

(Aus dem Histologischen Institut der Deutschen Universität in Prag
[Vorstand: Prof. Dr. *Alfred Kohn*].)

Beitrag zur Chromsilberimprägnation der Glia.

Von

Dr. **Rudolf Altschul.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. August 1934.)

I.

Im Jahre 1929 hat *Bubenaite* eine Studie über das *Golgi*-Verfahren veröffentlicht und als Ergebnis seiner Reihenversuche eine sehr einfache Methode angegeben¹. Der Vorteil des erwähnten Verfahrens liegt darin, daß bereits in Formol fixiertes Material einer nachträglichen Behandlung mit Kaliumbichromat und Silbernitrat unterzogen wird.

Ich habe, versuchsweise, das Verfahren von *Bubenaite* auch in umgekehrter Reihenfolge angewendet. Es kommen demnach die in Formol fixierten Blöcke nach flüchtigem Abwaschen in destilliertem Wasser für 2 Tage bei 34° in 2%ige Silbernitratlösung, werden dann abgetupft und weitere 2 Tage bei der gleichen Temperatur in 2 $\frac{1}{2}$ %igem Kaliumbichromat nachbehandelt.

Es empfiehlt sich, sowohl die Silbernitrat- als auch die Kaliumbichromatlösung jeweils nach den ersten Stunden zu erneuern, da einerseits durch das Formol eine wenigleich geringe Reduktion der Silberlösung erfolgt, andererseits bei der Kaliumbichromatbehandlung Chromsilber als feiner Niederschlag ausfällt. Die Blöcke werden dann möglichst rasch in Paraffin eingebettet.

Als Vorteil ergab sich bei diesem Verfahren gegenüber der Methode von *Bubenaite* eine bedeutende Verminderung des Niederschlages an der Oberfläche der Stücke, was schon bei makroskopischer Betrachtung durch den Farbenunterschied der imprägnierten Blöcke auffällt: die nach *Bubenaite* behandelten Gewebstücke weisen, vor der Einbettung, einen rötlichschwarzen, satten und stellenweise metallisch glitzernden Farbenton auf, wogegen sie bei Anwendung des Silbernitrates vor dem Kaliumbichromat einen gelblichrötlichen, der Eigenfarbe des Kaliumbichromates ähnlichen Farbenton angenommen haben.

Ein weiterer Vorteil von größerer Bedeutung ist die fast elektiv zu nennende Darstellung von Gliazellen.

Dagegen waren mit diesem neuartigen Verfahren die Randpartien der imprägnierten Blöcke nicht so gut darstellbar, wie sie in den nach *Bubenaite* angefertigten Präparaten erscheinen und, was besonders auffallen mußte, die Nervenzellen und ihre Ausläufer waren fast gar nicht imprägniert. Durch diesen Umstand ist ja das auffallende Hervortreten gewisser Gliaelemente zum Teil bedingt.

¹ Vgl. auch das Taschenbuch von *Romeis*, Auflage 1933.

Aus diesem einfachen Versuche erschen wir, daß das Kaliumbichromat nicht als Beize wirkt, wie bisher vielfach angenommen wurde, denn der Begriff Beize setzt ja eine Vorbehandlung des Gewebes mit einem Beizmittel voraus. Bei meinem Verfahren könnte man zuerst an eine Reduktion des Silbernitrates oder seiner Verbindung mit Gewebsstoffen des Nervensystems durch das Kaliumbichromat denken, eine Annahme, die in Analogie zu anderen Silbermethoden stünde und die durch die Anwendung des Kaliumbichromates an zweiter Stelle eine gewisse Stütze fände. Nun trifft dies aber keineswegs zu, denn der Niederschlag, der sich an oder in den Zellen und ihren Fortsätzen bildet, besteht nicht aus metallischem, reduziertem Silber, da er beispielsweise in Natriumthiosulfat löslich ist. Es handelt sich also wahrscheinlich, wie auch bei den anderen *Golgi*-Methoden, um eine Chromsilberverbindung. Über die genauere Zusammensetzung dieses Salzes besteht noch keine einheitliche Auffassung: nach *Kallius* soll es sich um eine komplizierte Silber-Eiweiß-Chrom-Verbindung handeln. Welche Zusammensetzung diese Verbindung auch haben mag, so ergibt sich doch aus meinen Versuchen mit Sicherheit, daß diese „reazione nera“ (*Golgi*) zustande kommt, unabhängig davon, ob zuerst das Silbernitrat dem Gewebe zugeführt wurde oder das Kaliumbichromat.

Die weniger gelungene Imprägnation der Oberfläche kann ungezwungen damit erklärt werden, daß sich bei der von mir eingehaltenen Reihenfolge ein viel geringerer Niederschlag an der Oberfläche bildet, was eine stärkere Ausschwemmung aus den Randpartien ermöglicht, so daß die hier bereits stattgefundene Imprägnation wieder rückgängig gemacht wird. Dies kann man schon an dem Bleicherwerden der Gewebstücke während der Kaliumbichromatnachbehandlung beobachten. Verfolgt man den Imprägnationsvorgang unter dem Mikroskop, so kann man feststellen, daß bei *protrahierter* Behandlung mit Kaliumbichromat, nach der zwei-, aber auch mehrtägigen Silbernitratdurchtränkung, die Imprägnation allmählich wieder bis zum vollständigen Verschwinden zurückgeht. Um auch mit der umgekehrten Methode eine Imprägnation der Randpartien zu erhalten, ist es notwendig, die Nachbehandlung mit Kaliumbichromat auf eine kürzere Dauer zu beschränken.

Woran liegt es nun, daß die Glia in der Silbernitrat-Kaliumbichromat-Variation der *Bubenaite*-Methode deutlicher darstellbar ist? Ein physikalischer Faktor dürfte wahrscheinlich eine gewisse Rolle spielen, denn die Silbernitratlösung dringt sicherlich unter anderen Bedingungen in das Gewebe ein, wenn keine Kaliumbichromatbehandlung voranging. Außerdem ist auch anzunehmen, daß für die Behandlung mit Kaliumbichromat andere Bedingungen vorliegen, wenn die Blöcke vorher nicht bloß in Formalin fixiert, sondern auch bereits mit Silbernitrat vorbehandelt wurden. Doch bleibt die Frage offen, ob dies der einzige oder ausschlaggebende Faktor ist.

Es soll nun nicht der Anschein erweckt werden, als ob es mir gelungen wäre, der als „launisch“ bekannten *Golgi*-Methode eine Gesetzmäßigkeit aufzuzwingen. Auch bei der von mir angewendeten Technik bleibt eine gewisse Unsicherheit bestehen, vor allem die nicht restlos zu erklärende Tatsache, daß sich stets nur eine gewisse Anzahl von Zellen imprägniert. Aber auch dies ist bekanntlich für die Deutlichkeit des Bildes von Vorteil, der aber nur für die normale Histologie, nicht für die Histopathologie von Wert ist, für die ja eine möglichst vollständige Darstellung aller Zellen erwünscht ist.

Die Konservierung bereitet nun gewisse Schwierigkeiten und es gelang mir nicht, das Verderben einer Anzahl von Präparaten hintanzuhalten. Auch die Befolgung der diesbezüglichen Ratschläge, die reichlich in der Literatur niedergelegt sind — ein Zeichen, daß keines der angegebenen Verfahren mit absoluter Sicherheit verwendbar ist —, führte zu keinem Ziel. Weder die Reduktion und Fixierung nach *Kallius*, noch die Überführung des Chromsilbers in Chlorsilber oder die Vergoldung haben an den Präparaten, die nach *Bubenaite* oder nach meinem Verfahren hergestellt worden sind, befriedigende Erfolge erzielt.

Bei den Versuchen, das Chromsilber in den Schnitten mit Sicherheit vor dem Zerfließen zu bewahren, verwendete ich statt der einfachen Kaliumbichromatbehandlung nach Silbernitratdurchtränkung eine Nachbehandlung mit Kaliumbichromat-Formol, indem ich mich der von *Kopsch* angegebenen Lösung bediente. Es hat tatsächlich den Anschein, daß durch diese Abänderung die Schnitte haltbarer werden. Außerdem dürfte es auch von Interesse sein, daß nicht bloß die Methode von *Bubenaite* umkehrbar ist, sondern auch die von *Kopsch* nach vorangehender Formolfixierung. Wenn mit Kaliumbichromat-Formol nachbehandelt wurde, ergab sich gegenüber dem invertierten *Bubenaite*-Verfahren in bezug auf die elektive Darstellung der Gliazellen und in bezug auf die Ausschwemmung der Imprägnation aus der Peripherie kein Unterschied, doch imprägnierte sich vielleicht eine größere Anzahl von Zellen und die Imprägnation erstreckte sich auch in größere Tiefe, was ja manchmal von großem Vorteil sein kann.

Dennoch gebe ich der einfachen Umkehrung des *Bubenaite*-Verfahrens meistens den Vorzug, da mit diesem der Zellkörper zarter dargestellt erscheint und keinen gelblichen Hof zeigt, was bei der Umkehr der *Kopsch*-Methode ziemlich häufig der Fall ist. Die nach der Silbernitrat-Kaliumbichromat-Methode hergestellten Präparate werden mit einer dünnen Schichte Canadabalsam bedeckt und unter Anwendung gelinder Wärme bei reichlichem Luftzutritt trocknen gelassen, um die Verdunstung des Xylols zu beschleunigen.

Es lag nach den Versuchen mit der invertierten *Kopsch*-Methode nahe, die nach *Bubenaite* oder mit meinem „umgekehrten“ Verfahren erhaltenen Schnitte mit Formalin nachzubehandeln, doch zeitigten diesbezügliche Versuche kein günstiges Ergebnis.

In der Literatur ist nun nichts über eine Umkehrbarkeit der *Golgi*-Methode vorzufinden, trotz der zahllosen Modifikationen des Verfahrens und es müßte deshalb Verwunderung erregen, daß im Zeitraum von mehr als 60 Jahren, seitdem nämlich die *Golgi*-Methode angewendet wird, niemand den eigentlich recht primitiven Versuch einer Umkehr unternahm. Falls dies geschehen sein sollte, wurde jedenfalls nicht darüber berichtet.

Vielleicht könnte man mit etwas gutem Willen einen Vorgänger des umgekehrten Verfahrens in einer der früheren *Golgi*-Varianten finden. Ich denke dabei an *Cajals* Wiederholung der Behandlung. Bekanntlich hat dieser Forscher den Ratschlag gegeben, an imprägnierten Stücken, bei welchen die ersten Schnitte ein mangelhaftes Ergebnis zeigen, die ganze Prozedur noch einmal, ja gegebenenfalls mehrere Male zu wiederholen. Es folgt demnach eine zweite Kaliumbichromatbehandlung auf eine Silbernitratdurchtränkung. Doch ist hervorzuheben, daß in diesem Falle infolge der vorangegangenen Kaliumbichromatbehandlung das Silbernitrat kaum noch als solches im Gewebe vorkommt, sondern schon als Silberchromat und durch das (zum zweiten Male) einwirkende Kaliumbichromat in seiner chemischen Struktur nicht mehr verändert wird. Es dürfte sich höchstens um Überreste von Silbernitratlösung im Gewebe handeln, die durch das zweite Kaliumbichromatbad endgültig zu Chromsilber umgewandelt werden. Dieser Teilumwandlung könnte also, falls ihr überhaupt eine Bedeutung zukommt, mein umgekehrtes Verfahren zur Seite gestellt werden. Doch ist darauf hinzuweisen, daß gemäß dem Ratschlag von *Cajal* der zweiten Kaliumbichromatbehandlung auch eine zweite Silbernitratdurchtränkung zu folgen hat, was jedenfalls einen sehr wichtigen Faktor bei dieser Modifikation darstellt.

Ich habe auch im Verlaufe meiner Versuche die Umkehrbarkeit des ursprünglichen *Golgi*-Verfahrens geprüft. Bekanntlich hat das Silbernitrat eine gewisse, wenngleich auch nicht ausgiebige Fixierungsfähigkeit. Es kamen recht kleine, frische Gehirnstücke in 2%ige Silbernitratlösung und wurden nach einigen Tagen mit Kaliumbichromat nachbehandelt. Das Ergebnis war sehr ungünstig, und die so erhaltenen Präparate genügten auch den bescheidensten Ansprüchen nicht. Wohl waren einige Zellkörper und ziemlich viele Nervenfasern imprägniert, aber die erhaltenen Bilder waren von großer Unklarheit und von Niederschlägen reichlichst durchsetzt. Das *Golgi*-Verfahren, d. h. die Imprägnation mit Chromsilber, kann also mit Erfolg nur an gut fixiertem Material durchgeführt werden und ist ohne vorangehende Formolfixierung nicht umkehrbar.

Aus dem ungünstigen Ergebnis der Umkehrung des ursprünglichen *Golgi*-Verfahrens geht hervor, daß bei dieser Methode (in der vorschrittmäßig eingehaltenen Reihenfolge) dem Kaliumbichromat eine doppelte Aufgabe zufällt: das Gewebe zu fixieren und das nachträglich eindringende Silbernitrat in Chromsilber zu verwandeln. Eine Beizwirkung kommt, wie auch aus der Umkehrbarkeit des *Bubenaite*-Verfahrens ersichtlich ist, nicht in Frage. Der erwähnte, ungünstig verlaufene Versuch erklärt es aber auch, warum das *Golgi*-Verfahren vor der Einführung der einfachen Formolfixierung (durch *Gerota*, *Lenhossek*, *Bolton*, *Bubenaite*) nicht invertiert werden konnte, sofern überhaupt diesbezügliche Versuche unternommen worden sind, was sich meiner Kenntnis entzieht.

II.

Ich habe nun nicht ohne Absicht die Umkehrbarkeit der Formvariationen des *Golgi*-Verfahrens in Einzelheiten dargestellt und die Wirkung der einzelnen Reagenzien einer genaueren Beschreibung mit einem Erklärungsversuche unterzogen. Denn wie schon angedeutet wurde, ergab sich mit meinem Verfahren eine fast elektiv zu nennende Darstellung einer bestimmten Gliazellart, deren Zugehörigkeit zu einem bereits bekannten Gliazelltypus weiter unten besprochen werden soll. Durch diese verhältnismäßig sehr ausgeprägte Elektivität für ein bestimmtes Element des Zentralnervensystems erlangt das umgekehrte Verfahren eine Sonderstellung gegenüber den anderen *Golgi*-Variationen, bei welchen ja eine solche Elektivität nicht zu erreichen ist.

Die heute so ziemlich allgemein anerkannte und benützte Einteilung des nervösen Stützgewebes unterscheidet bekanntlich die Astroglia (auch Polydendroglia nach *Hortega*), und zwar die protoplasmatische und fibrilläre, die Oligodendroglia (la glia de escasas radiaciones) und schließlich die Mikroglia (Mesoglia, *Hortega*-Zellen).

Ich konnte nun in Präparaten, die nach meinem „invertierten“ Verfahren hergestellt waren, Zellen beobachten, die nach dem ersten Eindruck keiner der eben erwähnten Gliaarten voll zu entsprechen schienen. Das verschiedene Aussehen ist vielleicht zum Teil auf die Technik der Silberimprägnierung zurückzuführen und es ist bedauerlich, daß die Gliaforschung heute so sehr auf die Silbermethoden angewiesen ist, mit welchen keine endgültigen Ergebnisse über die wesentlichen Eigenschaften des Zellplasmas und des Kernes gewonnen werden können. Insbesondere ergibt die *Golgi*-Methode mit ihren Schattenbildern nur ungenügende Vorstellungen von den Nervenelementen und das Fehlen einer Vergleichsmöglichkeit mit vollwertigen Plasmafärbungen macht sich immer wieder fühlbar.

Dennoch kann es sich bei den in meinen Präparaten dargestellten Zellelementen nur um Gliazellen handeln, denn sie kommen sowohl in der Hirnrinde als auch in der Marksubstanz vor. Nachdem aber des

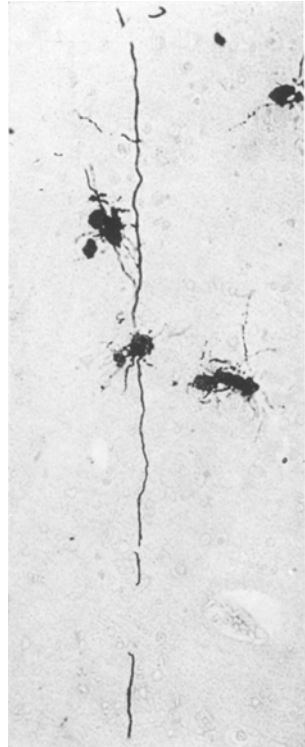


Abb. 1. Bipolare Gliazelle (Oligodendrocyt) aus der weißen Substanz. Invertiertes *Golgi*-Verfahren. Vergrößerung 200 \times .

öfteren beschrieben wurde, daß die Verlagerung von Nervenzellen in die weiße Substanz (Heterotopie) keine Seltenheit ist und insbesondere bei Epilepsie mit ziemlicher Regelmäßigkeit angetroffen werden kann, muß hervorgehoben werden, daß sich die erwähnten Zellen immer und auch in den tiefsten Lagen des Hirnmarkes imprägnieren lassen. Eine Verwechslung mit mesenchymalen Zellen ist auszuschließen, was aus der weiter unten folgenden Beschreibung klar hervorgeht. Dennoch soll erwähnt werden, daß die betreffenden Zellelemente nicht mit Gefäßwandzellen identisch sind, wofür der Beweis durch eine Nachfärbung der Schnitte jederzeit leicht erbracht werden kann.

Über das Vorkommen dieser so deutlich imprägnierten Zellen wäre noch zu sagen, daß sie reichlich in der weißen Substanz und in den untersten Schichten der Hirnrinde vorkommen. Dagegen ist die Beurteilung ihres Vorkommens in den oberen Lagen der Hirnrinde mit gewissen Schwierigkeiten verbunden. Denn wie erwähnt entfärbt („desimprägniert“) sich die Peripherie der Blöcke weitgehend, wenn mit Kaliumbichromat nachbehandelt wird. Lassen wir aber die Lösung dieses Salzes nur kurze Zeit einwirken, so erhalten wir an der Oberfläche keine elektive Darstellung der Gliazellen, sondern es stellt sich eine Imprägnation verschiedener Elemente ein und erschwert die Erkennung und Klassifizierung, um so mehr, da wir uns bei der Deutung der *Golgi*-Bilder nur nach den Umrissen der Gestalt und nach dem Verhalten etwaiger Fortsätze leiten lassen können.

Betrachten wir ein Präparat, das nach meinem Verfahren hergestellt wurde und wählen wir zu dieser Untersuchung eine Stelle des Hirnmarkes, so finden wir auf farblosem oder leicht gelblichem Untergrund Zellsilhouetten von rein schwarzer Farbe. Schon bei oberflächlicher Betrachtung lassen sich zwei verschiedene Zellarten ganz scharf voneinander unterscheiden. Die einen besitzen einen polygonalen Zellkörper, von dem in allmählicher Verjüngung und mit reichlichen Verzweigungen astartige, dendritische Fortsätze abgehen. Diese Fortsätze weisen bei stärkerer Vergrößerung Körncheneinlagerungen und Vakuolenbildung auf, sind ungleich lang und einer der nach allen Richtungen ausstrahlenden Fortsätze, der auch meistens der längste ist, endigt an Capillaren oder kleineren Arterien. Für den mit der Histologie des Zentralnervensystems Vertrauten steht es sogleich fest, daß es sich bei diesen in ziemlich geringer Anzahl imprägnierten Elementen um Astrocyten handelt.

Es treten aber außerdem und in bedeutend größerer Anzahl noch andere Zellen deutlich hervor. Diese zeigen in meinen Präparaten einen vorwiegend runden oder ovalen ballenartigen Zellkörper (Abb. 2). Von ihm gehen sehr zarte, fast nie verästelte, fadenförmige Fortsätze ab, deren längste regelmäßig von zwei diametral entgegengesetzten Punkten des Zellkörpers entspringen und ihm dadurch eine gewisse Bipolarität verleihen. Statt des einen (Abb. 1) können auch mehrere der langen

Fortsätze von den Polen abgehen (Abb. 2). Die Fortsätze sind, wie erwähnt, äußerst zart, von gleichmäßiger Feinheit und weisen eine geringe, verhältnismäßig sehr regelmäßige Schlängelung auf, für die vielleicht der Ausdruck spirillenartig zutreffend wäre. Sie sind ausnahmslos viel zarter als die Dendriten und Neuriten der Nervenzellen, wodurch eine Unterscheidung auch dort ermöglicht wird, wo die anderen Merkmale der Zellen nicht genug kennzeichnend sind. Gehen mehrere Fortsätze von einem Zellpol ab, so besitzen sie keinen gemeinsamen Austrittspunkt

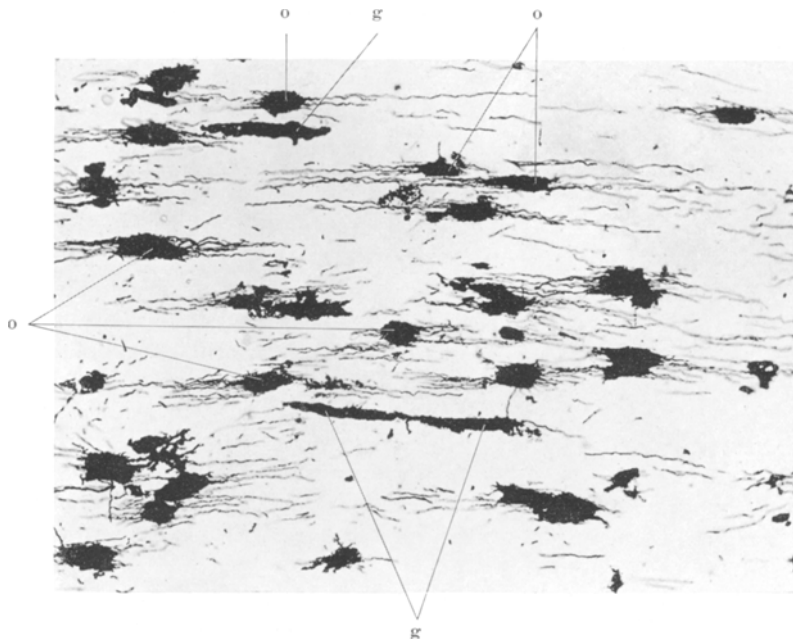


Abb. 2. Zahlreiche Oligodendrocyten (o) aus dem Hirnmark mit deutlich polarem Ansatz der längsgerichteten Ausläufer. g Gefäß. Invertiertes Golgi-Verfahren. Vergrößerung 130 \times .

am Zellkörper, sondern verlassen getrennt, wenngleich dicht nebeneinander, einen kleinen Sektor der runden Zellperipherie (Polkappen). Auch in ihrem weiteren Verlauf überkreuzen sich die Fortsätze nicht, sondern verlaufen fast parallel zueinander. Selbstverständlich kommen sie einander manchmal bis zur Berührung nahe und gehen vielleicht auch unter einem äußerst spitzen Winkel übereinander hinweg, aber dies ist keineswegs die Regel und echte Überkreuzungen kommen nicht vor. Einlagerungen in diese Fortsätze, Körnchen- oder Vakuolenbildungen, konnte ich nur äußerst selten in den Präparaten beobachten, welche nach dem „umgekehrten“ Verfahren hergestellt worden waren.

Auch die Anordnung dieser Zellen innerhalb der weißen Substanz verdient eine besondere Erwähnung. Bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung fällt auf, daß dort, wo die Imprägnation besonders gut

gelungen ist, wo also recht zahlreiche Zellelemente dargestellt wurden, sich diese in einer gewissen, fast gesetzmäßigen Anordnung finden, was insbesondere durch den fast gestreckten Verlauf der Fortsätze in einer Richtung (vom Zellkörper aus betrachtet in zwei entgegengesetzten Richtungen) noch stärker zum Ausdruck kommt. Dadurch unterscheiden sich diese Zellen, abgesehen von den bereits geschilderten anderen Merkmalen, von den Astrocyten, deren Fortsätze, wie schon der Name besagt, in verschiedensten Richtungen ausstrahlen.

Nun finden sich aber die Zellen mit dem runden, kompakten Körper und mit den feinen, unverzweigten Fortsätzen nicht bloß in der Marksubstanz, sondern auch in der Hirnrinde, und zwar, wie schon oben erwähnt, besonders reichlich in der VI *Brodmannschen* Schichte. Dasselbst vermißt man aber die langen Fortsätze, wenigstens in jenem Ausmaße, wie sie in der weißen Substanz anzutreffen sind und auch die Bipolarität erscheint weniger ausgeprägt, an vielen Zellen sogar völlig verwischt. Außerdem ist der Zellkörper dieser Elemente fast durchwegs kleiner als der der Zellen in der weißen Substanz (Abb. 3). Eine Nachfärbung zur Darstellung der Nervenzellen läßt erkennen, daß die mit Chromsilber imprägnierten Elemente in der Rinde stets in Nachbarschaft von Nervenzellen vorkommen, also das Bild von Trabanzellen oder Satelliten ergeben. Nun ist aber hinlänglich bekannt, daß gerade die VI Schichte einen besonderen Reichtum an solchen Trabanzellen aufweist, was als normale Neuronophagie oder Pseudoneuronophagie bezeichnet wurde (*Spielmeyer*).

Beziehungen zu Blutgefäßen konnte ich niemals auffinden, was ausdrücklich, schon im Gegensatz zu den Astrocyten, festgestellt zu werden verdient.

Es ergibt also die unvoreingenommene Betrachtung, daß durch die invertierte *Golgi-Methode* eine durch die *Eigenartigkeit ihres Zellkörpers* und die *besonderen Merkmale ihrer Fortsätze* charakterisierte Zellart in der weißen und grauen Substanz darzustellen ist, im Mark in Reihen mit gerichteten Fortsätzen, in der Rinde als Begleitzellen der Nerven-elemente.

Nun erhebt sich die Frage, welcher der bekannten Zellarten diese Gebilde zuzurechnen sind oder ob wir es hier mit Zellen zu tun haben, die bisher noch nicht beschrieben wurden.

Nach meinen Beobachtungen, die ich durch die Beschreibung und die Abbildungen zu erläutern versucht habe, kann wohl kein Zweifel bestehen, daß es sich um Gliazellen handelt. Da die Untersuchungen fast ausschließlich an Gehirnen von Erwachsenen und reifen Tieren durchgeführt wurden, braucht der Einwand, daß es sich um Spongioblasten oder gar Neuroblasten handelt, nicht weiter erwogen zu werden. Wohl könnte man dies einen Augenblick vermuten, da sich, wie andere Autoren schon gefunden haben, Spongioblasten auch im reifen, normalen Zentral-

nervensystem auffinden lassen. Doch spricht die Häufigkeit und die Regelmäßigkeit des Vorkommens, sowie das Auftreten fern von den mit Ependym ausgekleideten Ventrikeln entschieden gegen diese Annahme. Die Differenzierung gegenüber den Astrocyten wurde schon genügend besprochen, so daß eine Identifizierung, ja selbst eine nähere Verwandtschaft kurzweg abgelehnt werden kann. Auch mit der Mikroglia haben die erwähnten Zellen keine Ähnlichkeit. Zwar zeigen auch diese häufig eine ausgesprochene Bipolarität, aber das wäre fast die einzige gemeinsame Eigenschaft. Denn die Gestalt des Zellkörpers der Mikroglia, der breitere Ansatz der Fortsätze an ihm, das Verhalten der Fortsätze selbst und schließlich die Besonderheiten der topographischen Anordnung im Nervengewebe ergeben genügende Unterscheidungsmerkmale.

Wenn wir unsere Zuflucht nicht zu der gewagten und unbegründeten Behauptung nehmen wollen, daß es sich um bisher noch nicht beschriebene Zellelemente handeln könnte, bleibt schließlich nur noch die Möglichkeit zu erwägen, ob sie nicht den Zellen vom Typus der Oligodendroglia zuzurechnen seien.

Vergleicht man die Beschreibung, die *Hortega* von dieser Gliazellart gegeben hat, so ergeben sich einige gemeinsame Merkmale:

1. das Vorkommen in der weißen und grauen Substanz;
 - a) im Mark als interfasciculäre Zellen;
 - b) in der Hirnrinde als Satelliten der Nervenzellen, besonders reichlich in den untersten Rindenschichten;
2. die Zartheit der Fortsätze und
3. deren oft recht geringe Anzahl;
4. das vollkommene Fehlen von Beziehungen zu den Blutgefäßen.

Dagegen zeigen die Oligodendrogliazellen nach der Beschreibung von *Hortega* fast stets Körnchen- und Vakuoleneinlagerungen in den Fortsätzen, wenige, aber häufig anzutreffende Verzweigungen (Dichotomien) der Ausläufer und oft überdies eine netzartige Verflechtung derselben (Plexusbildung).

Das Verhalten des Zellkernes- und -plasmas kann zum Vergleich nicht herangezogen werden, da die *Golgi*-Methode auch in der Modifikation des umgekehrten Verfahrens diese nicht zur Darstellung bringt.

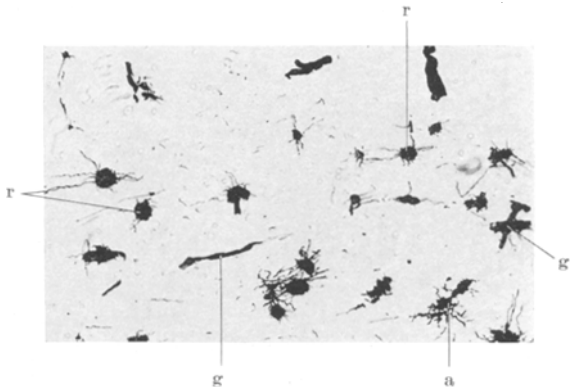


Abb. 3. Tiefere Schichten der Hirnrinde. r Oligodendrocyten vom „Robertson-Typus“, g Gefäß, a Kleiner Astrocyt. Invertiertes *Golgi*-Verfahren. Vergrößerung 130 ×.

Wohl konnte ich an den nur wenig imprägnierten Zellen eine kreisförmige Aussparung des Zentrums beobachten, die, in Übereinstimmung mit der Beschreibung von *Hortega*, dem nicht dargestellten, verhältnismäßig großen Zellkern entspricht. Doch ist das ein so dürftiger und unbestimmter Befund, daß mit ihm nicht weiter gerechnet werden soll.

Sind nun die gemeinsamen Merkmale genug zahlreich, um eine Identifizierung der von mir nach dem modifizierten Verfahren beschriebenen Gliazellen mit der Oligodendroglia zu gestatten? Oder sind die beobachteten Zellen in ihrem Aussehen und Verhalten so andersartig, daß man sie den Oligodendrogliazellen nicht gleichstellen darf?

Bei den *Golgi*-Präparaten handelt es sich bekanntlich nur um Äquivalentbilder und die so dargestellten Zellen müssen mit großer Vorsicht beurteilt werden. Beispielsweise erscheinen die imprägnierten Zellkörper größer als es der Wirklichkeit entspricht, eine Tatsache, auf die schon mehrfach hingewiesen wurde und die auch bei meinen Ergebnissen eine gewisse Rolle spielen dürfte. Es bleibe deshalb dahingestellt, ob der unmittelbare Ursprung der Fortsätze vom Zellkörper, wie ich ihn bei der beschriebenen Gliaart beobachten konnte, nicht durch die den Zellumfang vergrößernde und vielleicht vergrößernde Silber„inkrustation“ verdeckt wird. Dagegen erscheinen die Fortsätze in den gelungenen Präparaten so zart und regelmäßig imprägniert, daß etwaige, hier nicht imprägnierte Einlagerungen nicht gut angenommen werden können. Ebenso aber müssen, wie *Hortega* selbst betont und wie auch *Roussy*, *Lhermitte* und *Oberling* hervorheben, die Ergebnisse der *ammoniakalischen Silbercarbonatmethode* mit großer Vorsicht bewertet werden, denn es handelt sich um ein entstelltes Bild („image déformée“, *Roussy*, *Lhermitte* und *Oberling*), zurückzuführen auf den Einfluß der Fixierung und Imprägnation. So meint auch *Hortega*, daß die Fortsätze der Oligodendroglia plasmatische Bänder sind, die erst durch den Einfluß der Fixierung zu fadenförmigen Ausläufern schrumpfen. Auch die Knötchenbildung in den Fortsätzen soll, nach *Hortega*, auf ungleichmäßige Kondensation des Protoplasmas der Ausläufer beruhen und auf die Fixation zurückzuführen sein. Selbst die Intensität der Imprägnation bewirkt Änderungen im Aussehen des Zellkörpers, der das eine Mal spongiös, das andere Mal homogen erscheint (*Hortega*). Es wurden übrigens noch Zweifel erhoben, ob die Fortsätze dieser Gliaart überhaupt in ihrer ganzen Ausdehnung zur Darstellung gelangen. Man kann also mit dem ammoniakalischen Silbercarbonatverfahren von *Hortega* und mit seiner modifizierten *Golgi*-Methode, aber auch mit dem von mir angewendeten „umgekehrten“ Verfahren¹ Gliazellen mit ihren Ausläufern darstellen, die sicherlich weder mit den Astrocyten noch mit der Mikroglia identisch sind. Mit diesen drei Methoden erhalten wir Äquivalentbilder, welche

¹ Bei Versuchen und Vergleichen mit der *Golgi*-Variante *Hortegas* kam ich zu dem Ergebnis, daß die beiden Verfahren nicht dasselbe leisten.

gewisse Nachteile besitzen. Die von *Hortega* beobachteten und eingehend studierten Zellen lassen sich mit aller Wahrscheinlichkeit dem dritten Element *Cajals* einordnen (*Schaper*: nackte Kerne, *Bonome*: indifferente Zellen, *Eisath*: Rundzellen, *Cerletti*: Cuboidzellen und *Pollak*: Bereitschaftszellen). Auch die von mir beobachtete Gliazellart weist recht viele Merkmale auf, die uns gestatten, die Zugehörigkeit zu der Oligodendroglia wenigstens mit einiger Wahrscheinlichkeit zu erörtern.

Was nun die Morphologie dieser Gliazellen betrifft, so weisen sie bei dem von mir angewendeten Verfahren eine auffallende Längsrichtung der Fortsätze auf, die naturgemäß entsprechend der Anordnung der Nervenfasern, innerhalb der weißen Substanz, sehr deutlich hervortritt. Diese Eigenschaft teilen sie mit den bipolaren Spongioblasten und sie würden demnach als eine wenig differenzierte Gliaart erscheinen, was auch der Ansicht von *Hortega* und anderen Autoren entspricht. Der Befund der Polarität, die bei meinem Verfahren so besonders ausgesprochen ist, erbringt vielleicht einen weiteren Beitrag zur Gliaentwicklung und bestätigt die von *Hortega* geäußerte Ansicht, gemäß welcher die aus dem Verband des Medullarepithels losgelösten Zellen zum großen Teil nur geringe morphologische Veränderungen durchmachen (Oligodendrocyten), wogegen ein kleinerer Teil eine höhere Differenzierung erreicht (Astrocyten).

In seiner Einteilung der Oligodendroglia spricht *Hortega* von deutlich polaren Zellen, doch sollen dies vor allem die Elemente des 3. und 4. Typus sein, die, an und für sich ziemlich selten, vorwiegend in den Pedunculi cerebri et cerebelli, in der Brücke, der Oblongata und im Rückenmark vorkommen sollen. Die auch von *Hortega* unterschiedenen Trabanzellen der Hirnrinde (1. Typus oder *Robertson*-Zellen) weisen dagegen diese Polarität nicht auf, ebensowenig wie die Elemente des 2. Typus (Oligodendroglia *Cajals*), welche im Kleinhirn, Centrum ovale und auch in anderen großen Marksträngen vorkommen. Dagegen sollen alle diese Zellen Fortsätze besitzen, die sich teilen und an den Rindenzellen oder an Markscheiden Endformationen bilden.

Wir kommen zur *Schlußfolgerung*: Mit dem von mir angewendeten „invertierten“ *Golgi*-Verfahren imprägnieren sich vorwiegend Zellen, die einen kompakten, runden oder ovalen Zellkörper besitzen, von dem eine beschränkte Anzahl zarter Fortsätze von gleichbleibender Feinheit ohne Verästelungen abgeht. Soweit diese Zellen in der weißen Substanz vorkommen, zeigen sie, entsprechend der Anordnung des bodenständigen Gewebes der Nervenfasern, eine ausgesprochene Längsrichtung (Bipolarität). Dagegen gehen die Fortsätze dieser Zellen innerhalb der grauen Substanz in allen Richtungen vom Zellkörper ab. Einlagerungen in den Ausläufern dieser Elemente sind mit dem „umgekehrten“ Verfahren fast nie aufzufinden.

Wenn wir nun die vorliegenden Befunde mit den Merkmalen vergleichen wollen, die nach der Beschreibung von *Hortega* den Oligodendrocyten eigen sind, so stoßen wir bei einem Versuch der Identifizierung auf schwer zu überwindende Hindernisse: *Hortega* hat die Oligodendroglia in vier Typen eingeteilt, zwischen denen es allerdings fließende Übergänge gibt (und auch eine *fünffache* Unterabteilung des 2. Typus!). Man müßte also versuchen, die Zellen, die sich mit meinem Verfahren darstellen lassen, bei einem oder dem anderen Typus unterzubringen. Allerdings zeigen auch die von mir hier beschriebenen Zellen, wie bereits erwähnt, bei voller Übereinstimmung in den wesentlichen Merkmalen, eine etwas abweichende Gestaltung in der weißen und in der grauen Substanz. Aber eine Einreihung in die vier Gruppen von *Hortega* gelingt nicht leicht: denn während sich die Zellen nach gewissen Merkmalen in der einen Gruppe unterbringen lassen, stimmen sie mit anderen Kennzeichen des betreffenden Typus nicht überein, wohl aber wieder mit gewissen Eigenheiten der Zellen eines anderen Typus. Am ehesten noch lassen sich die Trabantenzellen in der ersten Gruppe *Hortegas* (*Robertson-Zellen*) unterbringen. Ich möchte aber nicht unerwähnt lassen, daß *Hortega* selbst die Einteilung in Typen als sehr gekünstelt ansieht („*sumamente artificiosa*“). Und tatsächlich erscheint die vielfache Unterteilung auf Grund von Schattenbildern, wie sie mit den Imprägnationsmethoden erhalten werden, sehr bedenklich, weil es fraglich bleibt, ob hierbei *wesentliche* Merkmale zur Unterscheidung dienen. Man wäre also geneigt, anzunehmen, daß sich mit dem umgekehrten Verfahren aus den vier Gruppen von *Hortega*, besonders aber aus den ersten drei (Typus Robertson, Cajal, Paladino), jene Zellen zur Darstellung bringen lassen, die untereinander gewisse gemeinsame Merkmale haben.

Es ist aber doch noch zu sagen, daß ich niemals die Endformationen der Fortsätze in der Art beobachten konnte, wie sie *Hortega* als Insertion an und in den Markscheiden beschrieben hat (Ring- und Netzbildung, gefensterte Membranen und Scheidewände, Trichterbildung). Ob das bedeutet, daß mein Verfahren die Fortsätze unvollkommen imprägniert, muß bis zur endgültigen Klärung dahingestellt bleiben, denn es könnte etwa auch so sein, daß an den durch mein Verfahren zur Darstellung gelangten Zellgruppen die Ausläufer frei endigen, was vielleicht als besonderes Merkmal gegenüber den Typen von *Hortega* aufgefaßt werden könnte. Was schließlich die Knötchen- und Vakuolenbildung in den Fortsätzen betrifft, die ich, im Gegensatz zu den Befunden *Hortegas*, so selten sah, wenn ich mein Verfahren anwendete, dagegen sehr häufig bei der von *Hortega* selbst angegebenen *Golgi-Variation*, so glaube ich annehmen zu dürfen, daß es sich um Kunstprodukte handelt, zurückzuführen auf die ungenügende Fixation.

Es dürfte aufgefallen sein, daß ich in meiner Beschreibung die Gliazellen des Rückenmarkes nicht erwähnte. Ich konnte sie mit meinem umgekehrten Verfahren sehr deutlich zur Darstellung bringen. Ihre

Morphologie deckt sich so ziemlich mit den Angaben, die *Hortega* über diese Zellen gemacht hat. Sie kommen aber, meiner Ansicht nach, den Oligodendrocyten, wie ich sie beobachten konnte, viel weniger nahe als vielmehr den fibrillären Astrocyten, und zwar sowohl im Verhalten der Fortsätze als auch im Aussehen des Zellkörpers. Da aber *Hortega* diese Elemente mit *Sicherheit*, schon wegen ihrer innigen Verbindung mit den Markscheiden, seiner Oligodendroglia zurechnet, will ich mich, vorläufig wenigstens, einer bestimmten Äußerung enthalten.

Als ich meine Bilder mit den Darstellungen aus der älteren Literatur verglich, fand ich eine auffallende Ähnlichkeit mit Zellelementen, die im Jahre 1894 *Retzius* als Schwanzzellen oder Doppelschwanzzellen beschrieben und abgebildet hat (the caudate glia cells von *Lloyd Andriezen*). Ich glaube annehmen zu können, daß diese Schwanzzellen, die mit der alten *Golgi*-Methode dargestellt wurden, ebenfalls mit den Oligodendrogliazellen identisch sind.

Es ergaben also meine Versuche: 1. Das *Golgi*-Verfahren kann, nach vorangehender Formalinfixierung, in umgekehrter Reihenfolge angewendet werden, indem zuerst die Silbernitrat- und erst nachher die Kaliumbichromatbehandlung vorgenommen wird. Damit ist also die Behauptung, das Kaliumbichromat wirke als Beize, widerlegt und nur die im Gewebe eintretende Bildung von Chromsilber erscheint für das Zustandekommen der Imprägnation von Bedeutung.

2. Das Ergebnis dieses invertierten Verfahrens weicht von dem der üblichen *Golgi*-Methode dahin ab, daß nicht die Nerven- und Gliazellen, sondern fast nur Gliaelemente, und zwar eine bestimmte Gliazellart zur Darstellung gelangen. Diese Gliazellen stehen der von *Hortega* beschriebenen Oligodendroglia sehr nahe, ja gehören ihr vielleicht ganz an, wenn auch die Verschiedenartigkeit der Verfahren mancherlei, wahrscheinlich untergeordnete Verschiedenheiten bedingt. Die von mir beobachteten Zellen finden sich in der grauen und weißen Substanz und stimmen hier wie dort in den wesentlichen Merkmalen überein, doch zeigen sie, der geweblichen Anordnung ihrer Lagestätte entsprechend, eine etwas abweichende Gestalt, indem ihre Fortsätze in der grauen Substanz nach allen Seiten, in der weißen Substanz nur in der Richtung des Verlaufes der Markstränge ausstrahlen. Es fällt auch auf, daß die Fortsätze dieser Zellen, ähnlich wie bei der Astroglia, innerhalb der Rinde geringere Ausmaße besitzen als in der weißen Substanz.

Literaturverzeichnis.

Bubenaite: Z. Mikrosk. 46 (1929). — *Hortega*: Bol. real Soc. españ. Histor. natural. 21 (1921). — Mem. real Soc. españ. Histor. natural. 14 (1928). — *Kallius*: *Golgi*-Methode in *Krause*: Mikroskopische Technik, 3. Aufl. Bd. 2. 1926. — *Retzius*: Biologische Untersuchungen. Neue Folge. Jena: Gustav Fischer 1894. — *Roussy-Lhermitte-Oberling*: Rev. neur. 1 (1930). — *Spielmeyer*: Histopathologie des Nervensystems. Berlin: Julius Springer 1922.