

XXV.

Untersuchungen über die Unzuverlässigkeit der Versilberungsmethode für die Histologie der Gelenke.

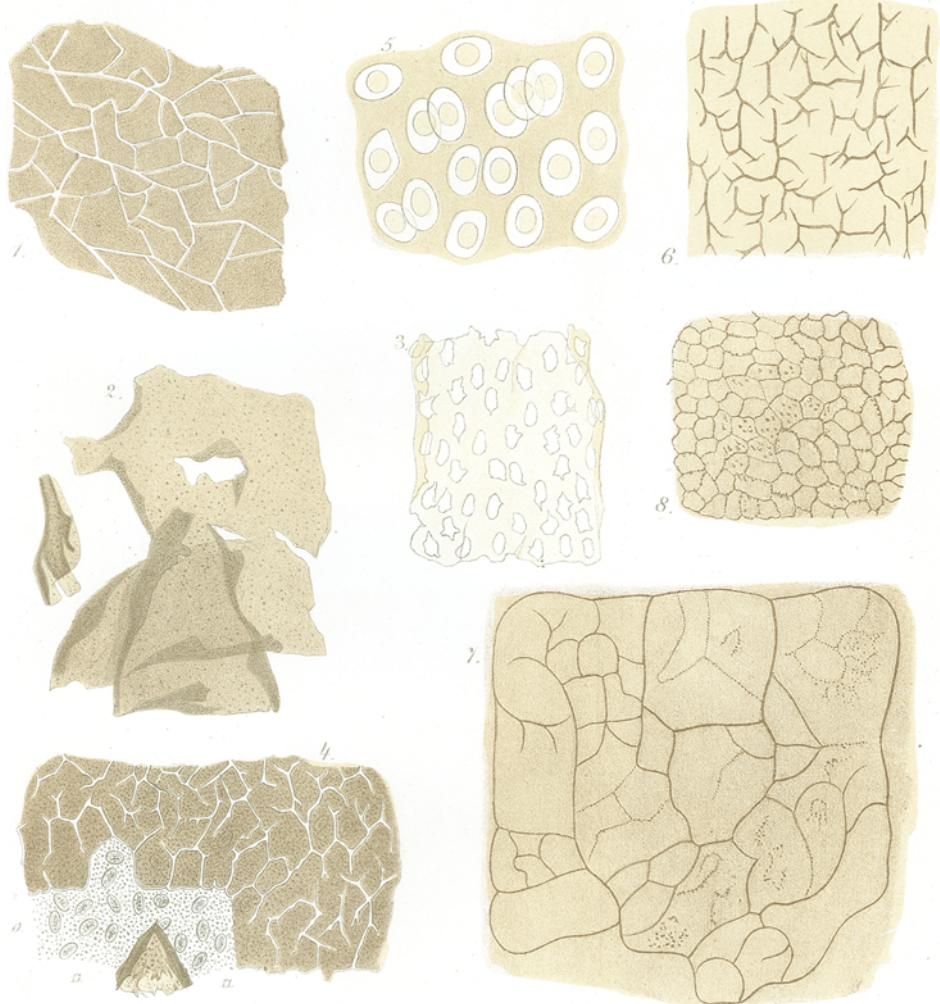
Von Dr. H. Tillmanns,
Privatdocent für Chirurgie an der Universität Leipzig.

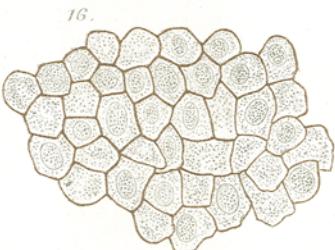
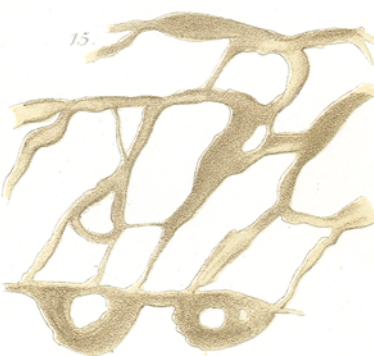
(Hierzu Taf. XII.—XIII.)

Die nachfolgenden Untersuchungen sind unternommen worden, um mich über den Werth der Versilberungsmethode für die Histologie der Gelenke aufzuklären. Zwar hatte ich mich schon früher bei der histologischen Untersuchung der Synovialmembran, der Synovialzotten¹⁾ etc. mit der vorliegenden Frage eingehend beschäftigt und besonders auch durch vorgenommene Controlluntersuchungen mir ein festes Urtheil über die Unzuverlässigkeit der Silberbilder an der Innenfläche der Gelenkkapseln gebildet. Neuerdings habe ich aber diese Frage nochmals einer genaueren Untersuchung unterworfen, um die Richtigkeit früherer Angaben auch nach dieser Seite hin darzuthun. —

Da bekanntlich Argent. nitr., wie andere Metallsalze, mit Eiweisslösungen, also auch mit der eiweissreichen Synovia, Häutchen bildet, so musste man schon auf Grund dieser Thatsache zu der Vermuthung geführt werden, ob nicht deshalb die an der Innenfläche der Gelenkkapseln entstehenden Silberbilder leicht zu Trugschlüssen Veranlassung geben. Ja diese Erwägungen erscheinen um so berechtigter, wenn man ferner bedenkt, dass die Synovia der Synovialintima nicht blos oberflächlich aufgelagert ist, sondern das Gewebe mehr oder weniger diffus durchsetzt, so dass ein Entfernen derselben durch leichtes Abspülen mit Wasser nicht vollständig möglich ist. Dadurch müssen die Schwierigkeiten, welche einer zuverlässigen Anwendung der Silberbehandlung bei der histologischen Untersuchung der Gelenke entgegenstehen, in

¹⁾ Beiträge zur Histologie der Gelenke. Max Schultze's Arch. für mikroskop. Anatomie. Bd. 10. S. 401—440.





leicht begreiflicher Weise wachsen und um so eher allerlei Täuschungen Vorschub leisten.

Somit liess sich schon nach diesen theoretischen Erwägungen voraussetzen, dass die Gelenke sich bezüglich der zuverlässigen Anwendung der Versilberungsmethode zum Mindesten in einer viel ungünstigeren Lage befinden, als die übrigen serösen Hämpe und Höhlen, überhaupt als andere Gewebsarten, bei welchen die Versilberung mit Recht in wohl verdientem Ansehen steht und in den Händen angesehenster Forscher unsere histologischen Kenntnisse so rasch gefördert hat. Es kann hier deshalb auch nicht meine Absicht sein, den Werth der Versilberungsmethode im Allgemeinen herabzusetzen, im Gegentheil, ich bin mir der Brauchbarkeit derselben für die histologische Untersuchung anderer Gewebe (Pleura, Peritoneum, Gefäße etc.) wohl bewusst; ich werde aber zu beweisen versuchen, dass für die histologische Untersuchung der Gelenke die Versilberungsmethode unter der Einwirkung rein localer Ursachen durchaus unzuverlässige Resultate giebt. Und vielleicht darf ich annehmen, dass meine Angaben auch überhaupt für die allgemeine Behandlung der Gewebe mit Arg. nitr. nicht ohne Interesse sind.

Hartmann¹⁾ und Harpeck²⁾ waren meines Wissens die ersten, welche gegen die Zuverlässigkeit der Silberbilder beachtenswerthe Einwürfe machten. Hartmann hatte unter Anderem mittelst Silberlösungen Endothelzeichnungen neben dem Präparat auf dem nackten Objectträger, auf dünnen Ueberzügen von Colloidum, Tragant und Gummi arab. hervorgebracht. Doch bin ich der Meinung, dass man aus der Entstehung dieser zufälligen Bildungen keinen ernstgemeinten Vorwurf gegen die Zuverlässigkeit der wirklich endothelialen, so regelmässig verlaufenden Silberlinien ableiten kann. Sodann war es besonders mein verehrter, der Wissenschaft leider so frühe entrissene Lehrer Schweigger-Seidel³⁾, welcher die Behandlung der thierischen Gewebe mit Arg. nitr. in eingehendster Weise kritisierte. Leider besitzen wir keine ausführ-

¹⁾ Reichert's Archiv 1864.

²⁾ Ibidem.

³⁾ Die Behandlung der thierischen Gewebe mit Arg. nitr. Ueber Epithelien sowie über die v. Recklinghausen'schen Saftkanälchen, als die vermeintlichen Wurzeln der Lymphgefässe. — Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig 1866. S. 150.

iche Arbeit Schweigger-Seidel's über die Histologie der Gelenke. In der eben erwähnten Kritik der Silberbehandlungsmethode discutirt Schweigger-Seidel unter Anderem auch jene Resultate, welche Hüter vermittelst der Anwendung 1procentiger Silberlösungen an den Synovialmembranen erhalten hatte und macht sehr gewichtige Einwürfe gegen die Richtigkeit derselben geltend. Bekanntlich war der letztgenannte Autor mit Hülfe der Versilberungsmethode (1procentige Lösung) zu dem Resultat gekommen, dass die Innenfläche der Gelenkkapseln kein Endothel besitze, dass vielmehr ein „keratoides“ und „epithelioides“ Bindegewebe die Synovialintima aufbaue. Die Blutgefässe sollten vorzugsweise nackt zwischen den Zellen der Synovialintima liegen. Diese Angaben wies Schweigger-Seidel als unhaltbar zurück und zeigte, dass die „keratoiden“ Silberbilder Kunstprodukte seien, entstanden durch Niederschläge des Silbers in der Synovia, welche Hüter, wie er selbst sagt, vor der Versilberung „in der Regel“ nicht abspülte¹). Nach der Ansicht von Schweigger-Seidel ist an der Innenfläche der Gelenkkapseln ein continuirliches kernhaltiges Endothelhäutchen vorhanden, dessen Existenz aber mittelst der Silberbehandlungsmethode nicht immer darzuthun ist. Von der Richtigkeit dieser Angaben Schweigger-Seidel's habe ich mich durch eine methodische Untersuchung von menschlichen und thierischen Gelenken aus den verschiedensten Lebensperioden (Foetus, Neugeborene, jugendliche und erwachsene Individuen) in entschiedener Weise überzeugen können (l. c.). Sodann hatte ich Gelegenheit, die Zuverlässigkeit meiner Angaben zu controlliren bei Untersuchungen, welche ich während des letzten Jahres und früher über die Lymphgefässe der Gelenke im hiesigen physiologischen Institute unter Leitung von Herrn Prof. C. Ludwig angestellt und vor Kurzem mitgetheilt habe²). Und durch die nachfolgenden Untersuchungen bin ich noch mehr in den Stand gesetzt worden, die Unzuverlässigkeit der Versilberungsmethode für die Histologie der Gelenke und die Unrichtigkeit der damit gewonnenen Resultate in überzeugender Weise darzuthun. —

Gehen wir von der schon oben erwähnten und bekannten Thatsache aus, dass das Arg. nitric. unter bestimmten

¹) Dieses Archiv Bd. XXXVI. S. 40.

²) Die Lymphgefässe der Gelenke. Archiv für mikroskop. Anatomie Bd. XII.

Verhältnissen mit Eiweisslösungen Häutchen bildet. Diese Eigenschaft hat früher Schweigger- Seidel¹⁾ bereits betont. Auch Verbindungen des Baryts, des Bleies etc. bilden Häutchen. Taucht man einen Glasstab in essigsaurer Bleilösung und setzt denselben der Einwirkung von Schwefelwasserstoff aus, so bildet sich sofort ein zartes, den Glasstab überziehendes amorphes Häutchen von Schwefelblei. Ebenso entsteht sofort ein Häutchen von Bleioxyd bei der Einwirkung von Ammoniak auf essigsaurer Bleilösung. Und ferner: ein Tropfen einer Barytlösung bedeckt sich auf einem Objectträger, besonders nach leichtem Anhauchen, mit einem theils amorphen, theils krystallinischen Häutchen von kohlensaurem Baryt. In derselben Weise nun bildet das Arg. nitric. besonders mit dickflüssigen Eiweisslösungen, wie die Synovia, ganz exquisite Häutchen von mehr oder minder grosser Zartheit. Natürlich sind es vorzugsweise die starken (1prozentigen) Silberlösungen, welche die exquisitesten Häutchen von Silberaluminat sofort zeigen. Setzt man den Tropfen einer 1prozentigen oder auch $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{8}$ prozentigen Silberlösung auf dem Objectträger oder im Reagenzgläschen zu Synovia zu, so kann man sich augenblicklich von der Entstehung dieser Häutchen überzeugen. Dieselben sind, wie auch Schweigger- Seidel angiebt, mittelst HO abspülbar, gegen Kali und Essigsäure resistent. Silberaluminat, Jod-, Brom- und Chlorsilber lösen sich bekanntlich in **concentrirter** Lösung von unterschwefligsaurem Natron, eine Thatsache, welche ja in der Photographie ausgedehnte Anwendung findet, um das reducirete Silberbild zu fixiren. Auch unsere Silberhäutchen lösen sich in der genannten Lösung und werden wir auf diesen wichtigen Umstand weiter unten noch häufiger zurückkommen.

Das Aussehen der auf dem Objectträger oder im Reagenzglas entstandenen Silber-Synovia-Häutchen ist anfangs homogen weiss, sie bräunen sich aber im Lichte sehr rasch und zeigen dann in Alkohol, in Glycerin u. s. w. mancherlei Veränderungen. Wahrscheinlich in Folge der Wasserverdunstung treten Schrumpfungsprozesse auf, man beobachtet dann allerhand Zeichnungen, z. B. Spaltungen (cf. Fig. 1). In anderen Fällen sieht man statt dieser wirklichen Spalten Liniensysteme auftreten, welche nicht selten eine gewisse Regelmässigkeit darbieten, ja hier und da an

1) l. c. S. 154.

endothiale Silberzeichnungen erinnern. Das Auftreten dieser scheinbar so regelmässigen Spalten und Linien hat nichts Ueberraschendes, wie es vielleicht scheinen könnte, die Chemiker beobachteten derartige Phänomene in Folge der Verdunstung, Schrumpfung z. B. beim Trocknen breiiger Niederschläge oder auch beim Erkalten bis zum Flüssigen erhitzter chemischer Substanzen ganz gewöhnlich. So ist es wohl leicht verständlich, dass solche Silberhäutchen zu allerlei Trugschlüssen Veranlassung geben müssen, wenn sie auf der Innenfläche der Synovialmembran, auf der Gelenkknorpelfläche auftreten. Unter diesen Umständen vereinigen sich die eventuell auftretenden Veränderungen des aufgelagerten Silber-Synovia-Häutchens mit der mehr oder weniger sichtbaren Gewebsstructur der knorpeligen oder synovialen Unterlage zu einem Bilde, welches, wie wir weiter unten sehen werden, weit davon entfernt ist, dem Beobachter von dem Bau der betreffenden Stelle der Synovialintima, des Knorpels etc. eine **richtige** Vorstellung zu geben. Und in der That entstehen unsere Silber-Synovia-Häutchen von exquisitester Form, wenn wir Schnitte von der unteren Randzone der Patella, von anderen Stellen der Synovialmembran, von der Oberfläche der Gelenkknorpel mittelst 1 procentiger oder $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ procentiger Silberlösung versilbern, ohne die Synovia vorher abzuspülen. Das Silberhäutchen ist um so consistenter, je stärker die Silberlösung und je dicker die den Schnitt bedeckende Schicht der Synovia ist.

Was die von mir angewandte Versilberungsmethode anlangt, so bemerke ich nur, dass ich, unter Beobachtung der sonstigen bekannten Cautelen, meist in derselben Weise verfuhr, wie z. B. Hüter, d. h. ich benutzte 1 prozentige Silberlösungen, daneben aber auch schwächere ($\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ procentige); die Synovia wurde vor der Anwendung des Arg. nitr. in der Regel nicht abgespült. Nach der Einwirkung des letzteren kann man sofort das Präparat mit HO abspülen, ohne etwa das Entstehen eines Silberhäutchens dadurch zu verhindern. Ebenso habe ich auch vor der Versilberung die Synovia in HO abzuwaschen versucht und trotzdem traten Silberhäutchen auf der Synovialintima auf. Es spricht diese That-sache für die Richtigkeit dessen, was ich oben sagte, dass nehmlich die Synovia der Synovialintima mehr oder minder fest imprägnirt ist und sich nicht so leicht entfernen lässt. Die schleimige Beschaffenheit des Synovialendothels resultiert wohl ebenfalls aus dieser

Thatsache. Wird übrigens die Innenfläche der Gelenkkapsel in zu energischer Weise abgewaschen, dann tritt wieder leicht die Gefahr auf, dass sich das Endothel hier und da von seiner Unterlage ablöst.

Nach der Versilberung wurde das Präparat sofort in Glycerin untersucht, oder 24 St. in Alkohol absolut. (im Dunkeln) aufbewahrt, um dann mit Hämatoxylin gefärbt zu werden. Als Untersuchungsmaterial dienten mir, wie gesagt, vorzugsweise Gelenke von neu geborenen und älteren Kindern, weil mir Hüter¹⁾ gerade erstere für die Versilberung als ganz besonders geeignet empfohlen hat. So dann benutzte ich menschliche Gelenke von Erwachsenen. Doch kann ich den Vorzug, welchen das von menschlichen Leichen entnommene Untersuchungsmaterial vor anderem haben soll, nicht zugeben. Gelenke von frisch getöteten Hunden, Kaninchen etc. möchte ich aus leicht begreiflichen Gründen vorziehen. Doch betone ich, dass ich bei den vorstehenden Untersuchungen mein Untersuchungsmaterial nur möglichst frischen menschlichen Leichen entnahm, d. h. solchen, welche 6—12 Stunden, jedenfalls noch nicht 24 St. alt waren, wie es v. Recklinghausen für die Versilberung mit Recht vorgeschrieben hat. Nach der Ansicht Hüter's ist es nicht nothwendig, diese Zeitgrenze bezüglich der Brauchbarkeit des Untersuchungsmaterials festzuhalten, da er meint, dass man „ohne Bedenken“ über die von v. Recklinghausen gegebene Vorschrift hinausgehen könne. Hüter²⁾ behauptet sogar, „Leichen von 2 bis 3 Tagen, welche nicht gefroren gewesen sind, liefern noch ein brauchbares Material“, „doch“, fügt er hinzu, „werden die Bilder um so schöner, je frischer die Leichen sind, und sobald der Knorpel beginnt, blutig durchtränkt zu werden, werden die Präparate völlig unbrauchbar“. —

Gehen wir nun zur Schilderung der bei der Versilberung der Synovialmembranen und der Knorpelflächen auftretenden Silberalbuminathäutchen über!

Dieselben sind hinsichtlich ihres Aussehens sehr verschieden. Zunächst sieht man homogene weisse oder leicht gebräunte, oder dunkelbraune, mehr schwarze Bildungen, je nach der Dicke des Häutchens und der am Licht stattgehabten Reduction des Silbers

¹⁾ Deutsche Zeitschrift für Chirurgie. Bd. VI. S. 295.

²⁾ Dieses Archiv Bd. XXXVI. S. 40.

(Fig. 2—4). In diesen Häutchen von mehr gleichmässiger Farbe gewahrt man oft keinerlei besondere Linien, Spalten etc. (Fig. 2). Der Gehalt an Körnchen reducirten Silbers ist sehr verschieden. Sie fehlen oft ganz und man sieht nur eine mehr gleichmässig braune Farbe (Fig. 1 und Fig. 4) oder aber es liegen kleinste Körnchen reducirten Silbers regellos durch das Präparat zerstreut (Fig. 2). Ist das Häutchen von ansehnlicher Dicke, so bedeckt es vollständig das unterliegende Gewebe. Unter solchen Umständen tritt nur da, wo das Silberhäutchen zufällig von der Unterlage abgehoben ist, die Structur der letzteren hervor (Fig. 4). Solche Bilder erhält man auch, wenn man Schnitte nur zum Theil versilbert und nachträglich mit Hämatoxylin färbt; man sieht dann neben dem Silberbild die wirkliche Structur, z. B. der Synovialintima und kann beide mit einander vergleichen.

Ist das aufgelagerte Silberhäutchen dagegen weniger dick, dann lässt es nicht selten die Knorpelzellen, oder die Kerne des Endothelhäutchens, Gefässe etc. durchschimmern. Ja an manchen Präparaten gewinnt es den Anschein, als ob die Kerne des Endothelhäutchens, die Knorpelzellen, durch das dünne, aufgelagerte Silberhäutchen frei hervorragen (Fig. 5).

In den das Präparat bedeckenden Silber-Eiweisshäutchen beobachtet man nun ebenfalls allerhand secundäre Veränderungen, gleichviel ob erstere auf dem Knorpel oder auf der Synovialintima liegen. So sah ich auch hier jene oben schon erwähnten Spalten, welche mit einer gewissen Regelmässigkeit angeordnet sind (Fig. 4). Die Spalten sind sehr scharf und stellen nicht etwa regellos verlaufende Einrisse im Silberhäutchen dar. Wie oben bemerkt, glaube ich die Entstehung dieser Spalten auf secundäre Schrumpfung des Präparates in Alkohol, in Glycerin zurückzuführen zu dürfen. Man beobachtet, wie bereits erwähnt, ähnliche Schrumpfungsphänomene auch unter anderen oben angedeuteten Verhältnissen, ferner z. B. gelegentlich beim Schrumpfen beliebiger mikroskopischer Präparate. Uebrigens ist die Regelmässigkeit der Spalten im Silberhäutchen durchaus nicht immer so deutlich ausgesprochen, man sieht auch regellos verlaufende. Jedenfalls ist aber leicht begreiflich, dass solche Spalten des Silberhäutchens zu Irrthümern führen müssen, besonders wenn die Dünneit der aufgelagerten Silber-Eiweisschicht gestattet, dass die unterliegenden Knorpelzellen, die Kerne des Synovialen-

dothels, Theile von Blut- und Lymphgefässen, durchschimmern. Wir werden weiter unten sehen, dass hierdurch „keratoide“ Silberzeichnungen entstehen können. — In anderen Fällen sieht man in dem Silberhäutchen statt der Spalten netzförmige Zeichnungen von dunkleren Schattirungen, von Linien (Fig. 6, 7, 8). Man beobachtet z. B. mitten auf dem **Gelenkknorpel** Linien, welche kleine und grössere zusammenhängende Netzwerke bilden, so dass sie stellenweise an endotheliale Silberzeichnungen erinnern (Fig. 7, 8), oder aber Bilder, wie sie Fig. 6 wiedergibt, wo das Liniennetzwerk zum Theil nicht vollständig geschlossen ist. Alle diese Liniensysteme liegen im oder scheinbar etwas erhaben über dem Silberhäutchen und kommen, wie gesagt, auch an Stellen vor, wo kein Endothel nachweisbar ist (Knorpel). Je nach der Dicke der Silber-Eiweisschicht sieht man in der Tiefe verschieden deutlich die Structur der Gewebsunterlage. Nicht selten kommt es vor, dass diese Liniennetzwerke z. B. auf der Synovialintima über sog. „keratoiden“ Silberbildern liegen. Was die Entstehung dieser Linien, dieser dunkleren Schattirungen anlangt, so sind sie auch hier einmal durch Schrumpfungen, Faltungen des Silberhäutchens bedingt (Fig. 6). In manchen Fällen sieht man die Linien deutlich aus Silberkörnchen zusammengesetzt (Fig. 7, 8). Wie es kommt, dass sich hier das reducire Silber in der Form solcher Linien ausscheidet und zu solchen Bildern Veranlassung giebt, weiss ich nicht anzugeben. Ich erinnerte oben daran, dass z. B. beim Erkalten bis zum Flüssigen erhitzter chemischer Substanzen ähnliche Bilder auftreten, wo sich dann gelegentlich die betreffende chemische Substanz in der Form solcher Liniennetzwerke anordnet, wie es das reducire Silber im Silberhäutchen ebenfalls thut. Nach der Ansicht der Chemiker sollen derartige Bilder bei Schrumpfungen, beim Erkalten erhitzter Massen überhaupt ganz gewöhnliche Phänomene sein. Dass die Beschaffenheit der unterliegenden Gewebsstructur zu dem Auftreten dieser Bilder durchaus nicht in causalem Connex steht, wie die Gegenwart des Endothels bei den richtigen Silber-Endothelzeichnungen, geht daraus hervor, dass ähnliche Bilder entstehen, wenn man auf dem Objectträger zu *Synovia* Silberlösung zusetzt. Sodann spricht Folgendes für die Richtigkeit dieser Anschauung.

Netzwerke mit einer solchen Regelmässigkeit, wie in Fig. 8, habe ich gar nicht selten auf dem Knorpel gesehen, so dass da-

durch Endothelzeichnungen in der Mitte der Patella z. B. vorgetäuscht wurden, wo, wie die Controlluntersuchung mittelst Hämatoxylin und unterschweifigsaurem Natron ergab, gar kein Endothel vorhanden war. Diese Kunstprodukte lassen sich aber von richtigen Silber-Endothelzeichnungen (Fig. 16) bei näherer Prüfung sehr wohl unterscheiden; wir werden hierauf noch weiter unten zurückkommen. Immerhin aber verdienen sie gewiss unsere Beachtung und wäre es sehr wünschenswerth eine sichere Erklärung zu besitzen, wie es kommt, dass die Silberkörnchen sich gelegentlich in der Form von solchen Figuren ablagern. Auf Grund meiner Beobachtungen zweifle ich deshalb auch nicht an der Richtigkeit der oben erwähnten Angaben von Hartmann, dass endothelähnliche Silberzeichnungen auch auf dünnen Ueberzügen von Traganth, Collodium etc. auftreten, aber ich bin weit entfernt, daraus den Schluss zu ziehen, dass die Richtigkeit der wahren endothelialen Silberbilder damit auch in Zweifel gezogen werden könnte.

Von der grössten Wichtigkeit ist nun und spricht für die Richtigkeit der bisher gegebenen Darstellung, dass sich die Silber-Synovia-Häutchen von der Unterlage isoliren lassen (Fig. 2, 3). Dadurch lässt sich sowohl auf dem Knorpel, als auf der Synovialintima feststellen, dass wir es in der That mit aufgelagerten Häutchen zu thun haben. Am besten gelingt die Isolirung des Silberhäutchens, wenn man die Silberpräparate einige Tage in Glycerin maceriren lässt. Fügt man auf dem Objectträger einen Tropfen nicht ganz concentrirter Lösung von unterschweifigsaurem Natron zu, so wird dadurch das Isoliren des Häutchens noch mehr erleichtert. Durch eine blos momentane Einwirkung nicht ganz concentrirter Lösung von unterschweifigsaurem Natron wird das Häutchen von Silberaluminat eben nicht aufgelöst, sondern seine Isolirung von der Unterlage nur erleichtert. Auf diese Weise gelingt es, durch leichtes Abschaben Theile des Häutchens zu isoliren (Fig. 2, 3) und die normale, wieder vollständig sichtbar gemachte Structur der Unterlage mittelst Hämatoxylin zu färben. Die von der Synovialintima isolirten Silberhäutchen boten in einem Falle das Aussehen dar, wie es Fig. 3 wiedergiebt. Man sah in dem zarten weiss-braunen Silberhäutchen längliche, runde, mehr oder weniger scharf umschriebene Lücken. Es scheint mir wahrscheinlich, dass diese Lücken den Kernen des Endothelhäutchens entsprechen, mit welchen sie hin-

sichtlich der Grösse sehr übereinstimmen. Es ist möglich, dass die Endothelkerne durch das zarte Silberhäutchen vollständig hindurchragten, wie wir es oben bereits vermuteten. Wird das Silberhäutchen nun entfernt, so treten die Lücken, in welchen die Kerne der Endothelien lagerten, zu Tage. Oder aber es ist denkbar, dass die Kerne nicht direct frei durch das Silberhäutchen hervorragten, sondern dass auch sie von der Silber-Eiweisschicht leicht bedeckt wurden. Es ist möglich, dass dieser letztere Theil des Silberhäutchens an seiner solideren Unterlage, an den Kernen, fester anhaftet und somit beim Isoliren des Häutchens zurückbleibt. —

Will man dagegen das Silberbild auf dem Knorpel, auf der Synovialintima vollständig zum Verschwinden bringen, so verdient die Anwendung von concentrirter Lösung unterschweflgsauren Natrons ganz besonders Empfehlung. Bekanntlich löst sich Silberalbuminat auch in concentrirter Lösung von Jodkali und so habe ich dieses zuerst angewandt, um das Silber-Albuminathäutchen zum Verschwinden zu bringen. Doch ist Jodkali durchaus nicht zu empfehlen, weil die Präparate allzu sehr schrumpfen. Zuweilen gelingt es aber, ganz befriedigende Resultate zu erzielen. Ganz ausgezeichnete Dienste leistet dagegen unterschweflgsaures Natron in concentrirter Lösung. Die vorher genau untersuchten versilberten Schnitte liess ich gewöhnlich 40—45 Min. in der Lösung. Sobald man den makroskopisch bräunlich gefärbten Silberschnitt in die Lösung legt, so beobachtet man sofort ein Hellerwerden des Präparates. Nach etwa 30—45 Min. ist dann der Schnitt mehr oder weniger vollständig grauweiss, besonders wenn man ihn in der Lösung einige Male hin- und herschüttelt und ihn schliesslich in HO ausgewaschen hat. Die Präparate lassen sich sodann in Hämatoxylin färben. So werden die Silberbilder ausgezeichnet kontrollirt, es gelang so, das Endothelhäutchen wieder sichtbar zu machen und von der Unterlage zu isoliren, wo kurz vorher noch „keratoide“ Silberbilder vorhanden waren.

Bekanntlich löst unterschweflgsaures Natron ausser Silberalbuminat auch Jod-, Brom- und Chlorsilber, das reducire Silber aber nicht.

Doch schwindet auch letzteres, wenn man die versilberten Schnitte in unterschweflgsaures Natron legt. Ich kann mir diese Thatsache nicht anders erklären, als durch die Annahme, dass die

reducirten Silberkörnchen, welche in dem Silberalbuminat-Häutchen liegen, bei der Lösung des letzteren ebenfalls ausfallen und schliesslich beim Abwaschen des Präparates in HO ausgewaschen werden. An Präparaten, an welchen man die concentrirte Lösung des unterschweigsauren Natrons nicht lange genug hat einwirken lassen, sieht man nicht selten das in Falten von der Unterlage abgehobene Silberhäutchen hier und da noch aufliegen und wenn das Präparat nicht genügend ausgewaschen ist, so beobachtet man an denjenigen Stellen, wo das Silberhäutchen verschwunden ist, feinste Körnchen reducirten Silbers im Gewebe liegen.

Nach diesen mehr allgemeinen Bemerkungen theile ich noch einige speciellere Untersuchungsresultate besonders bezüglich der Entstehung der sog. keratoiden Silberbilder mit.

Wie ich bereits oben erwähnte, hatte ich in meiner früheren Mittheilung die Ansicht vertreten, dass an der Innenfläche der Synovialmembranen eine continuirliche Endothelschicht vorhanden sei und dass die sogenannten „keratoiden“ Silberbilder Kunstproducte seien.

Dass die keratoiden Silberzeichnungen nichts mit der Structur der Gewebsunterlage zu thun haben, dürfte aus Folgendem ganz besonders deutlich hervorgehen. Zunächst entstehen diese Zeichnungen sowohl auf der endothellosen Fläche des Gelenkknorpels (Fig. 9) als auch auf der mit Endothel bedeckten Innenfläche der Synovialmembran (Fig. 11). Damit ist gegen die Zuverlässigkeit dieser Silberzeichnungen ein sehr schwer wiegender Einwand gemacht. Auf dem Knorpel, z. B. auf der Mitte der Patella werden so prägnante keratoide Silberzeichnungen beobachtet, dass man wohl nichts gegen dieselben wird einwenden können (Fig. 9). Es ist mir nicht bewusst, dass eine derartige wirklich vorhandene Structur der hyalinen Knorpeloberfläche bei Kindern beschrieben worden wäre. Doch nicht blos bei Kindern, bei Erwachsenen erhält man dieselben Bilder. Man braucht nicht etwa 1procentige Silberlösungen anzuwenden, vorstehende Abbildung (Fig. 9) ist mittelst $\frac{1}{4}$ procentiger Lösung gewonnen. — Diese keratoiden Silberbilder scheinen nun zu den oberflächlichen Knorpelzellen, wie wir es oben auch für die Kerne des Endothelhäutchens angegeben haben, in Beziehung zu stehen. Färbt man die Präparate mit Hämatoxylin, so sieht man in den weissen Räumen

Kerne auftreten. Bei genauerer Untersuchung der nicht gefärbten keratoiden Silberbilder auf der Knorpeloberfläche sieht man in der Mitte der weissen Räume eine dunklere Schattirung, die zum Theil wahrscheinlich dem Kerne der Knorpelzellen entspricht (Fig. 9). Deutlich gekernte Knorpelzellen sieht man in Fig. 5, wo normale Knorpelzellen, wie bemerkt, durch das Silberhäutchen hervorragen. Auch in Fig. 9b sind keratoide Bildungen mit deutlichen Kernen sichtbar. Dass in den keratoiden Bildungen Kerne nicht immer deutlich sichtbar sind, wie in Fig. 9, liegt wahrscheinlich daran, dass die Silberlösung das Gewebe gleichmässig leicht gefärbt hat, so dass die Kerne dadurch verdeckt werden. Zuweilen gelingt es, die Stadien der Entstehung dieser keratoiden Formen auf dem Knorpel an ein und demselben Präparat zu verfolgen. Man beobachtet Knorpelzellen von gewöhnlichem Aussehen, sie liegen in einem gleichmässig braun gefärbten Grunde und scheinen durch das Silberhäutchen frei hervorzuragen (Fig. 5). Sodann sieht man statt dieser glattrandigen Knorpelzellen zackige Bildungen ohne oder mit deutlich anastomosirenden Fortsätzen (Fig. 9b). Die prägnantesten Formen stellt dann Fig. 9 dar.

Bringt man nun das Silberbild durch unterschwefligsaures Natron zum Verschwinden und färbt das ent-silbernde Präparat mit Hämatoxylin, so zeigt sich wieder die gewöhnliche, vor der Versilberung vorhandene Structur der Knorpeloberfläche, man sieht nichts mehr von dem eben beschriebenen keratoiden Canalsystem (Fig. 10).

Dieselben keratoiden Zeichnungen entstehen, wie bemerkt, auch auf der Innenfläche der Synovialmembran (Fig. 11), auch hier lässt sich in derselben Weise, wie beim Knorpel, zeigen, dass die keratoiden Silberbilder reine Kunstproducte sind. Das Endothelhäutchen tritt nach der Entsilberung der Präparate in unterschwefligsaurem Natron wieder zu Tage und lässt sich von der Unterlage isoliren (Fig. 13). Färbt man versilbernde Präparate mit „keratoiden“ Zeichnungen nachträglich mit Hämatoxylin, so treten die Kerne des Endothelhäutchens hervor. Man sieht dann in den weissen Räumen einen oder mehrere Kerne; bei Gegenwart mehrerer Kerne in den keratoiden Zeichnungen sind sie zuweilen nur unvollständig sichtbar. Doch auch an ungefärbten

Silberpräparaten mit keratoiden Zeichnungen treten die Endothelkerne, mehr oder weniger mit Silber imprägnirt, hervor (Fig. 11). Versilbert man die Synovialintima z. B. auf den Seitenflächen der Femurcondylen, oder sonst irgendwo nur theilweise, bis zu einer bestimmten Stelle und bemüht man sich eine möglichst scharfe Grenze zwischen den versilberten und nicht versilberten Partien zu erhalten, dann kann man nicht ohne Schwierigkeit Bilder erhalten, wie Fig. 12 angiebt und wie sie in ähnlicher Weise Schweigger-Seidel mittheilte. Legt man das Präparat sofort nach der Versilberung 24 Stunden lang in Alkohol und färbt die Schnitte von der Silbergrenze mit Hämatoxylin (Fig. 12), so sieht man dort, wo die erhaltene keratoide Silberzeichnung aufhört, die gewöhnlichen Kerne des Endothelhäutchens hervortreten. Und durch Hämatoxylin gefärbte Kerne von derselben Form und Grösse liegen auch in den weissen keratoiden Räumen des Silberbildes. Entfernt man durch concentrirte Lösung von unterschweifsaurem Natron die Eiweiss-Silberschicht, dann sieht man in der ganzen Ausdehnung des Präparates die Endothelkerne, die keratoiden Silberzeichnungen sind verschwunden (Fig. 13). Wo letztere eben noch vorhanden waren, da beobachtet man jetzt nach der Entsilberung nur Endothelkerne.

Wie entstehen diese keratoiden Silberzeichnungen, d. h. diese weissen, sternförmigen, mit einander communicirenden Lücken in dem aufgelagerten Silberhäutchen? Dass dieselben in der That nur letzterem angehören und nichts mit der wahren Structur der Knorpel- und Synovialfläche zu thun haben, das glaube ich genügend bewiesen zu haben.

Bezüglich der Entstehung der keratoiden Silberbilder auf der Synovialinnenfläche hat bekanntlich Schweigger-Seidel geltend gemacht, dass wahrscheinlich die Kerne des Endothelhäutchens durch das Silberhäutchen hervorragen und dass damit Lücken gegeben sind, welche sich nur etwas zu vergrössern und durch Spalten zu verbinden brauchten, um die „keratoiden“ Zeichnungen zu effectuiren. Ich glaube, dass diese Erklärung die richtige ist. Denn dass in der That die Kerne des Endothelhäutchens durch das Silberhäutchen hervorragen, habe ich oben durch die Isolirung eines solchen, mit Lücken versehenen Silber-Albuminat-Häutchens wahrscheinlich gemacht (Fig. 3). Dazu kommt ferner noch die That-

sache, dass ich in Silber-Synovia-Häutchen ohne Gewebsunterlage, welche auf dem Objectträger oder im Reagenzglase entstanden waren, wie oben erwähnt, Spalten beobachtet habe (Fig. 1).

Und für die Entstehung der keratoiden Bilder auf den Knorpelflächen möchte ich genau dieselbe Entstehungsweise gelten lassen. Dabei muss ich aber hervorheben, dass ich nicht glaube, dass die gegebene Erklärung die alleinige und unumstösslich richtige ist. Im Gegentheil, ich gebe sie nur mit aller Reserve und bin mir wohl bewusst, dass bei der Entstehung und Transformation von Kunstproducten gar mancherlei Einflüsse sich geltend machen, deren vollständige Analyse unmöglich ist. —

Doch auf der Synovialintima beobachtet man noch Silberbilder, welche man als eine zweite Art keratoider Zeichnungen auffassen kann. Diese letzteren sah ich auf der nackten Knorpeloberfläche niemals. Das Aussehen dieser, sagen wir zweiten Form keratoider Zeichnung (Fig. 14), ist ganz verschieden von dem zuerst erwähnten gewöhnlichen keratoiden Silberbilde, welches auf Knorpel- und Synovialflächen vorkommt (Fig. 9, 11, 12). Auch bei der zweiten Form des keratoiden Silberbildes haben wir es mit einer aufgelagerten Eiweiss-Silberschicht zu thun, welche das Endothel verdeckt. Nach meinen Untersuchungen über die Lymphgefässe bin ich geneigt anzunehmen, dass die helleren Räume in dem dunkleren braunen Grund in der That Lymphbahnen sind, welche durch das hier verschieden dicke und verschieden durchsichtige Silberhäutchen durchschimmern. Wenn man sich auf die subendothelialen Lymphgefässe der Synovialis, wie ich sie mir durch Silberinjection dargestellt habe (Fig. 15), ein Silber-Eiweisshäutchen von variabler Dicke und verschiedener Durchsichtigkeit denkt, so dürfte dadurch die Möglichkeit gegeben sein, dass Bilder, wie die in Fig. 14 entstehen. Dass in der That auch hier über den weissen oder vielmehr leicht gebräunten Räumen ein Endothel vorhanden ist, lässt sich durch Hämatoxylinfärbung feststellen. Dann sieht man an den helleren Partien des Bildes die blau gefärbten Kerne durchschimmern. Entfernt man nun das Silberhäutchen durch concentrirte Lösung von unterschweiflgsaurem Natron, dann verschwinden auch die helleren Räume, wahrscheinlich weil man durch die Eliminirung der Silberalbuminatschicht den Contrast zwischen den helleren und dunkleren Stellen aufhebt und somit ein

Bild von gleichmässiger Färbung producirt, in welchem die subendothelialen Lymphbahnen nicht mehr hervortreten. Ob in dem Silberbild die helleren Partien immer genau die Contouren der subendothelialen Lymphbahnen vollständig wiedergeben, oder nur grössere und kleinere Theile der zarten Lymphgefäßwandung unregelmässig darstellen, entsprechend der Durchsichtigkeit, der Dicke der aufgelagerten Eiweiss-Silberschicht, das weiss ich nicht mit Bestimmtheit anzugeben. Ich möchte die letztere Möglichkeit im Allgemeinen für wahrscheinlicher halten.

So viel über die „keratoiden“ Silberbilder.

Dass auch gelegentlich eine Art endothelialer Silberzeichnungen bei der Versilberung der Gelenke vorkommt, welche Artefacte sind, habe ich bereits oben angeführt (Fig. 7, 8). Ich erwähnte kurz, dass diese falschen Endothelzeichnungen mittelst der Versilberung sowohl auf endothellosen (Knorpel) als endothelhaltigen Flächen (Synovialis) vorkommen. Ich glaube, wie ich nochmals betone, dass sie auch im letzteren Falle nichts mit dem unterliegenden Endothel zu thun haben, weil sie ganz oberflächlich, wie es scheint, über dem homogen oder keratoid aussehenden Silber-Eiweisshäutchen liegen, welches das Endothel verdeckt. Ebenso sind beim Knorpel die besonders bei Kindern endothelialartig angeordneten oberflächlichen Knorpelzellen an der Entstehung dieser netzartigen Silberlinien unbeteiligt.

Sehr leicht ist es nun, diese falschen Silberlinien, diese Artefacte, von richtigen Endothelzeichnungen zu unterscheiden, auch ohne jede Controlluntersuchung mittelst anderer Untersuchungsmethoden. Nach leichtem Abspülen der Synovia in HO gelingt es auch an der Synovialintima mittelst 1 oder $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ prozentiger Silberlösungen zuweilen die schönsten Endothelzeichnungen hervorzurufen (Fig. 16), welche wir am Peritoneum, an der Pleura so rasch erzeugen können. Färbt man solche gelungenen endothelialen Silberbilder mit Hämatoxylin, so gelingt es auch, zu demonstrieren, dass die Gefässe an der Synovialmembran unter dem Endothel liegen und nicht nackt zwischen den Zellen. Mittelst der Versilberungsmethode allein ist man aber nicht im Stande, diese letztere Frage zu entscheiden.

Ich schliesse hiermit meine Untersuchungen. Ich hoffe durch dieselben bewiesen zu haben, dass die Gelenke wegen der Gegen-

wart der Synovia für die Versilberungsmethode ein sehr ungünstiges Untersuchungsmaterial liefern, dass die Silber-Eiweiss häutchen einmal die wahre Structur der Gewebsunterlage verdecken, oder in Folge selbständiger Veränderungen zu ganz falschen Schlüssen Veranlassung geben. Nach meiner Ansicht ist es deshalb gerathen, bei der histologischen Untersuchung der Gelenke lieber von der Anwendung der Versilberungsmethode abzusehen, jedenfalls aber ist es nothwendig, die Silberbilder genügend durch Controlluntersuchungen hinsichtlich ihrer Zuverlässigkeit zu prüfen und sich nicht allein auf Silberbilder zu verlassen.

In wie weit meine Angaben auch bezüglich der Versilberung anderer Gewebe Beachtung verdienen, vermag ich nicht zu sagen. Diese Frage in solchem Umfange zu erörtern, lag, wie bemerkt, ausser meiner Absicht. Ich habe bereits zur Genüge angedeutet, dass alle anderen Localitäten viel besser zur Versilberungsmethode geeignet sind, als die Gelenke.

Herrn Privatdocent Dr. Drechsel, Vorsteher der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Leipzig, sage ich an dieser Stelle meinen besten Dank für die Unterstützung, welche derselbe mir durch Rath und That zu Theil werden liess.

Leipzig im April 1876.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XII — XIII.

- Fig. 1. Silbersynoviahäutchen mit Spalten (Schrumpfungsphänomen), erhalten durch Zusatz eines Tropfen von 1, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ prozentiger Silberlösung zu Synovia (auf dem Objectträger). Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 2. Silberalbuminathäutchen von der Oberfläche der Patella. Isolirt. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 3. Silberalbuminathäutchen mit Lücken von der Innenfläche der Gelenkkapsel (Kniegelenk, Kind). Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 4. Synovialintima (Kniegelenk) von einem 3jährigen Kinde, mit 1prozentiger Silberlösung versilbert. Aufgelagertes Silberhäutchen mit Spalten (Schrumpfungsphänomene). An der vom Häutchen nicht bedeckten Stelle a treten die Endothelkerne zum Vorschein. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 5. Knorpelfläche (kindliches Kniegelenk — Patella) mittelst $\frac{1}{4}$ prozentigen Silberlösung versilbert. Normale glatträndige Knorpelzellen mit einer gleichzeitig braun gefärbten Zwischensubstanz. Knorpelzellen ragen wahrscheinlich durch das Silberhäutchen frei hervor. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).

- Fig. 6. Synovialintima (kindliches Kniegelenk) mittelst $\frac{1}{4}$ prozentiger Silberlösung versilbert. Aufgelagertes Silberhäutchen mit einem eigenthümlichen Linien-system. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 7. Silberhäutchen auf der Mitte der Patella mit einem Liniennetzwerk, kleinere und grössere Räume bildend (3jähriges Kind, $\frac{1}{4}$ prozentige Silberlösung angewandt). Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 8. Falsche endotheliale Silberzeichnung von derselben Stelle wie Fig. 7. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 9. Sogenannte „keratoide“ Silberzeichnung von der Mitte der Patella (Kind), $\frac{1}{2}$ prozentige Silberlösung. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 9b. Beginnende „keratoide“ Silberzeichnung von der Mitte der Patella (Kind), $\frac{1}{4}$ prozentige Silberlösung. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 10 stellt Fig. 9 nach der Entsilberung durch unterschwefligsaures Natron dar. Hämatoxylin-Glycerin. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (300 : 1).
- Fig. 11. Keratoide Silberzeichnung von der Synovialmembran (Mann, Kniegelenk); versilbert mit $\frac{1}{4}$ prozentiger Silberlösung. In den weissen Räumen Endothelkerne mehr oder weniger deutlich sichtbar. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (400 : 1).
- Fig. 12. Grenze der keratoiden Silberzeichnung auf der Synovialintima. In den weissen Räumen durch Hämatoxylin gefärbte Endothelkerne sichtbar, letztere ebenfalls an der nicht versilberten Partie. — Synovialmembran theilweise versilbert (1prozentige Silberlösung; Mann; Kniegelenk). Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (400 : 1).
- Fig. 13. Entsilbertes Präparat. Endothelkerne der Synovialintima wieder sichtbar (Mann; Kniegelenk), durch Hämatoxylin gefärbt. Hartnack $\frac{2}{3}$ (240 : 1).
- Fig. 14. Silberbild von der Synovialintima (Kniegelenk des Erwachsenen). Wahrscheinlich durch das Silberhäutchen durchscheinende subendotheliale Lymphbahnen darstellend. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (240 : 1).
- Fig. 15. Subendotheliale Lymphgefässe des Ochsen mittelst $\frac{1}{2}$ prozentiger Silberlösung durch Einstich injicirt. Seitenflächen des Condyl. femor.
- Fig. 16. Seitenfläche des Condyl. femor. ext. beim Erwachsenen mittelst 1prozentiger Silberlösung versilbert. Schöne Endothelzeichnung. Vergrösserung Hartnack $\frac{2}{3}$ (400 : 1).