

Milz. Ob dieser Befund auf die Anaphylaxie zurückzuführen ist, ob es nicht vielleicht schon bei den früheren Injektionen von Pferdeserum zu einer Schädigung der Blutkörperchen und zu Hämosiderinbildung kam, ist nicht absolut sicher zu entscheiden. Ähnliche Veränderungen, wie wir sie in der Leber und in der Niere sahen, beschreibt Fr. Müller<sup>1)</sup> bei rizinvergifteten Kaninchen. Namentlich seine Schilderung von den Nekroseherden in der Leber stimmt vollkommen mit unsren Befunden überein.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. ~~XII~~

- Fig. 1. Darmzotte (Hund Nr. 9). Zeiß Obj. C, Okul. 4.  
 Fig. 2. Nekroseherd in der Leber (Hund Nr. 8). Zeiß Obj. C, Okul. 2.  
 Fig. 3. Blutung in der Lunge (Hund Nr. 5). Zeiß Obj. C, Okul. 2.

**XVI.**

**Über die Fettphanerosis in der Nervenzelle<sup>2)</sup>.**

(Aus der Klinik für Geistes- und Nervenkrankheiten der Kgl. Universität zu Catania.)

Von

Dr. Giosué Biondi.

(Hierzu Taf. XIII.)

Es ist wohlbekannt, daß im Zellprotoplasma lipoide Substanzen enthalten sind, welche dem histologischen Nachweis mit den gewöhnlichen gebräuchlichsten Methoden (Sudan III, Osmium usw.) sich entziehen.

Diese verborgenen, sogenannten maskierten Lipoide werden, wenigstens zum Teil, während der Autolyse freigemacht, weshalb diese der Zauberstab genannt worden ist, da durch sie das Fett auftritt, was vorerst nicht sichtbar war.

Nach der heute herrschenden Ansicht ist die Erscheinung auf einen enzymatischen Vorgang zurückzuführen, d. h. es handelt sich dabei um eine Spaltung der lipo-proteischen Verbindungen des Protoplasmas durch Endoprotease (Ciaccio).

Was das Verhalten der Lipoide des Protoplasmas der Nervenzelle während der Autolyse anbelangt, sind die Untersuchungen der Autoren nicht zu übereinstimmenden Resultaten gelangt.

Crzebinski<sup>1)</sup>, welcher die aseptische oder antiseptische (durch Chloroformzusatz) Autolyse

<sup>1)</sup> Fr. Müller, Zieglers Beitr. 27, 1900, 331.

<sup>2)</sup> Die Arbeit war vor Ausbruch des Krieges bereits im Druck und die Tafeln fertiggestellt. Durch Ausbruch des Krieges konnte die Korrektur nicht mehr durch den Autor selbst erledigt werden.

in verschiedenen Medien an Rückenmarkstücken verschiedener Säugetiere (Hund, Kaninchen, Meerschweinchen) studierte, konnte nur in zwei Rückenmarkstücken, welche bzw. 5 und 9 Tage in Na Cl-Lösung + Chloroform im Brutofen behalten worden waren, lipoide, mit der Herxheimerschen Methode färbbare Einschlüsse in den Nervenzellen, hauptsächlich an der Peripherie des Zellkörpers, beobachten. Sonst war der Befund negativ.

Marinesco<sup>2</sup> hat nur in einigen Nervenzellen der Spinalganglien große perinukleäre Körperchen und doppeltbrechende Stäbchen, welche in Äther und Chloroform löslich waren, während der Autolyse auftreten sehen. Solche Gebilde (über deren Färbbarkeit mit den Fettfarbstoffen nichts angegeben wurde) hat er mit den Myelinkörperchen verglichen, welche man gewöhnlich bei der Autolyse der Zellen anderer Gewebe beobachtet.

Nach Buscaino<sup>3</sup> färben sich beim Hund in dem 2 oder 4 Tage nach dem Tode des Tieres herausgenommenen Rückenmarkstücke die Nervenzellen mit Sudan diffus intensiver als normal, aber von dem Auftreten lipoider Einschlüsse im Protoplasma spricht der Verfasser nicht.

Im Gegenteil wurde das Auftreten lipoider Einschlüsse während der Autolyse von Ziveri<sup>4</sup> in den Nervenzellen des Gehirns des Kalbes und von Fontanesi<sup>5</sup> in den Nervenzellen der Großhirnrinde des Hundes beobachtet. Die von Ziveri beobachteten lipoiden Einschlüsse färbten sich mattgelb mit der Scharlachlösung und waren nicht doppeltbrechend, diejenigen von Fontanesi färbten sich mit der Herxheimerschen Methode und boten die histochemischen Reaktionen des Fettpigmentes dar. Aber aus ihren Befunden zogen die beiden Autoren vollständig entgegengesetzte Schlüsse: nach Ziveri hat das Fettpigment im Leben einen exogenen Ursprung, d. h. bildet sich aus von außen ins Protoplasma eingeführten Substanzen, Fontanesi dagegen nimmt als wahrscheinlich an, daß die vitale Verfettung der Nervenzelle, gerade wie bei der Autolyse, durch das Freiwerden der Lipoide des Protoplasma entsteht.

Laiguel-Lavastine und Jonnesco<sup>6</sup> verpflanzten Kleinhirnstücke der Maus unter die Haut desselben Tieres und fanden nach 12—25 Stunden in den Purkinjeschen Zellen und ihren Axonen größere und kleinere Granula, zuweilen kettenförmig als Kokken angeordnet. Diese Granula färbten sich blau mit Nilblau, gelb von verschiedenen Nuancen mit Neutralrot, bläulich-grau mit der Weigert-Smithschen Methode. Obengenannte Autoren nahmen an, daß es sich hierbei um Cholesterinester handelte, was jedoch unter Berücksichtigung jenes mikrochemischen Verhaltens augenscheinlich irrig sich erweist. Außerdem ist bei diesen Versuchsbedingungen nicht möglich, das Eindringen der lipoiden Substanzen von außen ins Protoplasma der Nervenzellen auszuschließen.

In Anbetracht der so wenig übereinstimmenden Resultate der Autoren und in der Vermutung, daß aus dem Studium des Verhaltens der Protoplasmalipoide der Nervenzelle während der Autolyse vielleicht doch irgendeine nützliche Angabe hervorgehen könnte, um die Herkunft der lipoiden Einschlüsse — die so zahlreich bei manchen pathologischen Zuständen in den Nervenzellen vorkommen — zu erklären, habe ich über diesen Gegenstand einige Untersuchungen vorgenommen.

Bevor ich über deren Resultate zu berichten übergehe, möchte ich einen kurzen Überblick über die lipoiden Bestandteile der erwachsenen Nervenzellen geben<sup>1</sup>).

Sicher sind als Lipoide jene Zellstrukturen anzusehen, welche sich mit Sudan III oder mit Scharlach färben. Hierzu gehören:

a) die sogenannten Imbibitionslipide (Ciaecio<sup>7</sup>, <sup>8</sup>, Luna<sup>9</sup>). Sie sind diffus im ganzen Zellprotoplasma und in veränderlicher Menge vorhanden;

<sup>1)</sup> Für reichlichere Details siehe meine Arbeit: „Lo stato attuale degli studii istologici sui lipidi dei centri nervosi“, Riv. ital. di neuropatol. psich. ed elettroter. 1914.

b) die Fettpigmentsgranula. Normal finden sie sich (meist in kleinen Haufen zusammenliegend) nur in einer spärlichen Anzahl von Nervenzellen. Sie werden beim Kaninchen und Meerschweinchen stets vermißt;

c) Granula oder Tröpfchen nicht pigmentöser Natur, welche hier und da im Protoplasma zerstreut liegen. Bei erwachsenen Säugetieren sind sie selten zu finden, sind aber verhältnismäßig reichlicher bei den Batrachiern und bei jungen Tieren (Ciaccio<sup>8</sup>) vorhanden. Solche Einschlüsse sind von Luna<sup>9</sup> in den kleinen Nervenzellen der Spinalganglien und in den embryonalen Nervenzellen, von Laiguel-Lavastine und Jonnesco<sup>10</sup> in den Purkinjeschen Zellen der Kleinhirnrinde beschrieben worden.

Überdies werden als Lipoide oder besser als einen lipoiden Inhalt besitzend noch andere Protoplasmastrukturen angesehen, obgleich diese mit Sudan oder mit Scharlach nicht färbbar sind. Es wird allgemein angenommen, daß es sich hierbei um Lipoide handelt, die physikalisch oder chemisch mit andern Substanzen (Proteine) verbunden sind. Hierzu gehören:

a) die Chondriosomen oder (nach der neuen Mewes' und Duesbergschen Nomenklatur) Plastosomen, deren Anwesenheit in der erwachsenen Nervenzelle von Nageotte<sup>11</sup>, Coudry<sup>12 13</sup>, Luna<sup>14 15</sup>, Busacea<sup>16</sup>, Schirokogoroff<sup>17</sup> und andern nachgewiesen worden ist. Sie entsprechen ganz oder teilweise den Altmannschen Granula, den Heldschen Neurosomen und den fuchsinophilen Granula Alzheimers;

b) die mittels Osmiumsäure von Sjövall<sup>18</sup>, Kopsch<sup>19</sup> und andern dargestellten Strukturen. Es sei hier hervorgehoben, daß nach Neubauers<sup>20</sup> Untersuchungen der Osmiumsäure irgendwelche Spezifität für ungesättigte Fette oder Lipoide abzusprechen ist, da auch nichtfettige, aber eine doppelte Bindung von Kohlenstoff in dem Molekül enthaltende Substanzen Osmiumsäure zu reduzieren imstande sind. Was die Liposomen anbetrifft, die kürzlich von Laiguel-Lavastine und Jonnesco<sup>21</sup> sowohl im Protoplasma als im Kern der Nervenzellen untersucht worden sind, so läßt sich noch nichts Bestimmtes über ihre Beziehungen mit den andern lipoiden Protoplasmastrukturen sagen.

Im Kerne der Nervenzellen sind außer den Liposomen von Laiguel-Lavastine und Jonnesco, soweit ich weiß, lipoide Strukturen nicht beschrieben worden. Mühlmann<sup>22</sup> jedoch hat im Kernkörperchen Granula gesehen, die sich nur auf der Peripherie mit Osmiumsäure schwärzen und die er mit dem Namen Lipidosomen bezeichnet hat. Auch Luna<sup>9</sup> hat zuweilen im Kernkörperchen der Nervenzellen der Spinalganglien von *Bufo* Vakuolen, mehr oder weniger mit Sudan färbbar, beobachtet.

Meinen eigenen Beobachtungen nach zeigt das Protoplasma der Nervenzellen (Rückenmark, Klein- und Großhirnrinde) des erwachsenen Kaninchens bei den nach Ciaccio behandelten Präparaten eine diffuse orangefärbung (Imbibitions-lipoide), die in einigen Zellen ganz schwach, in andern hingegen ziemlich intensiv ist. Niemals sind jedoch sicher und intensiv sudanfärbbare Granula darin zu sehen.

Nur bei genauer Betrachtung und bei geeigneten Lichtbedingungen kann man sich von dem Vorhandensein spärlicher Granula überzeugen: diese sind zwar sehr wenig augenscheinlich und äußerst blaß gefärbt, so daß sie viel mehr durch ihre Lichtbrechung als durch ihre Farbe sichtbar sind. Es ist wohl möglich, daß es sich hier um plastosomische Strukturen handelt, die durch den verhältnismäßig hohen Gehalt an Eisessig der Fixierungsflüssigkeit<sup>1)</sup> morphologisch verändert sind. Der Kern ist ganz frei von sudanfarbbaren Substanzen. Außerhalb der Nervenzellen, in ihrer Nachbarschaft oder der Peripherie des Zelleibes anhaftend, liegen zuweilen schwach sudanfarbbare Körnchen, welche in den perizellulären Gliastrukturen enthalten sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß solche Körnchen den fuchsinophilen perizellulären Granula entsprechen. Alles in allem kann man sagen, daß, mit Ausnahme der Imbibitionslipoide, in den Nervenzellen des normalen erwachsenen Kaninchens keine mit Sudan farbbare Substanzen enthalten sind.

Beim Hunde enthält das Protoplasma wie beim Kaninchen eine wechselnde Menge Imbibitionslipoide. Jedoch normal in einer spärlichen Anzahl der Nervenzellen sind Fettpigmentkörnchen, die meist zu kleinen Haufen zusammenliegen, enthalten. In einem andern Aufsatz habe ich<sup>23</sup> mich mit dem histochemischen Verhalten dieser Pigmentkörnchen beschäftigt. Außer diesen sind im Protoplasma andersartige freie, mit Sudan farbbare Körnchen nicht zu finden. Hierin stimmen meine Beobachtungen mit denen Buscainos<sup>3</sup> vollständig überein.

---

Ich habe der aseptischen Autolyse Rückenmarkstücke vom Kaninchen und Hunde unterzogen. Die Stücke wurden im Brutofen bei 37° C in der isotonischen Na Cl-Lösung oder in einfach feuchtem Medium behalten. In letzterem Falle wurden die Stücke auf die Wandungen kleiner Glaskrüppelchen gelegt, auf deren Boden ein wenig mit isotonischer Na Cl-Lösung durchtränkte Watte sich befand. Die Versuchsdauer war wechselnd, und zwar blieben die Stücke im Brutofen einen oder mehrere (bis 30) Tage. Danach wurden sie zum Teil nach der Ciaccioschen Methode für die Lipoide behandelt, zum Teil in Formollösung fixiert. Die Formolgefrierschnitte wurden nach den gebräuchlichsten Methoden für den Nachweis von Fett- oder Lipoilstubanz (Herxheimer, Fischler, Weigert-Smith usw.) gefärbt.

Alle diese Methoden bei den Rückenmarkstücken von Kaninchen (sowohl bei den in Na Cl-Lösung eingetauchten wie bei den in einfach feuchtem Medium gehaltenen) gaben mir stets negative Resultate, d. h. niemals habe ich (wie lange auch die Dauer des Aufenthaltes der Stücke im Brutofen gewesen wäre) im Protoplasma der Nervenzellen das Sichtbarwerden nach diesen Methoden farbbarer Substanzen beobachten können. Ebensowenig war in den Ciaccioschen Präparaten eine Zunahme der Imbibitionslipoide des Protoplasma festzustellen.

---

<sup>1)</sup> Die von mir angewandte Fixierungsflüssigkeit Ciaccios ist aus 5% Kaliumbichromatlösung 100 ccm, Formol 20 ccm, Eisessig 5 ccm zusammengesetzt.

Damit übereinstimmende und ebenfalls bezüglich der Fettphanerosis negative Resultate habe ich in den Nervenzellen des Lendenmarkes des Kaninchens, bei der durch Abklemmen der Bauchaorta verursachten Erweichung des Lendengraues, gewonnen. Bei solchen Versuchsbedingungen kommen die Nervenzellen zum Absterben und verschwinden zumeist binnen 2 oder 3 Tagen, so daß man von einem intra vitam sich abspielenden autolytischen Vorgang reden kann. Auch hier ist eine Zunahme der Imbibitionslipide oder das Auftreten von sudanfärbbaren Körnchen nicht zu beobachten. Ganz davon abweichende Resultate habe ich in den Rückenmarkstücken vom Hund erhalten, welche 2 bis 3 Tage in der isotonischen Na Cl-Lösung im Brutofen behalten worden waren. Hier bei den Ciaccioschen Präparaten nimmt das Protoplasma der Vorderhornzellen eine diffuse, bedeutend intensivere Orangefärbung an als normal und weist eine gewisse Anzahl ziemlich großer, stark mit Sudan sich färbender Granula auf. Trotzdem, wegen der intensiven diffusen Färbung des Protoplasmas, heben sich diese Granula nicht viel von dem Hintergrund dieses letzteren ab. Die Granula sind nicht zu Haufen vereint, sondern im ganzen Protoplasma hier und da zerstreut. Im Gegensatz dazu liegen (wie oben gesagt) die bei normalen und pathologischen Lebensvorgängen entstehenden Fettpigmentgranula sehr häufig zu Haufen zusammen. Der Kern ist von lipoiden Körnchen frei. Aus dem Gesagten geht hervor, daß im Protoplasma der Nervenzellen des Hundes durch die Autolyse sudanfärbbare Substanzen, sei es in Granulaform oder unter der Form von Imbibitionslipiden, freigemacht werden.

Ich habe weiter versucht, ob es möglich war, mit der Anwendung besonderer Autolysemedien die Fettphanerosis auch in den Nervenzellen des Kaninchens zu erzeugen.

Zu diesem Zwecke habe ich Rückenmarkstücke des Kaninchens in isotonischer Na Cl-Lösung, in welcher ich zur Sättigung Chloroform gelöst hatte, im Brutofen während eines oder mehrerer Tag autolysieren lassen. In den Ciaccioschen Präparaten der so behandelten Stücke zeigen die Nervenzellen keine Vermehrung ihres Normalinhaltes an Imbibitionslipoiden, doch in ihrem Protoplasma befinden sich kleine Kugelchen, von denen nur die Peripherie mit Sudan färbbar ist, indem das Innere gewöhnlich ungefärbt bleibt. Daher sehen derartige Gebilde wie kleine Ringe aus und liegen hier und da im Zellkörper und in den Dendriten zerstreut. Der Kern ist stets von ihnen frei. Auch außerhalb des Zelleibes, dicht auf ihm angelagert oder in unmittelbarer Nachbarschaft desselben, beobachtet man häufig zahlreiche Kugelchen, die teils im ganzen, teils nur an der Peripherie mit Sudan gefärbt sind. Diese intra- und perizellulären Kugelchen nehmen mit dem Nilblau (Formolgefrierschnitte) eine blaue Färbung an. Mit der Weigert-Smithschen Methode widerstehen sie der Differenzierung sehr wenig. Mit der Herxheimer-schen Methode und der von Fischler sind sie nicht färbbar. Bei Behandlung der ohne vorausgegangene Fixierung angefertigten Gefrierschnitte mit in isotonischer Na Cl-Lösung gelöstem Neutralrot heben sich die Kugelchen kaum ab, soweit die

Färbung bei Zimmertemperatur vorgenommen wird. Sie werden erst sichtbar (indem sie eine intensivere Färbung als das Protoplasma annehmen), wenn die Färbung im Brutofen (40° C) vor sich geht. Bei den aus demselben Material mit der Alzheimerschen Methode für die Darstellung der fuchsinophilen Granula angefertigten Präparaten zeigt es sich, daß die fuchsinophilen Granula (die, wie ich anderorts [24] gezeigt habe, den Chondriosomen entsprechen) teils verschwunden sind, teils sich in kleine Kugelchen umgewandelt haben, die sich intensiv an der Peripherie und sehr blaß am Zentrum mit Fuchsin färben lassen. Diese Gebilde weisen viele morphologische Ähnlichkeiten mit den Kugelchen auf, welche man in Ciaccioschen Präparaten beobachtet, so daß man als sehr unwahrscheinlich annehmen kann, daß sie ihnen entsprechen. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich dabei um Chondriosomen, die durch den autolytischen Vorgang morphologische und chemische Veränderungen erlitten haben, weshalb sie sudanfärbbar geworden sind. Außerdem habe ich zur Sichtbarmachung der Protoplasmalipoide das Nollsche <sup>25</sup> Verfahren angewandt. Dieser Autor, von der Voraussetzung ausgehend, daß der größte Teil der Protoplasmalipoide im Normalzustande mittels der gewöhnlichen histologischen Methoden nicht nachweisbar ist, weil er mit dem Eiweiß verbunden ist, dachte diese Verbindung durch eiweißlösende Mittel zu trennen. Zu diesem Zwecke werden die Gewebstücke der künstlichen Pepsinverdauung unterworfen oder mit Salmiak- oder Kalilaugelösung behandelt. Nachher werden die Gewebstücke in Formol fixiert und dann nach Zerzupfen oder Gefrierschneiden mit Sudan oder Scharlach gefärbt. Sie können auch in Osmiumsäurelösung fixiert werden. Noll untersuchte fast ausschließlich die Muskelfasern, in denen er mittels seiner Methode einen sehr reichlichen lipoiden Inhalt nachweisen konnte. Von diesem Standpunkte führte er recht wenige (in seinem Aufsatz nur nebenbei erwähnte) Untersuchungen über die Spinalganglienzellen des Frosches an. Aber die von ihm gewonnenen Resultate waren nicht unzweideutig. Zwar traten im Laufe der Verdauung in diesen Zellen größere und kleinere Fetteinschlüsse auf. Aber Noll war außerstande, zu entscheiden, wieviel von dem Fett wirklich aus dem Protoplasma stammte, da die unverdauten Zellen schon viel Fetteinschlüsse in Gestalt des Fettpigmentes enthielten.

Nolls Verfahren hat Diering <sup>26</sup> zum Studium der Lipide des menschlichen Nierenepithels angewandt. Es gelang ihm nur in einer beschränkten Zahl von Versuchen, mittels solchen Verfahrens Fettröpfchen sichtbar zu machen. Das sichtbar werdende Fett bestand vorwiegend aus Neutralfetten. Er hat ferner sich entschieden gegen die Übereinstimmung oder die Ähnlichkeit der in dieser Weise gewonnenen Bilder mit denjenigen bei der pathologischen Verfettung beobachteten ausgesprochen.

Ich habe der künstlichen Verdauung nach Noll mit Pepsinsalzsäurelösung <sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Ich habe stets das von der Firma Erba gelieferte Pepsin benutzt. Nach Nolls Angaben wurde das Pepsin in 0,3% H Cl-Lösung gelöst.

kleine Stücke Rückenmarks, Kleinhirn- und Großhirnrinde des normalen erwachsenen Kaninchens im Brutofen bei 37° C Temperatur 2 bis 3 Tage unterworfen. Die Stücke fielen einer sehr ausgesprochenen Quellung anheim und wurden so weich, daß große Vorsicht bei der Herausnahme aus der Lösung notwendig war. Darauf wurden sie in der obenerwähnten Ciaccioschen Fixierungsflüssigkeit fixiert und nach der bekannten, für den Nachweis von Lipoiden von diesem Autor vorgeschlagenen Methode (d. h. Chromierung während 7 bis 8 Tage, Paraffineinbettung, Sudanfärbung der Schnitte) behandelt.

Die Paraffineinbettung bietet den Vorzug dar, die Bearbeitung der aus diesem so wenig konsistenten Material gewonnenen Schnitte wesentlich zu erleichtern.

In den so hergestellten Präparaten bieten die Nervenelemente erhebliche morphologische Veränderungen, welche der Verdauung zu verdanken sind.

Ich hebe gleich hervor, daß nach solcher Behandlung im Protoplasma der Nervenzellen lipoide sudanfärbbare Tröpfchen frei werden und die Menge der sudanfärbbaren Imbibitionslipoiden sich vermehrt.

Die Befunde sind positiv sowohl im Rückenmark wie in der Großhirn- und Kleinhirnrinde. Die besten Resultate habe ich jedoch in der Kleinhirnrinde erzielt, und im folgenden möchte ich dieselben kurz erörtern.

In der 1. Figur auf Taf. XIII ist als Vergleichsobjekt eine kleine Strecke von der unverdauten, mit der Ciaccioschen Methode behandelten normalen Kleinhirnrinde des Kaninchens wiedergegeben. Man sieht hier, daß die Molekularschicht eine ziemlich intensive diffuse Farbe aufweist, auf deren Hintergrund keine sudanfärbbaren Granula sich abheben. Nur bisweilen sieht man hier äußerst blaß gefärbte Granula (in der Figur nicht sichtbar), deren Lage derjenigen der fuchsinophilen Körnchen entspricht. In der tieferen Lage der Molekularschicht trifft man stark gefärbte größere und kleinere Ringe, welche der Markscheide dünner, quergeschnittener Markfasern entsprechen.

Das Protoplasma der Purkinjeschen Zellen weist eine leichte diffuse Orangefärbung (Imbibitionslipoid) auf, die in den verschiedenen Zellen leichte Intensitätsschwankungen darbietet. Kein sudanfärbbares Granulum ist im Protoplasma zu sehen. Der Kern ist von sichtbaren sudanfärbbaren Stoffen stets frei.

In der Körnerschicht ist das spärliche Protoplasma der „Körner“ sehr arm an Imbibitionslipoiden. Zwischen den „Körnern“ liegen kernlose, lebhaft orangefarbte Massen, welche den sogenannten „Glomeruli“, d. h. den Stellen, in denen, wie es bei Silberimprägnationspräparaten sichtbar ist, die Moosfasern mit den Dendriten der Granula in Beziehung treten, entsprechen. Jedoch in diesen so an Imbibitionslipoiden reichlichen kernlosen Massen tritt kein deutlich sudanfärbbares Körnchen auf.

Da — wie aus dem Gesagten hervorgeht — bei der Kleinhirnrinde des Kaninchens keine freien, sudanfärbbaren Körnchen zu finden sind, war es zweifellos, daß die eventuell bei den verdauten Stücken auftretenden lipoiden Körnchen durch die Verdauung entstanden waren. In der Kleinhirnrinde des normalen Kaninchens,

welche der künstlichen Verdauung unterzogen und darauf mit der Ciaccioschen Methode behandelt wurde, bemerkt man schon mit bloßem Auge, daß die Schnitte intensiver als bei unverdauten Stücken mit Sudan gefärbt erscheinen. Bei der Betrachtung mit der Immersionslinse treten in der Molekularschicht größere und kleinere Körnchen hervor, welche sich mit Sudan intensiv färben lassen und durch die ganze Ausdehnung dieser Schicht hindurch zerstreut liegen (Fig. 2, Taf. XIII). Ihre Lage ähnelt derjenigen der fuchsinophilen Granula, und es ist wohl möglich, daß es sich dabei wenigstens zum Teil um durch die Verdauung sudanfärbbar gewordene fuchsinophile Granula handelt. In den Purkinjeschen Zellen (Fig. 3, Taf. XIII) ist eine deutliche und beträchtliche Zunahme der Imbibitionslipoide wahrzunehmen. In dem diffus intensiv rot gefärbten Protoplasma liegen größere und kleinere Körnchen und Kugelchen zerstreut. Ihre Zahl unterliegt beträchtlichen Schwankungen in den verschiedenen Zellelementen. Bei den in der Fig. 3 wiedergegebenen Zellen waren solche Gebilde sehr zahlreich. Es ist nicht möglich, zu entscheiden, ob diese Zahlschwankungen auf der wechselnden Menge der in den verschiedenen Zellelementen enthaltenen lipoiden Stoffe oder auf den mehr oder weniger festen Verbindungen zwischen Lipoiden und Eiweiß oder noch auf andern Faktoren beruhen. Jedenfalls ist die Gesamtmenge der im Protoplasma sichtbar werdenden lipoiden Stoffe eine recht beträchtliche. Der Kern zeigt sich verkleinert, mit unregelmäßigen Umrissen, aber (was wichtig ist) im Gegensatz zu dem Protoplasma ganz frei von diffusen oder körnigen lipoiden Stoffen.

In der Körnerschicht weisen die den Glomeruli entsprechenden kernlosen Massen eine lebhafte diffuse Farbe auf und enthalten eine sehr beträchtliche Zahl Körnchen und Kugelchen, welche sich mit Sudan intensiv färben (Fig. 4, Taf. XIII). Es sei hier erwähnt, daß bei normalen (aus nicht verdautem Material) mit der Regaudschen Methode zur Darstellung der Chondriosomen oder mit derjenigen von Alzheimer zur Darstellung der fuchsinophilen Körnchen hergestellten Kleinhirnrindepräparaten in den Glomeruli eine so beträchtliche Zahl körnchen- und stäbchenförmiger Chondriosomen zu sehen ist, daß man mit Recht sagen kann, daß weder im Protoplasma der Purkinjeschen Zellen noch in der Molekularschicht auf ein und demselben Raum eine solche Fülle von Chondriosomen vorhanden ist. Die Glomeruli sind daher als an lipoiden Stoffen besonders reiche Gebilde anzusehen. Diese Feststellung ist nicht ohne Interesse: heutzutage wird es allgemein angenommen, daß die Lipide bei den Lebensvorgängen eine sehr wichtige Rolle spielen, und die Vertreter der Neurontheorie behaupten, daß der nervöse Strom gerade in den Glomeruli von den Verzweigungen der Moosfasern in die Dendriten der „Körner“ übergeleitet wird.

Der Kern der „Körner“ ist von sudanfärbbaren Stoffen ganz frei. Das Protoplasma der „Körner“, das mitunter (wahrscheinlich durch Quellungserscheinungen) besser sichtbar wird, ist ziemlich schwach orange gefärbt und enthält eine spärliche Zahl von lipoiden Körnchen.

Hält man die Stücke 2 oder 3 Tage im Brütofen in 0,3% H Cl-Lösung (ohne

Pepsin), so erhält man Resultate, die sich nur quantitativ von den soeben erörterten unterscheiden, d. h. in diesem Fall wird eine geringere Menge lipoider Stoffe als bei Pepsinsalzsäurebehandlung freigemacht. Ein ganz gleiches Verhalten wurde von Noll in ähnlichen die Muskelfasern betreffenden Versuchen beobachtet.

Es wäre sehr interessant, festzustellen, aus welchen Protoplasmastrukturen die bei der künstlichen Verdauung in den Nervenzellen und in den Glomeruli frei werdenden lipoiden Stoffe entstehen. Aber die bei diesen Versuchen gewonnenen histologischen Bilder gestatten uns nicht, über diese Frage ein sicheres Urteil zu geben.

Gegen die Ergebnisse dieser Verdauungsversuche könnte man zunächst einwenden, daß die Markscheidenstoffe während der Verdauung diffundieren und in das Innere der Nervenzellen eindringen könnten und damit irreführende Bilder erzeugen. Aber dieser Einwand ist grundlos. In der Tat ist es nicht möglich, daß eine solche Diffusion der Markscheidenstoffe so reichlich und so leicht in den 2 oder 3 Tage lang in den mit Pepsinsalzsäurelösung behandelten Stücken statthaben soll, indem sie in den Stücken, welche mehrere Wochen in Na Cl-Lösung im Brutofen geblieben sind, vollständig ausbleibt. Wenn hier solche Diffusionserscheinungen vorkämen, so wäre die Lage der im Protoplasma auftretenden lipoiden Körnchen und Kügelchen in den verschiedenen Versuchen nicht konstant, und es wäre ganz unverständlich, weshalb die diffundierenden, überall vorhandenen Stoffe niemals ins Kerninnere der Nervenzellen eindringen sollen. Im Gegenteil, bei den verschiedenen Versuchen (das gleiche Material und Behandlung vorausgesetzt) gewinnt man wesentlich übereinstimmende Bilder; die hierin beobachteten Unterschiede sind nur quantitativ, und sie beruhen auf der größeren und minderen Geschwindigkeit, mit welcher die verdauende Flüssigkeit in das Innere der Stücke eindringt, da meist die der Verdauung unterworfenen Stücke von verschiedener Größe sind.

Jedenfalls, um noch sicherere Resultate zu erzielen, habe ich eine noch nicht veröffentlichte Ciacciosche Modifikation des Nollschen Verfahrens angewandt, welche Ciaccio so liebenswürdig war, mir mitzuteilen. Die Modifikation besteht darin, daß die Stücke, bevor sie in Pepsinsalzsäurelösung kommen, kurze Zeit in 10% Formollösung fixiert werden. Dank dieser Vorfixierung werden sie fester und lassen sich leichter bearbeiten. Es wurden von mir drei Versuchsreihen ange stellt. Die Formolfixierung dauerte 3, 6 und 24 Stunden. Die Weiterbehandlung war eine gleiche, d. h. nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser kamen die Stücke in den Brutofen, 3 Tage lang in die oben angegebene Pepsinsalzsäurelösung und wurden darauf, wie in den vorigen Versuchen, mit der Ciaccioschen Methode behandelt.

Die gewonnenen Resultate waren die folgenden:

a) 3 Stunden in Formollösung vorfixierte Stücke:

In der Molekularschicht finden sich nur in einigen Stellen sudangefärbte Körnchen zerstreut. Das Protoplasma der Purkinjeschen Zellen (Fig. 6, Taf. XIII) weist eine diffuse Farbe auf, welche meist nicht intensiver ist als die der unver-

dauten Zellen, enthält jedoch häufig, wenn auch nicht immer, sudangefärbte Körnchen. Im Kern fehlen sudanfärbbare Stoffe vollständig. In der Körnerschicht weisen die Glomeruli eine Zunahme der Imbibitionslipide auf, welche jedoch nicht so ausgesprochen ist wie bei den ohne Vorfixierung verdauten Stücken und enthalten fast immer lipoide Körnchen, obgleich bedeutend weniger zahlreich, als es in diesen letzteren Stücken der Fall ist. Auch hier ist es möglich, mit Sicherheit festzustellen, aus welchen Protoplasmastrukturen die sudanfärbbaren lipoiden Körnchen entstehen. Auch in diesen Stücken also findet eine Fettphanerosis statt, welche nur teilweise durch die Vorfixierung gehemmt wird.

b) 6 Stunden in Formollösung vorfixierte Stücke:

Die die Fettphanerosis hemmende Wirkung der Vorfixierung ist ausgesprochener: nur in einigen Purkinjeschen Zellen und Glomeruli trifft man eine spärliche Zahl sudangefärbter Körnchen, welche sich wenig abheben. Keine Zunahme der Imbibitionslipide.

c) 24 Stunden in Formollösung vorfixierte Stücke: keine Zelle, kein Glomerulus enthält freie, sudangefärbte Körnchen. Die Fettphanerosis bleibt vollständig aus.

Diese Versuche beweisen, daß die Nervenzellen, wenn sie auch in den gewöhnlichen, mit Sudan gefärbten Präparaten eine spärliche Menge von sudanfärbbaren lipoiden (nur von den Imbibitionslipoiden vertretenen) Stoffen aufweisen, in Wirklichkeit in „maskiertem Zustand“ erhebliche Mengen solcher Stoffe enthalten. Diese sind nur im Protoplasma vorhanden, im Kern fehlen sie oder wenigstens sind sie dort nicht nachweisbar.

Eine besondere Erwähnung verdient die Tatsache, daß beim Hunde das einfache Einlegen von Rückenmarkstücken während 2 oder 3 Tage in den Brutfoten in Na Cl-Lösung genügt, um eine Fettphanerosis in den Nervenzellen zu erzeugen, was beim Kaninchen nicht der Fall ist. Das entspricht dem, was man bei den normalen und pathologischen Lebensvorgängen bezüglich des Verhaltens der lipoiden Stoffe der Nervenzellen bei den zwei Tierarten beobachtet. Beim Kaninchen enthalten die Nervenzellen sowohl in normalem als in krankhaftem Zustande recht selten lipoide Einschlüsse, jedenfalls fallen sie unvergleichlich seltener als die anderer Tierarten der Verfettung anheim. Beim Hunde dagegen stellt die Verfettung der Nervenzellen bei manchen pathologischen Zuständen einen sehr häufigen Befund dar, und normal sind immer mehr oder weniger zahlreiche Fettpigmenteinschlüsse in einer gewissen Zahl von Nervenzellen zu finden.

Solche Übereinstimmung zwischen dem autolytischen und dem vitalen Verhalten der Protoplasmalipoide läßt uns zur Annahme neigen, daß gewöhnlich die bei den Lebensvorgängen im Protoplasma der Nervenzellen auftretenden Lipide wie bei der Autolyse aus den „maskierten“ lipoiden Bestandteilen des Protoplasmas entstehen. Damit wird nicht vollständig ausgeschlossen, daß unter besonderen (jedoch seltenen) Umständen im Protoplasma eine Speicherung von lipoiden Stoffen exogenen Ursprungs statthaben kann.

Ziveri<sup>4</sup> lehnt die endogene (endoprotoplasmatische) Entstehung der Lipoide bei der vitalen Verfettung ab, sei es, weil während der Autolyse nicht eine so reichliche Menge lipoider Stoffe wie bei den pathologischen Lebensvorgängen im Protoplasma auftritt, sei es, weil bei der Autolyse keine Fettpigmentbildung vor sich geht.

Aus meinen Beobachtungen geht hervor, daß in den in Na Cl-Lösung autolyisierten Nervenzellen des Rückenmarks des Hundes die Menge der frei werdenden lipoiden Stoffe nicht so spärlich ist als die in den vital verfetteten Nervenzellen enthaltene. Nur die Gestalt und die Lage der lipoiden Stoffe ist bei beiden Fällen nicht eine gleiche: bei der Autolyse sind die in diffuser Form auftretenden Lipoide reichlich vorhanden und liegen die Lipoidkörnchen im Protoplasma zerstreut, indem bei der pathologischen Verfettung die lipoiden Stoffe meist in Gestalt von in kleinen Haufen zusammenliegenden Körnchen auftreten. Aber dieser allzu große Unterschied ist leicht erklärlich, wenn man bedenkt, daß es sich im ersten Fall um abgestorbene Zellelemente, im zweiten Fall dagegen um lebende und tätige Zellelemente handelt.

Das Ausbleiben der Fettpigmentbildung bei der Autolyse ist vielleicht dadurch zu erklären, daß, wahrscheinlich bevor die lipoiden Körnchen die Eigenschaften des Fettpigments annehmen, ein gewisser Zeitraum notwendig ist. Jedenfalls hat Marinesco<sup>27</sup> während der Autolyse Fettpigmentkörnchen in den Nervenzellen auftreten sehen. Das eigentümliche Verhalten der Protoplasmalipoide der Nervenzellen beim Kaninchen ist sehr gut mit der Annahme zu erklären, daß bei dieser Tierart die „maskierten“ Protoplasmalipoide der Nervenzellen viel fester als beim Hunde mit dem Eiweiß verbunden sind. Beim Kaninchen sind, um solche Verbindungen zu trennen, die bloßen autolytischen Fermente nicht hinreichend. Es sind dazu stärker wirkende Fermente notwendig. Durch den Chloroformzusatz zu der als autolytisches Medium dienenden Na Cl-Lösung wird nur ein geringer Teil der „maskierten“ Protoplasmalipoide (sehr wahrscheinlich nur derjenige, welcher in den Chondriosomen enthalten ist) frei gemacht. Bei der künstlichen Verdauung ist die Menge der frei gemachten lipoiden Stoffe bedeutend erheblicher. Jedoch wissen wir noch nicht, ob diese die Gesamtmenge der im Protoplasma enthaltenen Lipoide darstellt.

---

#### Erklärung der Abbildungen auf Taf. XIII.

Sämtliche Abbildungen sind nach mit der Ciaccioschen Methode hergestellten Präparaten mit dem  $\frac{1}{12}$  Ölimmersionssobjekt (Zeiß) und dem 8. Kompensationsokular (Koristka) gezeichnet worden. In den Präparaten wurde keine Kernfärbung nach Sudanfärbung ausgeführt. Die Abbildungen beziehen sich auf die Kleinhirnrinde des Kaninchens.

- Fig. 1. Unverdaute normale Kleinhirnrinde des Kaninchens. *MS* = Molekularschicht, *P* = Purkinjesche Zellen, *G* = Glomeruli, *Mf* = Markfasern.
- Fig. 2. Molekularschicht eines in Pepsinsalzsäurelösung künstlich verdauten Stückes Kleinhirnrinde. Die leeren Räume sind durch die Behandlung entstandene Kunstprodukte.
- Fig. 3. Purkinjesche Zellen eines wie oben behandelten Stückes Kleinhirnrinde.

- Fig. 4. Körnerschicht eines wie oben behandelten Stückes Kleinhirnrinde. Die mit *k* angegebenen runden leeren Räume entsprechen den Kernen der „Granula“. Im Protoplasma, welches dieselben umgibt, sind sudangefärbte Körnchen enthalten.
- Fig. 5. Ein „Granulum“ eines wie oben behandelten Stückes Kleinhirnrinde. In dem etwas gequollenen Protoplasma finden sich einige sudangefärbte Körnchen.
- Fig. 6. Purkinjesche Zelle eines vor der Verdauung 3 Stunden lang in Formol vorfixierten Stückes Kleinhirnrinde.

### Literatur.

1. Crzebinski, Beitrag zur Morphologie der Nervenzellen bei der Autolyse des Rückenmarks. *Folia neurobiologica* Bd. 6. — 2. Marinesco, Sur les modifications colloïdales des cellules des ganglions spinaux en autolyse. *C. R. Soc. biol.* Bd. 72. — 3. Buscaino, Grassi sterine e lipoidi nel sistema nervoso centrale ecc. *Riv. di patol. nerv. e mentale* 1913. — 4. Ziveri, Sul comportamento delle sostanze lipose del sistema nervoso centrale dopo l'autolisi. *Arch. f. Zellforschung* 1914. — 5. Fontanesi, Über die Autolyse des Nervengewebes. *Biochem. Zeitschr.* Bd. 63. — 6. Laiguel, Lavastine et Jonnesco, Degenerescence lipoïde de la cellule de Purkinje. *C. R. Soc. biol.* Bd. 72. — 7. Ciaccio, Contributo alla distribuzione ed alla fisiopatologia dei lipoidi cellulari. *Arch. f. Zellforschung* Bd. 5. — 8. Derselbe, Les lipoides intercellulaires. *Biol. med.* 1912. — 9. Luna, I lipoidi delle cellule nervose. *Folia neurobiol.* Bd. 6. — 10. Laiguel, Lavastine et Jonnesco, Nouvelles recherches sur les lipoides des cellules de Purkinje du cervelet. *C. R. Soc. biol.* Bd. 72. — 11. Nageotte, Mitochondries du tissu nerveux. *C. R. Soc. biol.* Bd. 67. — 12. Cowdry, Mitochondria and other cytoplasmic constituents of the spinal ganglion cells of the pigeon. *Anat. Record* 1912. — 13. Derselbe, The relation of mitochondria and other cytoplasmic constituents in spinal ganglion cells of the pigeon. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* 1912. — 14. Luna, I condriosomi nelle cellule nervose adulte. *Folia neurobiol.* Bd. 7. — 15. Derselbe, Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi. *Arch. f. Zellforsch.* Bd. 11. — 16. Busacca, L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte. *Arch. f. Zellforsch.* Bd. 11. — 17. Schirokogoroff, Die Mitochondrien in den erwachsenen Nervenzellen des Zentralnervensystems. *Anat. Anz.* 1913. — 18. Sjövall, Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. *Anat. Hefte* Bd. 30. — 19. Kopsch, Die Darstellung des Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen und andern Körperzellen mittels Osmiumsäure. *Sitzungsber. d. Kgl. preuß. Akad. d. Wiss. zu Berlin*, 1902. — 20. Neubauer, Über die chemische und biologische Bedeutung der Osmiumschwärzung. *Verh. d. Ges. d. Naturf.* Karlsbad 1902. 21. Laiguel, Lavastine et Jonnesco, Sur la structure physique de la cellule nerveuse. *Revue neurol.* 1913. — 22. Mühlmann, Über die Lipidosomen im Nucleolus von Ganglienzellen. *Ztbl. f. allg. Path.* 1913. — 23. Biondi, Sul cosidetto „pigmento giallo“ dei centri nervosi. *Riv. ital. di neuropatol. psich.* ed elettrot. 1913. — 24. Derselbe, Sul significato dei corpuscoli delle cellule nervose e nevrogliche. *Riv. ital. di neuropatol. psich.* ed elettroter. 1913. — 25. Noll, Mikroskopischer Nachweis der Protoplasmalipide, insbesondere des Muskelgewebes. *Arch. f. Anat. u. Physiol.* 1913. — 26. Diering, Untersuchungen zur Lehre von der Fettpathose der Niere. *Virch. Arch.* Bd. 217. — 27. Marinesco, Le pigment des cellules nerveuses est un produit d'autolyse. *C. R. Soc. biol.* Bd. 72.

### XVII.

## Über die experimentelle Atherosklerose der Herzklappen.

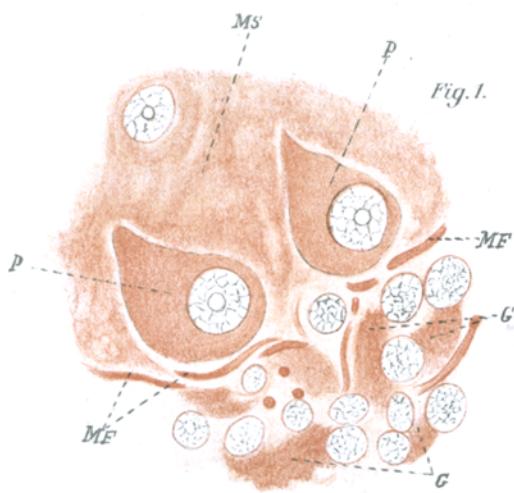
(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

Von

Dr. N. Anitschkow.

(Hierzu Taf. XIV und 1 Textfigur.)

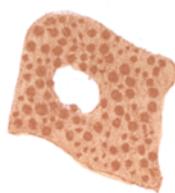
Die pathologischen Veränderungen der Herzklappen beim Menschen, welche der Atherosklerose der Aorta und größeren Arterien analog sind, kommen be-



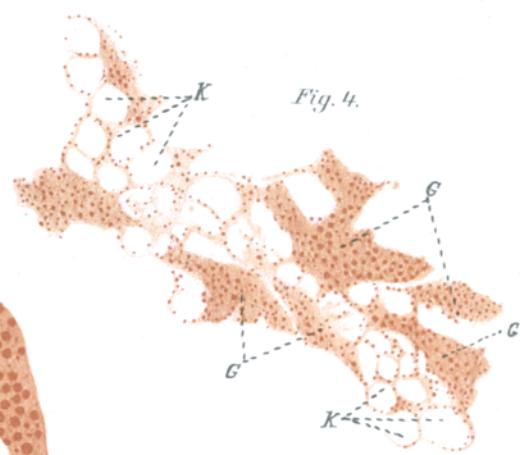
*Fig. 1.*



*Fig. 2.*



*Fig. 3.*



*Fig. 4.*

*Fig. 5.*



*Fig. 6.*

