, wenigstens bei den mit Pyridin zum Schrumpfen gebrachten Zellen, durchaus nicht diese Wirkung zu erzielen. — Dagegen zeigte meine Modifikation der Bethemethode, dass vorhergehende Fixierung in Salpetersäure nicht gegen den verheerenden Einfluss des Pyridins zu schützen vermag. Die Bilder (Fig. 9, 10, 11) zeigen, dass, wenn sich auch die Fibrillen viel leichter verfolgen lassen, als in den echten Donaggiopräparaten, hier doch dieselben Verzerrungen des Fibrillenverlaufes zustande kommen.

2. Das Pyridin erschwert die Differenzierung der Präparate und bewirkt neben der Fibrillenfärbung eine Färbung anderer Zellsubstanzen. Da diese zum Teil netzige Struktur zeigen (netzig geronnenes Zellplasma), so ist die Analyse des Fibrillenverlaufs erheblich erschwert, und es werden endozelluläre Netze vorgetäuscht, wo in Wirklichkeit wohl keine sind. Nur die geringere Färbungsintensität und geringere Schärfe der Plasmanetze machen sie von den Fibrillen unterscheidbar. — Der Klarheit wegen sind in den Figuren keine solche Färbungen eingezeichnet. (Die Argumente für diese Behauptung finden sich oben, Seite 113.)

3. Das Thionin hat eine ausgesprochene Tendenz, die morphologischen Elemente zur Verklebung zu bringen. Präparate, die sonst in ganz derselben Weise behandelt worden sind, von denen das eine mit Toluidinblau, das andere mit Thionin gefärbt worden sind, zeigen charakteristische Unterschiede. Z. B. In Bethem-Toluidinblau-Präparaten gehen die Fibrillen glatt und

scharf konturiert, ohne Verklebungen durch die Zellen; in den Bethe-Thionin-Präparaten sind die Verklebungen, zumal in den Zellfortsätzen zahlreich und deutlich. (Fig. 4: Bethe-Thionin; dagegen Fig. 1, 2, 3: Bethe-Toluidin. — Fig. 5, 6, 7: Don. III, Thionin; dagegen Fig. 8: Don. III, Toluidinblau. — Fig. 13, 14: Don. III, 2, Thionin; dagegen Fig. 12: Don. III, 2, Toluidinblau.) Infolgedessen sind bei den Toluidinpräparaten die Fibrillen in den Dendriten viel dünner und zahlreicher, als in den Thioninpräparaten, wo offenbar häufig mehrere Fibrillen zu einem einheitlichen Strang verkleben. Durch die Verklebungen sind auch die Ungleichmäßigkeiten in der Dicke der Fibrillen zu erklären. — Nach meiner Meinung sind überhaupt die Dendriten als der Prüfstein für die Güte einer Fibrillenmethode aufzufassen. Zeigen sich hier die Fibrillen verklebt, so sind alle Netzbilder im Innern der Zellen von vornherein dubiös. Da auch bei der Cajalschen Methode nur selten ein isolierter Verlauf der Fibrillen in den Dendriten zutage tritt, so sind auch hier die Netzbilder im Innern der Zellen wenig beweisend; es ist dies ein Übelstand, der durch die sonstigen Vorzüge der Cajalmethode (leichtes Gelingen, Dunkelheit der Fibrillen) nicht wett gemacht werden kann.<sup>1)</sup>

Es erübrigt hier einige Worte über die Differenz meiner Abbildungen von Donaggio-Präparaten und denen, welche Donaggio selber seiner Arbeit beigegeben hat, zu sagen: Wie ohne weiteres ein Vergleich zwischen den Bildern Donaggios und denen in dieser Abhandlung an die Hand gibt, ähneln sich die Bilder nicht besonders. Die Erklärung liegt wohl darin,

---

<sup>1)</sup> Der Meinung mancher Autoren, dass die Cajalsche Methode für pathologische Zwecke geeignet sei, kann ich nicht beipflichten. Sie hat mit den Molybdäsmethoden das gemein, dass sie nie alle Zellen des Schnittes gleichmäßig färbt. Gleichmäßige Färbung ist aber Hauptbedingung für eine Methode, die einer allgemeinen Anwendung auf pathologisches Material fähig sein soll. In gewissen Beziehungen steht sie hier sogar den Molybdänmethoden, den Befunden von Donaggio und Fragnito (Donaggio, p. 36) nach zu urteilen, nach. Dieselben fanden nämlich, dass fünf Tage nach Durchschneidung motorischer Wurzeln keine Fibrillenfärbung mehr in den Vorderhornzellen mit der Cajalmethode zu erlangen ist, während sich mit dem Donaggioschen Molybdänverfahren zeigte, dass die Zellen noch voll von Fibrillen sind. Dieses leichte Ausbleiben der Färbung trotz Vorhandenseins der Fibrillen erklärt zum Teil die unwahrscheinlichen Resultate, zu denen Marinesco bei seinen neuropathologischen Versuchen gekommen ist.

dass, während in meinen Abbildungen in allen Zellen die Konturen, der Kern und in den Fig. 5, 6, 9, 11, 12 und 14 alle Fibrillen mit dem Abbéschen Zeichenapparat gezeichnet sind, in seiner Arbeit jede Erklärung über die Darstellungsweise der Bilder fehlt. Im Mikroskop erscheinen einem die Netze in den Donaggio-Präparaten wirklich so feinmaschig, wie Donaggio sie abbildet; versucht man aber, sie genau mit dem Zeichenapparat wiederzugeben, so sind die Maschen viel gröber. Es ist dies ja eine allbekannte Täuschung. Ich glaube daher nicht fehl zu gehen, wenn ich annehme, dass die Abbildungen Donaggios ohne Zeichenapparat hergestellt sind.

Ein Umstand existiert, der bei allen Untersuchungen über den Verlauf der Fibrillen in den Zellen die Analyse erschwert: das Einmünden von solchen Dendriten in den Zellkörper, welche nicht in der Schnittebene liegen. Hierdurch kommt, besonders wenn es viele sind, eine solche Komplikation in dem Fibrillenverlauf zustande, dass eine Verfolgung einzelner Fibrillen im Allgemeinen unmöglich ist. Es ist deshalb zweckmäßig, Zellen auszusuchen, welche nur wenige in der Schnittebene gelegene Dendriten haben. Bei solchen findet auch Donaggio neben einem Netz stets auch durchlaufende Fibrillen. Bei den kompliziert gegliederten Zellen dagegen ist das Gewirre so gross, dass bei der Donaggioschen Methode alles verklebt und nur Netz gefunden wird, wie aus der Beschreibung und den Figuren des Autors selber hervorgeht.

Bei der Betheschen Methode sind die Agentien nach Möglichkeit vermieden, von denen hier gezeigt ist, dass sie Schrumpfung und Verklebung hervorrufen. Zwar kommen auch hier Andeutungen von Schrumpfungsräumen zu Beobachtung. Je kleiner diese sind, desto klarer sind die Bilder, besonders in Zellen mit wenigen Dendriten: die Fibrillen sind dann in den Protoplasmafortsätzen deutlich isoliert zu verfolgen und überall von gleicher Dicke. In den Zellen verteilen sie sich nach verschiedenen Richtungen, sind aber fast nie stark geschlängelt und mit anderen zu einem Netz verbunden. Die hier gegebenen Abbildungen (Fig. 1, 2, 3), welche durchaus den von B e t h e publizierten ähneln, demonstrieren diese Verhältnisse zur Genüge. — Sind in den B e t h e präparaten Schrumpfungsräume vorhanden, so sind die Bilder ebenfalls gleich unklar: die Fibrillen sind wenigstens zum Teil gewunden und

nähern sich dabei so, dass es zu Verklebungen kommen kann; besonders ist dies in Zellen der Fall, bei denen durch das Einmünden vieler Dendriten das Fibrillengewirr sehr gross ist. Dass solche Zellen vorkommen, hat Bethe selbst angegeben, sie aber mit Recht als zur Analyse ungeeignet hingestellt.

Es ist klar, dass entweder das Donaggiobild aus dem Bethebild entsteht oder umgekehrt. Ausgeschlossen erscheint die Richtigkeit der Donaggioschen Ansicht, dass im Bethepräparat nur die durchlaufenden Fibrillen gefärbt werden, die netzbildenden aber ungefärbt bleiben, denn Donaggio kennt durchlaufende Fibrillen nur an der Peripherie der Zellen, während im Bethepräparat auch das Innere der Zellen, wo bei Donaggio ein Netz zu finden ist, von solchen erfüllt ist. Die Kombinationen beider Methoden, deren Beschreibung vorhergegangen ist, haben zu dem nach meiner Meinung schlagenden Resultat geführt, dass das Bethebild das natürliche ist, und dass die Donaggioschen (wohl auch die Cajalschen) Netzbilder durch Schrumpfung und Verklebung aus demselben entstehen.

Es besteht noch die Möglichkeit, dass im Bethepräparat sehr dünne Verbindungsbrücken ungefärbt bleiben. Dass die Bethebilder nicht selten eine unvollständige Färbung zeigen, muss zugegeben werden; sie zeigen aber auch da nichts von Verbindungsbrücken, wo die Färbung sehr vollständig zu sein scheint. Gegen diese Auffassung spricht aber, dass die Verbindungsbrücken, welche in Donaggio- und Cajalpräparaten zu sehen sind, sowohl nach den Zeichnungen der Autoren als nach meinen Präparaten zu urteilen, nicht dicker sind, als die Fibrillen im Bethepräparat, dass ausserdem in Präparaten, welche nach der Methode Cajals hergestellt sind, bei der mit ammoniakalischem Alkohol vorfixiert wird, trotz der sehr dunklen Färbung häufig gar nichts von Netzen zu finden ist, sondern alle Fibrillen wie im Bethepräparat isoliert verlaufen.

Nach meiner Meinung sind also in der Regel die Netzbilder in den Zellen als Kunstprodukte, hervorgerufen durch Verklebung, anzusehen. Es können solche auch dadurch vorgetäuscht werden, dass sich das netzig geronnene Plasma mitfärbt, was am häufigsten bei der Donaggiomethode, seltener bei der Cajalmethode und am seltensten bei der Bethe-



und Bielschowskymethode der Fall ist. Dass solche Dinge mitgefärbt werden, ist von vielen Autoren nicht genügend beachtet worden. Held rechnet diese viel schwächer gefärbten, unregelmäßig und unscharf konturierten Fäden absichtlich (trotzdem er den Unterschied gesehen hat) mit zu den Fibrillen, weil sie gefärbt sind. Ich bin nicht imstande, ihm hierin zu folgen, und glaube, dass die Mehrzahl der Histologen mit mir einverstanden sein wird. Über den Standpunkt der Histologie sollte man doch hinaus sein, wo man glaubte, dass alles, was sich bei einer Methode auch nur annähernd gleich färbt, miteinander identisch sein muss. Mit demselben Recht würde man auch die Kernkörperchen, die Gliakerne, die elastischen Fasern der Gefäße und andere Gebilde, die sich mit den Fibrillenmethoden häufig färben, als Neurofibrillen ansprechen können.

#### Zusammenfassung.

Die Behauptung von Donaggio, Cajal u. a., dass die Neurofibrillen in den Ganglienzellen (speziell in den motorischen) Netze bilden, ist zurückzuweisen. Vorläufig gibt die Bethesche Methode diejenigen Bilder, welche dem wahren Sachverhalt am nächsten kommen dürften. Ihnen kommen am nächsten die Bilder der Bielschowsky-Methode und der Cajalschen Ammoniak-Alkohol-Methode. Am weitesten von der Wirklichkeit entfernen sich die Bilder mit der Methode Donaggios, welche in Wirklichkeit nur eine Modifikation der Bethe-Methode ist.

---

#### Literaturverzeichnis.

- Apáthy: Mitteilungen aus der zoolog. Station zu Neapel. Bd. 12. 1897.  
 Bethe (1): Eine neue Methode der Methylenblaufixation. *Anatom. Anzeiger* 1896.  
 Derselbe (2): Über die Primitivfibrillen in den Ganglienzellen vom Menschen und anderen Wirbeltieren. *Morph. Arbeiten* (Schwalbe). Bd. 8, H. 1, 1898.  
 Derselbe (3): Über die Neurofibrillen in den Ganglienzellen von Wirbeltieren und ihre Beziehungen zu den Golginetzen. *Archiv f. mikrosk. Anatomie und Entwicklungsgesch.* Bd. 55. 1898.  
 Derselbe (4): Das Molybdänverfahren zur Darstellung der Neurofibrillen und Golginetze im Zentralnervensystem. *Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie.* Bd. XVII. 1900.  
 Derselbe (5): *Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems.* Leipzig 1903.

- Bielschowsky: Die Silberimprägnation der Neurofibrillen. Journal für Psychologie und Neurologie. Bd. III. 1904.
- Cajal (1): Consideraciones críticas sobre la teoría de A. Bethe acerca de la estructura y conexiones de las células nerviosas. Trabajos del Lab. de Inv. Biol. Tomo II. Fascículos 1º, 2º y 3º. 1903.
- Derselbe (2): Un sencillo metodo de coloración selectiva del reticulo protoplasmico. Trab. d. Lab. d. Inv. Biol. Tomo II, Fasc. 4º. 1903.
- Derselbe (3): Algunos metodos de coloración de los cilindros-ejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. Trab. d. Lab. d. Inv. Biol. Tomo III, Fasc. 1º. 1904.
- Derselbe (4): El reticulo neurofibrillar en la retina. Trab. d. Lab. d. Inv. Biol. Tomo III. Fasc. 4º. 1904.
- Derselbe (5): Variaciones morfológicas del reticulo nervioso de invertebrados y vertebrados sometidos á la acción de condiciones naturales (nota preventiva). Trab. d. Lab. d. Inv. Biol. Tomo III. Fasc. 4º. 1904.
- Donaggio: Il reticolo fibrillare endocellulare etc. Revista Sperimentale di Freniatria. Vol. XXX. Fasc. 2. 1904.
- Embsen: Primitivfibrillenverlauf in der Netzhaut. Archiv f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 57. 1901.
- Van Gehuchten: Considerations sur la structure interne des cellules nerveuses et sur les connexions anatomiques des neurones. Le Nevraxe, Vol. VI, Fasc. 1. 1904.
- Held: Zur weiteren Kenntnis der Nervenendfüsse und zur Struktur der Sehzellen. K. Sächs. Gesellsch. d. Wiss. XXIX. Nr. 2. 1904.
- Joris (1): Nouvelles Recherches sur les rapports anatomiques des neurones. Bruxelles 1903.
- Derselbe (2): A propos d'une nouvelle methode de coloration de neurofibrilles. Structures et rapports des cellules nerveuses. Bruxelles 1904.
- Lugaro: XII. Congresso della Società freniatria italiana, Genova, 18—22 Ottobre 1904.
- Marinesco: Recherches sur la structure de la partie fibrillaire des cellules nerveuses a l'état normal et pathologique. Revue neurologique. No. 9, 1904.
- Michotte: Contribution à l'étude de l'histologie fine de la cellule nerveuse. Le Nevraxe, Vol. VI. Fasc. 3. 1904.
- De Souza: De la pyridine en histologie. Compt. rend. hebd. de la Soc. de biologie, VIIIème serie, A. IV. n° 35. 1886.

### Figurenerklärung auf Tafel VIII und IX.

Diejenigen Präparate, nach welchen diese Figuren gezeichnet sind, waren alle Schnitte aus dem Lumbalmarke und dem untersten Teil des Thorakalmarkes ein und desselben Hundes.

In den Figuren 5, 6, 9, 11, 12 und 14 ist alles bei Ölimmersion (Zeiss Apochromat 1.30, Kompensationsokular 6, Vergrößerung 1250) mit dem Zeichenapparat von Leitz (nach Abbé) ohne Benutzung der Mikro-

eterschraube gezeichnet. In den übrigen Bildern sind die Zellkonturen, der Kern und die Schrumpfungsräume mit dem Zeichenapparat bei 850-facher Vergrößerung gezeichnet; die Fibrillen, die sich bei dieser Vergrößerung nicht gut verfolgen liessen, sind nachher mit Benutzung der Oelimmersion eingezeichnet. Dabei wurde die Mikrometerschraube in geringem Maße benützt, um tiefer oder höher liegende Details mit in die Zeichnung zu bringen.

Für jede Zeichnung gebe ich eine kurze Angabe darüber, wie das betreffende Präparat erhalten wurde. — In den Zeichnungen bedeutet Schr. = Schrumpfsorgan; im folgenden Tol = Toluidinblau, Thi = Thionin, Diff. Tub. = Differenzierung in Tubus und Diff. Obj. = Differenzierung auf dem Objektträger. Die nach Tol., Thi, Wasser eingeklammerte Zahl bedeutet die Färbungs- resp. Differenzierungszeit in Minuten.

- Fig. 1. Fixierung nach Bethe mit Salpetersäure 5%. Diff. Tub. dest. Wasser 60° C. [3½]. Tol. 1:1000 [10]. Die Fibrillen sind gleich dick, verlaufen ohne Anastomosen oder Teilungen durch die Zellen. Sie gehen leicht gebogen von dem einen Fortsatz in den anderen, sind weder geschlängelt noch gewunden. Die Schrumpfungsräume sind klein. a = Axencylinderfortsatz. — Vergrößerung 850×.
- Fig. 2. Fixierung nach Bethe mit Salpetersäure 5%. Diff. Tub. dest. Wasser 60° [3½]. Tol. 1:1000. Die Fibrillen sind überall gleichmäßig dick; keine Anastomosen und keine Netze; auch Teilungen sind nicht zu sehen. Sie sind weder geschlängelt noch gewunden. Die Schrumpfungsräume sind sehr klein. — Vergrößerung 850×.
- Fig. 3. Fixierung nach Bethe mit Salpetersäure 5%. Diff. Tub. dest. Wasser 60° [3½]. Tol. 1:1000 [10]. Die Fibrillen verlaufen individuell; keine Netze und keine Anastomosen. Der Fortsatz bei a ist der einzige erheblicher geschrumpfte des ganzen Zellkörpers; nur diejenigen Fibrillen, die zu diesem Zellfortsatz gehen, z. B. von dem Fortsatz b, sind geschlängelt und gewunden. Schrumpfungsräume nicht gross. — Vergrößerung 850×.
- Fig. 4. Fixierung nach Bethe mit Salpetersäure 5%. Diff. Tub. dest. Wasser 60° C. [3½]. Thi. 1:10000 [14]. Die Fibrillen sind stark verklebt, zumal in den Fortsätzen, ungleich dick und besonders in der Mitte der Zelle geschlängelt und gewunden, sind aber bei genauerer Analyse ziemlich gut zu verfolgen. Die Schrumpfungsräume sind grösser als in Fig. 1, 2, 3. — Vergrößerung 850×.
- Fig. 5. Fixierung nach Donaggio in 100%igem Pyridin. Diff. Obj. dest. Wasser 60° C. [5]. Thi. 1:10000 [18]. Die Fibrillen gehen in groben, miteinander anastomosierenden Bündeln durch die Zelle; die Bündel sind ungleich dick. Man sieht zwei Fibrillen, die nebeneinander verlaufen, stellenweise voneinander isoliert, stellenweise verklebt. Auch in den Fortsätzen kommen Verklebungen vor; nur einzelne Fibrillen oder Fibrillenbündel verlaufen von dem einen Fortsatz direkt zu dem anderen. Geronnenes Plasma mit netzartiger Struktur ziemlich reichlich mitgefärbt. (Nicht gezeichnet.) Der Schrumpfsraum ist sehr gross. — Vergrößerung 1250×. —

In dem Präparat, wo sich die gezeichnete Zelle befand, waren mehrere Zellen vorhanden, deren Fibrillen schon überfärbt waren, deren Kerne aber keine Andeutungen zum Aufklären zeigten.

- Fig. 6. Fixierung nach Donaggio in 100%igem Pyridin. Diff. Obj. dest. Wasser 60° C. [7]. Thi. 1:10 000 [23]. Stark gefärbte Fibrillenbalken, die in den Dendriten stark verklebt sind, treten von den Fortsätzen ein, und während einzelne dem Zellkörper direkt aus dem einen Fortsatz in den anderen übertreten, bildet die Mehrzahl ein gegen die Mitte der Zelle feinmaschiges, sonst grobmaschiges Netz mit zahlreichen Verklebungen und scharfen Richtungsänderungen der Fibrillen, die das genaue Verfolgen derselben unmöglich machen. Grosse Mengen geronnenes Plasma mit netzartiger Struktur erschweren die Analyse. Der Schrumpfungsraum ist sehr gross. Bei a ist ein Gliakern mitgefärbt. — Vergrösserung 1250×.
- Fig. 7. Fixierung nach Donaggio mit 100%igem Pyridin. Diff. Obj. dest. Wasser 60° C. [5]. Thi. 1:10 000 [16]. Die Fibrillen sind in den Dendriten sowie im Zellkörper zu groben, stark gefärbten Bündeln zusammengeklebt, von denen die meisten ein ziemlich feinmaschiges Netz bilden, während andere direkt zu anderen Fortsätzen übertreten. Das Netz wird in der Nähe des Kerns besonders feinmaschig: die Fibrillen, die nach der Mitte der Zelle gedrängt werden, können in dieser Richtung nicht weiter, und dadurch wird eine grössere Zahl sonst in verschiedenen Ebenen verlaufende Fibrillen bei dem Kern in eine Ebene eingepresst. So dürfte wohl das Kernnetz zu deuten sein. Geronnenes Plasma ist stark mit gefärbt. — Der Schrumpfungsraum ist sehr gross. — Vergrösserung 850×.
- Fig. 8. Fixierung nach Donaggio mit 100%igem Pyridin. Diff. Obj. dest. Wasser 65° C. [2]. Tol. 1:3000 [10]. Die Fibrillen sind ziemlich glatt, stark geschlängelt und gewunden, sehr oft verklebt, aber bedeutend weniger wie in den Fig. 5; 6, 7, und lassen sich oft, wenn auch mit Schwierigkeit, einzeln verfolgen. Geronnenes Plasma reichlich mitgefärbt. Schrumpfungsraum gross. — Vergrösserung 850×.
- Fig. 9. Vorbehandlung nach Bethe mit Salpetersäure 5%; nachher Pyridin 100% nach Donaggio (Bps, siehe oben, Seite 111). Diff. Obj. dest. Wasser 70° C. [5]. Tol. 1:3000 [10]. Die Fibrillen gehen aus der Peripherie direkt von Zellfortsatz zu Zellfortsatz, ungleich dick und oft verklebt; isolierte Fibrillen können doch ziemlich weit verfolgt werden. Geronnenes Plasma weniger gefärbt als bei Fig. 5—8. Der Schrumpfungsraum gross. — Vergrösserung 1250×. — Die Zellen in diesem Präparat waren sonst stark überfärbt; diese Zelle machte eine Ausnahme.
- Fig. 10. Vorbehandlung nach Bethe mit Salpetersäure 5%; nachher Pyridin 100% nach Donaggio (Bps). Diff. Obj. dest. Wasser 65° C. [6]. Thi. 1:10 000 [32]. Die Fibrillen sind auch in den Dendriten ver-

klebt, bilden aber besonders in der Nähe des Kerns feinmaschige Netze mit Verklebungen. Nur einzelne Fibrillen treten direkt von dem einen Fortsatz in den anderen über; die meisten sind so geschlängelt, gewunden und verklebt, dass ihr Verlauf sich nicht verfolgen lässt. Stellenweise ist geronnenes Plasma mitgefärbt. Der Schrumpfungsraum ist gross, aber nicht so gross wie in den Fig. 5, 6 und 7. — Vergrösserung 850 $\times$ .

- Fig. 11. Vorbehandlung nach Bethe mit Salpetersäure 5%. Nachher Pyridin 100% nach Donaggio (Bps). Diff. Obj. dest. Wasser 72° C. Tol. 1:3000 [1000]. Grobe Fibrillenbalken sind verklebt, auch in den Dendriten. Die ganze Zelle ziemlich stark gefärbt, besonders gut geronnenes (nicht gezeichnetes) Plasma. Der Schrumpfungsraum ist gross. — Vergrösserung 1250 $\times$ .
- Fig. 12. Fixierung mit Pyridin in steigender Konzentration (Don. III, 2; siehe oben, Seite 111). Diff. Obj. dest. Wasser 63° C. [3]. Tol. 1:1000 [10]. Die Fibrillen sind ziemlich gleich dick, oft verklebt, geschlängelt und gewunden, aber lassen sich, wenn auch mit Schwierigkeit, isoliert verfolgen. Geronnenes Plasma sehr schwach gefärbt. — Der Schrumpfungsraum ziemlich gross. — Vergrösserung 1250 $\times$ .
- Fig. 13. Fixierung mit Pyridin in steigender Konzentration (Don. III, 2). Diff. Obj. dest. Wasser 63° [7]. Thi. 1:10000 [23]. An der Peripherie gehen die Fibrillen direkt aus dem einen Zellfortsatz in den anderen; die Zentralfibrillen sind stark gefärbt und bilden ein grobmaschiges Netz, wo die einzelnen Fibrillen sich nicht mehr verfolgen lassen. Viel geronnenes Plasma mitgefärbt. Schrumpfungsraum gross. — Vergrösserung 850 $\times$ .
- Fig. 14. Fixierung mit Pyridin in steigender Konzentration (Don. III, 2). Diff. Obj. dest. Wasser 63% [7]. Thi. 1:10000 [23]. Auf der einen Seite der Zellen gehen ziemlich viele Fibrillen ungeteilt durch; in der Nähe des Kernes sind die Zentralfibrillen unter vielen Verklebungen zu einem Netz verbunden, in welchem aber einzelne Fibrillen sich weit verfolgen lassen. Einzelne Verklebungen kommen auch in den Dendriten vor. Der Schrumpfungsraum nicht sehr gross. — Vergrösserung 1250 $\times$ .