

(Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Wien
[Vorstand: Prof. Dr. R. Maresch].)

Was sind argentaffine Zellen?

Von

H. Hamperl.

Mit 8 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 4. Juni 1932.)

- I. Einleitung.
- II. Welche Zellen werden durch die verschiedenen Versilberungsmethoden dargestellt?
- III. Welche Schlüsse dürfen wir aus dem gleichen Ausfall einer Versilberungsmethode an verschiedenen Zellen ziehen?
- IV. Welche Dienste können uns die verschiedenen Versilberungsmethoden bei der Erkennung einer bestimmten Zellart, insbesondere der gelben (chromaffinen) Zellen leisten?
- V. Schlußsätze.
- VI. Schrifttum.

I. Einleitung.

Die Ausdrücke „argentaffine“, „argyrophile“ Zellen, „Silberzellen“, „Zellen mit positiver Versilberung“ werden jetzt so vielfach gebraucht, daß es tunlich erscheint, einmal zu untersuchen, was unter diesen Bezeichnungen eigentlich verstanden wird, zu welchen Schlüssen uns eine „positive Silberreaktion“ an einer gegebenen Zellart berechtigt.

Im allgemeinen bezeichnet man einen Gewebsbestandteil als „argentaffin“, wenn er bei der Behandlung mit Silbernitrat, gewöhnlich in Form der ammoniakalischen Silberlösung, durch das Auftreten von Körnchen reduzierten Silbers geschwärzt erscheint. Durch verschiedene Vor- bzw. Nachbehandlung kann man auf diese Weise die verschiedensten Gewebsbestandteile darstellen, wie Nerven- und Bindegewebsfasern, Kittsubstanzen, Zellkörnchen, Zellkerne usw.; sie alle könnte man also mit Fug und Recht argentaffin, bzw. argyrophil nennen. In der vorliegenden Mitteilung wollen wir aber von der Anwendung der Silbermethoden auf Fasern und Kittsubstanzen absehen und uns nur auf die durch die verschiedenen Versilberungsmethoden darstellbaren Zellen beschränken, d. h. diejenigen Zellen, in deren Leib bei der Anwendung von Silbermethoden die bekannten körnigen Silberniederschläge auftreten. Dabei ist es möglich, daß die Silberkörnchen sich um vorher vorhandene Körnchen

wie ein Mantel ablagern und es so „impregnieren“; ebensogut wäre es aber denkbar, daß ein Protoplasmakörnchen von der Silberlösung durchtränkt wird, die dann durch die nachfolgende Reduktion körnig ausfällt, was eher einem Färbungsvorgang entspräche. Bei der Kleinheit der in Rede stehenden Körnchen dürfte sich aber eine diesbezügliche Entscheidung kaum treffen lassen.

Die Verfahren, deren man sich zur Erzeugung des Silberniederschlags bedient, sind sehr verschieden und von ihnen hängt es auch in erster Linie ab, welche Zellen jeweils versilbert werden. Wir wollen daher zunächst die einzelnen Verfahren kritisch besprechen und dann zusammenfassend auf ihre Anwendung zum Erkennen und Darstellen der einzelnen Zellarten eingehen.

II. Welche Zellen werden durch die verschiedenen Versilberungsmethoden dargestellt?

In einer früheren Mitteilung habe ich schon darauf hingewiesen, daß man die in Frage kommenden Silbermethoden in zwei große Gruppen einteilen kann: Diejenigen, wo die ammoniakalische Silberlösung durch die Gewebsbestandteile selbst in einen körnigen Niederschlag umgewandelt wird, wobei also die Zellbestandteile selbst reduzierend wirken; ihnen wurden Methoden gegenübergestellt, wo die Reduktion des Silbers durch eine eigene, von außen herangebrachte Reduktionsflüssigkeit erfolgt.

Zu den ersteren Methoden ist die ursprünglich von *Masson* angegebene Versilberung zu rechnen.

Methode 1.

1. Entparaffinierte Paraffinschnitte von Material, welches in Formalin, *Bouin*-scher Flüssigkeit, *Orth*-scher Flüssigkeit oder in Kalium bichromat-Formalin fixiert wurde, werden 1–2 Stunden in mehrmals zu wechselndem, destilliertem Wasser gewaschen.

2. Versilberung unter Licht- und Luftabschluß durch 24 Stunden in einer auf das Doppelte mit destilliertem Wasser verdünnten *Fontanaschen* Lösung.

Bereitung der Fontanaschen Lösung.

Zu einer 20%igen Silbernitratlösung wird tropfenweise konzentrierter Ammoniak zugesetzt, bis zur Lösung des anfänglich entstandenen Niederschlages, sodann wird unter kräftigem Schütteln wieder 20%ige Silbernitratlösung bis zur bleibenden Opaleszenz zugetropft. Die Flüssigkeit soll nun nicht mehr nach Ammoniak riechen. Nach den entsprechenden Verdünnungen mit destilliertem Wasser wird die Lösung in ein sorgfältig gereinigtes Farbglas filtriert.

3. Kurzes Abspülen mit destilliertem Wasser.

4. Tonung im Goldbad, das folgendermaßen bereitet wird:

Lösung a)	Ammonium-Sulfoeyanid	6 g
	Destilliertes Wasser	100
Lösung b)	Natriumhyposulfat	6 g
	Destilliertes Wasser	100
Lösung c)	Goldchlorid	2 g
	Destilliertes Wasser	100

1 cem der Lösung a) und 1 cem der Lösung b) werden gemischt, dann wird von Lösung c) zugesetzt bis ein Niederschlag eintritt. Die Mischung wird über die Schnitte gegossen und einige Sekunden einwirken gelassen.

5. Waschen mit 6%igem Natriumhyposulfit.

6. Brunnenwasser.

7. Nachfärben.

Ich habe zu wiederholten Malen versucht, mit diesem Verfahren dieselben eindrucksvollen, klaren Bilder zu erhalten wie *Masson*, mußte aber immer wieder die Beobachtung machen, daß die nach dem Silberbade braun oder schwarz erscheinenden Zellen bei der Behandlung mit der unter Punkt 4 angegebenen Mischung abblassen, bzw. unsichtbar werden. Ich habe deshalb die Methode wie folgt abgeändert.

Methode 2.

1. Entparaffinierte Schnitte 1—2 Stunden in destilliertem Wasser waschen.

2. Versilberung der Schnitte in einer Silberlösung, die statt mit 20%gem Silbernitrat sofort mit 10%igem Silbernitrat angesetzt wird und nicht mehr verdünnt und filtriert zu werden braucht.

3. Abspülen mit destilliertem Wasser.

4. Übergießen mit 5%igem wässerigen Natriumthiosulfat.

5. Brunnenwasser.

6. Nachfärbung.

In dieser abgeänderten Form ist die ursprüngliche Methode *Massons* seither von *Feyrter*, *Tehwer*, *Barth*, *Oberndorfer*, *Kahlau* u. a. angewendet worden. Der Erfolg ist derselbe wie bei Verfahren 1: Schwarz bzw. versilbert erscheint vor allem das melanotische Pigment und Propigment, das Lipofuscin, das ja, was seinen Pigmentkern anlangt, nach neueren Anschauungen ebenfalls dem Melanin nahesteht, das Pigment in den Korbzellen der Speicheldrüsen (*Hamperl*), sowie andere pigmentierte Stoffe, wie z. B. das von Zellen aufgenommene Meconium im Neugeborenenendarm und die bekannten mit grobscholligen, braunen Körnchen beladenen Zellen der Darmschleimhaut, insbesondere im Dickdarm. Hierher sind wohl auch die Körnchen zu rechnen, die *Peyron*, *Peyron* und *Corsy*, *Peyron*, *Corsy*, *Surmont*, *Robert* und *Gleize Rambal* in Leberzellen und Leberzellgeschwülsten nachgewiesen haben. Weiterhin werden noch versilbert die gelben (chromaffinen) Zellen im Magen-Darmschlauch und die meisten der sog. Carcinoide. Die beiden letzten allerdings nur dann, wenn das Material frisch fixiert wurde. Bei längerem Verweilen in der Silberlösung können, wie schon *Masson* erwähnt hat, auch andere Zellen im Gewebe Silber reduzieren wie z. B. die Körnchen der eosinophilen Leukocyten, Zellkerne usw.

Ein Nachteil dieses Verfahrens mag sein, daß es bei gewissen Geweben nur an frisch fixiertem Material zum Ziele führt. Längere Zeit nach dem Tode fixiertes Gewebe nimmt leicht einen diffus braunen bzw. schwärzlichen Farbton an, der die Auffindung der tatsächlichen versilberten Gewebsbestandteile erschwert. Der Hauptvorteil der Methode ist, daß

sie leicht und schnell am Paraffinschnitt ausführbar ist und mit außerordentlicher Regelmäßigkeit nur den kleinen Kreis der erwähnten Zellen darstellt. *Masson* hat nun in einer seiner letzten Veröffentlichungen eine ähnliche Versilberungsmethode angegeben, die aber nicht am Schnitt, sondern im Block auszuführen ist:

Methode 3.

1. Fixierung in *Bouinscher* Flüssigkeit durch 3 Tage. (Nach unseren Erfahrungen ist auch Formalinfixierung zulässig.)

2. 2–3 mm dicke Stückchen werden in fließendem Wasser 24 Stunden lang gewaschen.

3. Durch weitere 24 Stunden beläßt man sie in Ammoniakwasser (auf 100 ccm Wasser 2 Tropfen Ammoniak).

4. Durch 24 Stunden verbleiben die Stückchen in 3fach verdünnter *Fontana*-scher Lösung (s. Punkt 2 der Methode 1).

5. Waschen in destilliertem Wasser.

6. Goldtonung in *Cajals* Flüssigkeit durch mehrere Stunden

Ammonium sulfocyanid 3

Natrium-hyposulfit 3

Destilliertes Wasser 100

1% Goldchloridlösung 1

7. Einbettung in Paraffin.

Wie alle der im folgenden zu beschreibenden Stückversilberungen, so hat auch dieses Verfahren den Nachteil, daß es nicht gleichmäßig im ganzen Stück angreift: Die oberflächlichen Gewebsschichten weisen viel stärkere und dichtere Niederschläge auf als die tieferen, ja in der Mitte des Stückchens kann die Versilberung auch ganz fehlen. Dabei sind an den Orten der stärksten Versilberung nicht nur die Protoplasma-körnchen, sondern Zellkerne, Bindegewebsfasern, ja oft auch ganze Zellen versilbert. Es ist dies ja weiter nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß, wie oben erwähnt, bei längerdauerndem Liegen in der Silberlösung die verschiedensten Gewebe silberreduzierend werden.

Es ist deshalb manchmal schwer zu entscheiden, welche Zellen, bzw. Körnchen als versilbert gelten sollen. Offenbar dürfen wir bei dieser Entscheidung nur diejenigen mittleren Schichten berücksichtigen, wo einerseits keine diffuse Niederschlagsbildung erfolgte, wie an der Oberfläche und andererseits nicht jede Versilberung fehlt wie in den mittleren Anteilen. Es liegt aber in der Natur der Sache, daß die Grenzen des für die morphologische Beurteilung brauchbaren Gebietes keine scharfen, sondern fließende sein werden.

Wir können auf Grund unserer Untersuchungen sagen, daß in der am besten versilberten Schicht die Körnchen der gelben Zellen schwarz erscheinen, wobei allerdings auch zumeist Zellkerne mehr oder weniger stark versilbert sind. Auch die Pigmente verhalten sich gleich wie bei den im Schnitt ausgeführten Methoden 1 und 2.

Während bei den bisher besprochenen Methoden die einzelnen Gewebsbestandteile die Reduktion des Silbers besorgten, wird bei der nunmehr zu behandelnden zweiten Gruppe von Methoden das Silbernitrat durch eine eigene Reduktionsflüssigkeit in die schwarzen Silberkörnchen übergeführt. Die Mehrzahl dieser Verfahren verwendet man, gleichviel ob am Schnitt oder im Block, auch zur Darstellung von Nerven- und Bindegewebsfasern (z. B. das Verfahren von *Bielschowsky-Maresch* usw.). Dabei werden aber manchmal auch Zellkörnchen mitversilbert, so daß z. B. *Danisch* die *Bielschowskysche* Methode in der *Agduhrschen* Abänderung zur Darstellung der gelben Zellen im Darm benützen konnte. Für manche Zwecke mag es auch vorteilhaft sein, die Nervenfasern zugleich mit den versilberbaren Zellen dargestellt zu erhalten. Das trifft besonders für folgendes von *Masson* angegebene Verfahren zu.

Methode 4.

1. Fixierung in *Bouinscher* Flüssigkeit 3 Tage (nach unseren Erfahrungen ist auch Formolfixierung möglich).

2. 5%iges neutrales Formalin 2 Monate.

3. 1–2 mm dicke Stücke werden herausgeschnitten und 12 Stunden lang in destilliertem Wasser belassen.

4. Auf 12 Stunden kommen die Stückchen in Ammoniakwasser (200 ccm Wasser mit 2 Tropfen Ammoniak versetzt).

5. Die Stückchen werden 6 Tage im Dunkeln in 8–10fach verdünnter *Fontanascher* Lösung (s. Punkt 2, Methode 1) belassen.

6. Reduktion durch 6–12 Stunden in

Formol	5
Pyrogallussäure	0,5
Wasser	50

7. Paraffineinbettung.

(*Pessin* verdünnt die *Fontanasche* Lösung bloß auf die Hälfte und benützt statt 0,5 Pyrogallol in Punkt 6 5 g Pyrogallol.)

Masson sagt selbst von dieser Methode, daß sie eine „inconstance extrême“ besitzt. Sie stellt manchmal, durchaus nicht immer, die Nervenfasern, regelmäßig jedoch die Körnchen der gelben Zellen und die Pigmente (s. oben), aber auch die chromaffinen Zellen der Nebenniere, allerdings in einem blässeren, braunen Farbton, dar. Dabei sind wiederum die schon oben angeführten Einschränkungen bezüglich der Versilberung im Block zu machen, daß nämlich nur eine gewisse nicht immer mit Sicherheit abschätzbare Schicht des Präparates taugliche Bilder liefert, während darüber hinaus leicht ein von uns nicht zu beeinflussendes Zuwenig, besonders aber ein Zuviel der Versilberung zu Irrtümern führen kann, so daß in zweifelhaften Fällen von diesem Verfahren keine Entscheidung erwartet werden darf, ob eine Zelle versilberbar ist oder nicht. Schon *Masson* hat die Nachteile der beiden letztgenannten Methoden genau gekannt und betont ausdrücklich, daß sie nur in Verbindung und durch Vergleich mit den erstgeschilderten brauchbare Aufschlüsse zu geben imstande sind. Trotzdem wurde die Methode 4

immer wieder als *die Massonsche Methode* bezeichnet und allein angewandt, z. B. von *Pessin* und die so erhaltenen Bilder dann weitgehend zur Deutung und Beweisführung benützt.

Eine weitere bemerkenswerte Methode zur Versilberung von Zellen hat *Hasegawa* angegeben.

Methode 5.

1. Fixieren in 10%igem Formalin.
2. Wässern.
3. Die Stückchen bleiben in 2%iger Silbernitratlösung durch 24 Stunden bei 37°.
4. Abspülen mit destilliertem Wasser.
5. Auf 24 Stunden bei 37° kommen die Stückchen in folgende Silberlösung: Zu 10 ccm einer 2%igen Silbernitratlösung werden 7 Tropfen einer 10%igen Kali- oder Natronlauge zugesetzt, der Niederschlag mit Ammoniak gelöst.
6. Fließendes Wasser.
7. Paraffineinbettung.

Die *Hasegawasche Methode* verzichtet also anscheinend ebenfalls auf die Anwendung eines künstlichen Reduktionsmittels und man hätte erwarten können, daß sie, was ihre Ergebnisse anlangt, den Verfahren an die Seite zu stellen wäre, bei denen die Gewebsbestandteile selbst an Ort und Stelle die ammoniakalische Silberlösung reduzieren. Das trifft aber nur zum Teil zu. Der wesentliche Unterschied zwischen der entsprechenden Blockmethode *Massons* (Methode 3) und der *Hasegawa*-schen besteht kaum in der Verwendung einer etwas anderes bereiteten Silberlösung, sondern darin, daß bei dem *Massonschen* Verfahren durch gründliches Auswaschen in fließendem Wasser und Ammoniakwasser möglichst alle Spuren des Formalins entfernt werden, das ja die Silberlösungen außerordentlich leicht reduziert. Bei der *Hasegawaschen Methode* hingegen wird nach kurzem Auswaschen das Gewebe, das dementsprechend noch immer Formalin enthält, in die Silberlösung übertragen. Hier nimmt es denn auch durch sofortige Reduktion des Silbers sehr schnell einen tiefschwarzen Farbton an. Im histologischen Schnitt ist der Grundton des Gewebes mehr oder minder dunkelbraun, nur einzelne Gewebsbestandteile, vor allem aber die oberflächlichsten Lagen des Stückchens erscheinen tiefschwarz. Die Feststellung, welche Gewebsbestandteile bei diesem Verfahren besonders versilbert werden, ist wiederum nur mit den früher gemachten Einschränkungen möglich: Durch die Versilberung erscheinen geschwärzt die gelben Zellen und die Pigmente; das Nebennierenmark, bzw. die chromaffinen Zellen nehmen einen dunkelbraunen bis braunschwarzen Farbton an; einzelne Zellen der Adenohypophyse können ebenfalls hellbräunlich hervortreten. Die Angabe von *Erös*, daß sich die *Langerhansschen* Inseln des Pankreas versilbern, kann ich an meinen Präparaten nicht bestätigen; nur in einzelnen Fällen waren ganz wenige schwarze Silberkörnchen in den Zellen der *Langerhansschen* Inseln verstreut. Besonders merkwürdig ist der Umstand, daß sich nach dieser Methode Carcinoide versilbern lassen, die mit den

Methoden 1—3 keine Versilberung geben: Es handelt sich um längere Zeit nach dem Tode fixierte Carcinoide aus dem Leichendarm, was *Windholz* als erster beschrieben hat. Nicht entschieden kann dabei werden, ob es sich hier um Carcinoide handelt, die sich auch unter den besten Fixierungsbedingungen nicht mit anderen Methoden versilbert hätten oder ob sie bloß ihre Versilberbarkeit mit den früher angegebenen Methoden durch die zu späte Fixierung verloren haben.

Da auf dem manchmal tiefdunkelbraunen Untergrund die Zellen, die wirklich eine Versilberung geben, schwer zu unterscheiden sind, hat *Törö*, um dieser offenkundigen „Überfärbung“ abzuweichen, die von *Hasegawa* angegebenen Lösungen in größerer Verdünnung benützt und überdies durch Differenzieren der Schnitte mit 2%iger Eisenalaunlösung die störende Braunfärbung des Gewebes wenigstens zum Teil zu entfernen gesucht. Ich benütze eine $\frac{1}{2}$ %ige Eisenalaunlösung, was den Vorteil hat, daß die Differenzierung langsamer und gleichmäßiger vor sich geht. Solche Präparate kann man mit Carmin oder anderen Farbstoffen nachfärben, so daß die so erhaltenen Präparate viel an Klarheit gewinnen. Allerdings bleiben zumeist noch Silberniederschläge um die Nukleolen und an der Oberfläche des Stückchens zurück. Die Methode *Hasegawas* wäre also am besten in folgender Abänderung zu empfehlen.

Methode 6.

1. Fixieren in 10%igem Formalin.
2. Wässern.
3. Die Stückchen bleiben in 1%iger Silbernitratlösung durch 24 Stunden bei 37°.
4. Abspülen mit destilliertem Wasser.
5. Durch 24 Stunden bleiben die Stückchen in folgender Silberlösung: Zu 10 ccm einer 2%igen Silbernitratlösung werden 5 Tropfen einer 10%igen Kali- oder Natronlauge zugesetzt, der Niederschlag mit Ammoniak gelöst und die Flüssigkeit auf das 3fache verdünnt.
6. Fließendes Wasser.
7. Paraffineinbettung.
8. Entparaffinierte Schnitte mit $\frac{1}{2}$ %iger Eisenalaunlösung differenzieren, bis nur mehr die versilberten Zellen schwarz erscheinen.
9. Nachfärben.

Eine der eben geschilderten in gewisser Beziehung ähnliche Methode ist die *V. Grossche*, von *O. Schultze* mitgeteilte Abänderung der *Bielschowskyschen* Methode zur Darstellung von Nervenfasern im Gefrierschnitt.

Methode 7.

1. Gefrierschnitte von Material, das in Formalin fixiert wurde, werden in destilliertem Wasser aufgefangen.
2. Mindestens 1 Stunde bleiben die Schnitte in 10%iger Silbernitratlösung, wobei längeres Verweilen nicht schadet.
3. Übertragen in 3—4mal zu wechselndes Formalin (1 Teil Formalin, 4 Teile Brunnenwasser), bis keine weißen Wolken mehr abgehen, was etwa 10 Min. dauert.
4. Unterdessen bereitet man folgende Silberlösung: Ligu. ammon. caustici wird tropfenweise einer 20%igen Silbernitratlösung zugesetzt, bis der Niederschlag

eben wieder vollständig gelöst ist. Der Schnitt wird nun direkt aus dem Formalin in diese Lösung, der man zu jedem Kubikzentimeter immer einen Tropfen Ammoniak zugesetzt hat, übertragen. Am besten benützt man ein flaches Schälchen und beobachtet die Versilberung mit schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop. Färben sich Bindegewebe und Zellkerne zu schnell oder zu stark, so wird bei einem neuen Schnitt statt 1 Tropfen auf 1 cem 2 oder 3 Tropfen Ammoniak zugesetzt. Die versilberten Stellen erscheinen unter dem Mikroskop gelb bis braun. Wenn sie diese Farbe erreicht haben, wird der Schnitt möglichst schnell mit einer Glasnadel

5. auf 1 Min. in Ammoniakwasser übertragen (1 Teil Ammoniak auf 4 Teile destilliertes Wasser).

6. Destilliertes Wasser.

7. Vergolden, Abspülen mit Natrium thiosulfat, eventuell Nachfärben und Einschuß.

Auch dieses Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß nach dem Silberbade keine eigene Reduktionsflüssigkeit in Anwendung kommt, das Gewebe vielmehr mit Reduktionsflüssigkeit (in diesem Falle Formol) durchtränkt in die ammoniakalische Silberlösung gebracht wird: es handelt sich also gewissermaßen um eine Art *Hasegawa*-Methode am Schnitt. Wie schon aus der Beschreibung ersichtlich, besteht die Hauptschwierigkeit darin, unter dem Mikroskop die Versilberung im richtigen Augenblick zu unterbrechen, was deshalb schwierig ist, weil nicht alle Teile eines Schnittes eine gleich weit fortgeschrittene Versilberung zeigen: Während in einzelnen Bezirken Zellkerne, Protoplasma, Bindegewebe und Nervenfasern weitgehend mit reduziertem Silber imprägniert sind, sind andere Teile noch vollkommen unverändert. Dazu kommt noch, daß die Versilberung, wenn sie einmal im Gange ist, meist sehr schnell fortschreitet und der richtige Augenblick der Unterbrechung nicht immer leicht zu erfassen ist. Alle Versuche durch Abänderungen in der Konzentration der verwendeten Flüssigkeiten diesen Nachteilen abzuhefen, schlugen fehl, desgleichen auch alle Versuche, aufgeklebte und nicht aufgeklebte Paraffin- bzw. Gelatineschnitte nach dieser Methode zu behandeln. Will man also bestimmen, welche Gewebsbestandteile sich darstellen lassen, so muß man genau festlegen, wie weit man die Versilberung treiben darf, da gerade bei diesem Verfahren ein, wenn auch nur sehr kurzes, längeres Belassen in der Silberlösung ganz andere Bilder erzeugt. Ja, abgesehen davon, kann man im selben Schnitt die verschiedensten Stufen der Silberreduktion beobachten. Wir nehmen deshalb nur diejenigen Stellen zur Richtschnur, wo die Kerne noch unversilbert, der Zelleib und die in ihm enthaltenen Körnchen dagegen schon geschwärzt erscheinen. Man kann auf diese Weise im Leib zahlreicher Zellen mit Silber geschwärzte Körnchen nachweisen, wie ich seinerzeit schon vorläufig mitgeteilt habe.

Zunächst werden, abgesehen natürlich von den Nervenfasern, alle die mit der *Hasegawa*schen Methode geschwärzten Zellen dargestellt, also gelbe Zellen, Pigmente, die Körnchen der Carcinoide (s. Abb. 1),

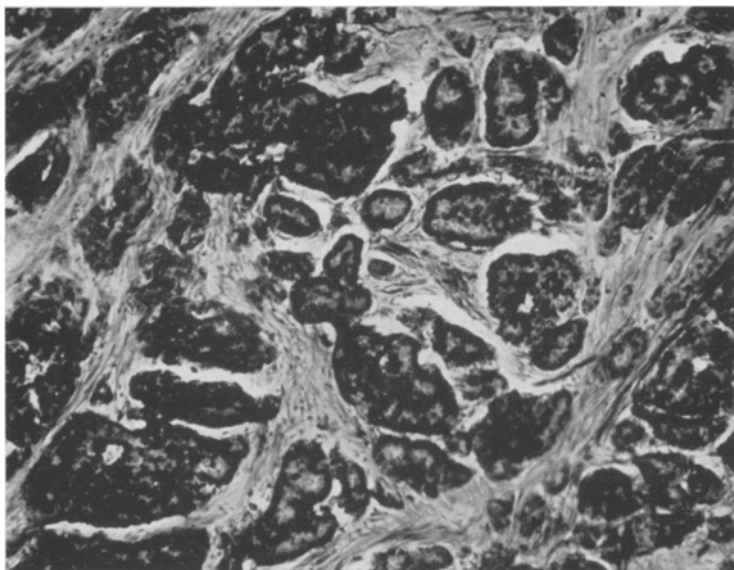


Abb. 1. Carcinoid aus einem Leichendarm. 18 Stunden nach dem Tode (!) in Formalin fixiert. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Die epithelialen Geschwulstanteile stark versilbert.

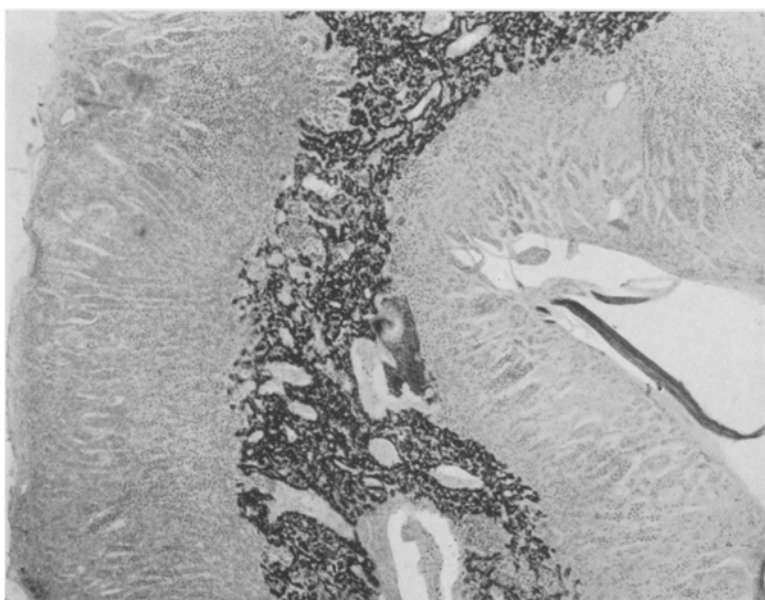


Abb. 2. Normale menschliche Nebenniere. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Nachfärbung mit Carmin. Die Marksubstanz und Nervenfasern (rechts im Bilde an die Nebenniere heranziehend) deutlich versilbert.

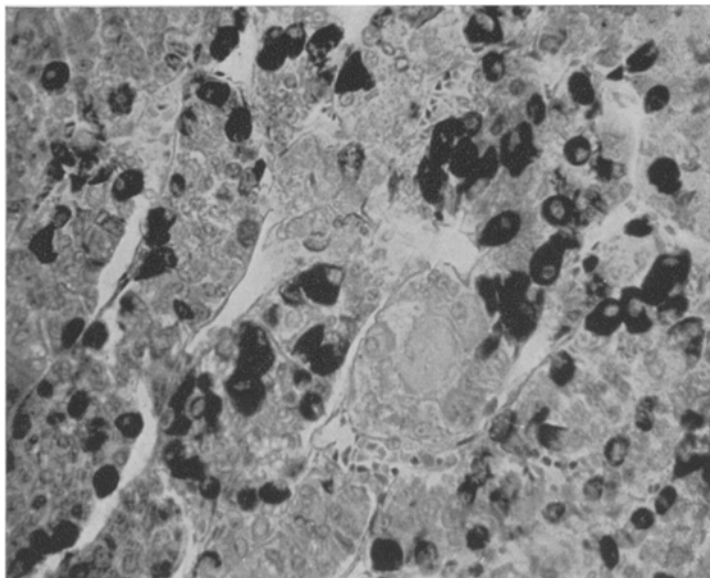


Abb. 3. Normale menschliche Hypophyse, Vorderlappen. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Nachfärbung mit Carmin. Zahlreiche geschwärzte Zellen in den Epithelsträngen (vorwiegend eosinophile Zellen).

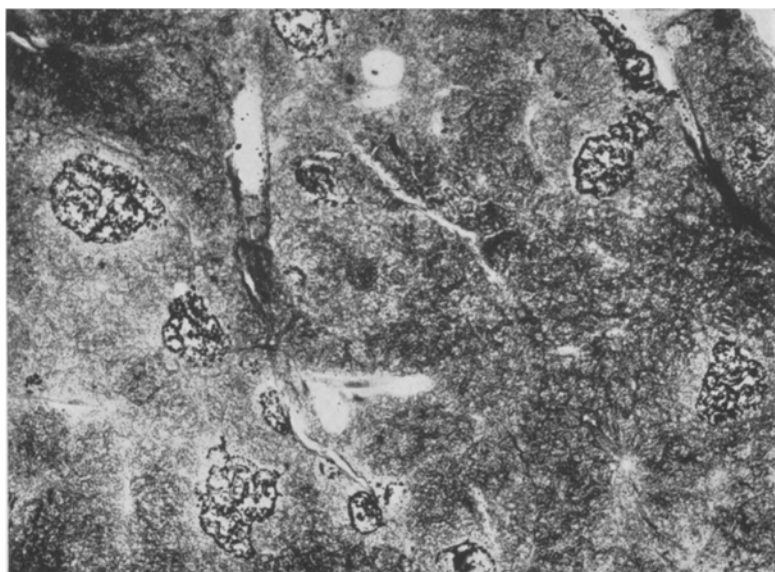


Abb. 4. Normale menschliche Bauchspeicheldrüse. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Deutliche Versilberung der *Langerhansschen Inseln*, das Drüsengewebe stellenweise ebenfalls, jedoch schwächer mitversilbert.

und zwar in Übereinstimmung mit der *Hasegawaschen* Methode auch dann, wenn es sich um nicht frisch fixiertes Leichenmaterial handelt; auch im Nebennierenmark gelingt die Versilberung leicht (s. Abb. 2). In der Adenohypophyse werden in den Epithelzellen basal gelegene Körnchen versilbert (s. Abb. 3), doch scheinen die versilberten Zellen keine der drei mit anderen Methoden zu trennenden Epithelzellarten allein zu umfassen, sondern es können offenbar in wechselnder Weise

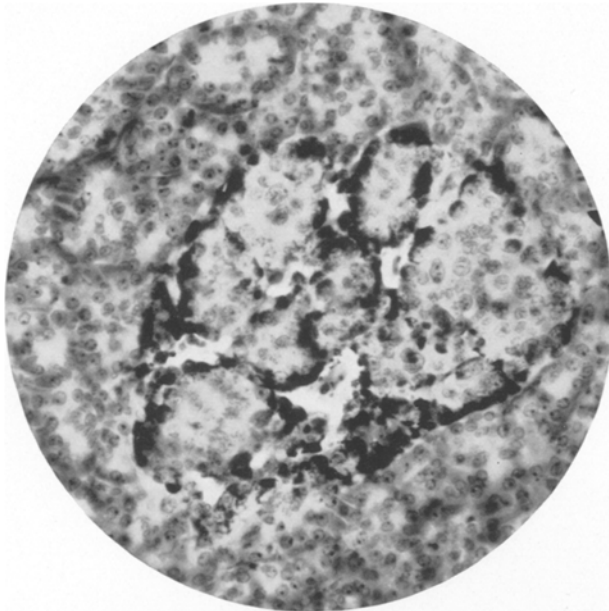


Abb. 5. Normale menschliche Bauchspeicheldrüse, Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Nachfärbung mit Carmin. Eine *Langerhanssche* Insel bei stärkerer Vergrößerung. Die basal in den Zellen gelegenen Körnchen versilbert.

die Körnchen in jeder der drei Arten dargestellt werden, wobei allerdings die eosinophilen Zellen in erster Linie betroffen sind. Dabei ist zu betonen, daß, je länger man die Schnitte in der Silberlösung beläßt, um so mehr versilberte Zellen erscheinen, bis schließlich, wenn der Schnitt schon wegen gleichzeitiger Schwärzung des Bindegewebes und der Kerne unbrauchbar ist, fast alle Zellen der Adenohypophyse versilbert sind. Spärliche feine Körnchen lassen sich in einigen Zellen der Epithelkörperchen nachweisen, die, was Lage und Zahl anlangt, den sog. acidophilen Zellen entsprechen könnten. Besonders bemerkenswert ist das Ergebnis dieser Versilberungsmethode der Bauchspeicheldrüsen: Im menschlichen Pankreas springen zunächst die geschwärzten *Langerhansschen* Inseln (s. Abb. 4) ins Auge. Bei starker Vergrößerung zeigt sich, daß die basalen Zellteile, dort, wo sie den Capillaren anliegen, die Silberteilchen enthalten (s. Abb. 5). Weiterhin werden an den Ausführungs-

gängen Zellen mit breiterer Basis, die die Lichtung nicht erreichen, dargestellt. Sie dürften den hellen Zellen, die *Feyrter* beschrieben hat, entsprechen. Die ebenfalls von *Feyrter* beobachteten, soliden Epithelstränge in der Papilla Santorini erscheinen gleichfalls versilbert (Abb. 6). Schließlich sind noch einzelne geschwärzte Zellen in den Anhangsdrüsen der Papilla Vateri zu erwähnen. Anders verhält sich die Bauchspeicheldrüse des Hundes: Hier kann ich die Angaben von *Lasowsky*, der einzelne

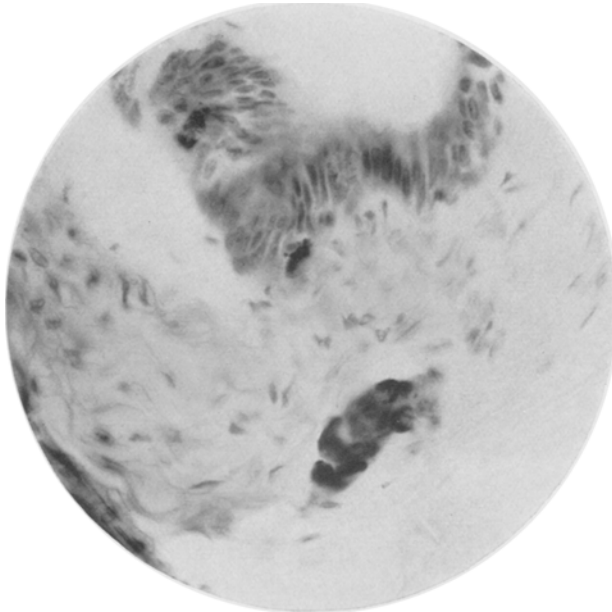


Abb. 6. Normale menschliche Papilla Vateri. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Nachfärbung mit Carmin. Im Epithel des Ductus pancreaticus einzelne versilberte Zellen. Daneben im Stroma einer der soliden von *Feyrter* beschriebenen Stränge, der aus versilberten Zellen aufgebaut ist.

im exkretorischen Parenchym gelegene versilberte Zellen gesehen hat, durchaus bestätigen (s. Abb. 7). Dagegen werden die *Langerhanss*chen Inseln nicht dargestellt, in deren Umgebung die versilberten Zellen manchmal liegen. Ähnliche Zellen scheinen übrigens auch im menschlichen Pankreas in den Drüsen um die *Langerhanss*chen Inseln vorzukommen (s. Abb. 5). Schließlich kann man bei Anwendung dieses Verfahrens auch im Magen einen positiven Befund erheben: Hier sind nämlich mitunter teils im epithelialen Verband der Drüsen, teils mit diesen locker oder überhaupt nicht zusammenhängende Ansammlungen von Kernen in einem scheinbar gemeinsamen Zelleib anzutreffen, in dem sich ebenfalls feinste Körnchen imprägnieren lassen. Auf die Deutung dieser Bilder als Zellsprossungen im Sinne *Massons* soll an anderem Orte noch näher eingegangen werden.

Einen noch weiteren Kreis von Zellen kann man bei Anwendung der von *Kon* und seinen Schülern benützten Silbermethode darstellen, die im wesentlichen dem von *A. und T. Ogata* zur Versilberung des Nebennierenmarkes angegebenen Verfahren entspricht:

Methode 8.

1. Lebensfrische Stückchen kommen sofort auf 24–48 Stunden bei 37° in ammoniakalische Silberlösung, die nach 2 Arten bereitet werden kann:

a) Zu 20 ccm 2%iger Silbernitratlösung Ammoniak zusetzen, bis sich der Niederschlag wieder löst; oder

b) zu 20 ccm 2%iger Silbernitratlösung einen Tropfen 40%iger Natronlauge zusetzen und den entstehenden Niederschlag mit Ammoniak wieder lösen.

2. 1/2 Stunde in Ammoniakwasser.

3. 1 Stunde in 2%ige wässrige Natriumthiosulfatlösung.

4. Fließendes Wasser.

5. Destilliertes Wasser.

6. Fixierung und Einbettung.

Ich habe diese Methode nach dem Vorgange *Ogatas* nur an der Nebenniere geprüft und eine deutliche Schwärzung des Markes erhalten. *Kon* und seine Schüler haben sie auf zahlreiche andere Organe angewandt und in den meisten exokrinen (Ohr - Unterkieferspeicheldrüse, Submaxillaris, Niere, Leber, *Brunnersche* Drüsen) und endokrinen Drüsen versilberbare Körnchen darstellen können. Außerdem wurden versilbert die Leukocyten, besonders die eosinophilen Leukocyten, die Zellen des reticuloendothelialen Systems, sowie Melanin.

Auch bei dieser Methode wird also keine Reduktionsflüssigkeit verwendet; sie unterscheidet sich aber von allen anderen Methoden in erster Linie dadurch, daß frisches, unfixiertes Gewebe mit der Silberlösung in Berührung gebracht wird. Sie kann uns nur zeigen, daß reduzierende Stoffe, die durch die Fixierung offenbar zerstört werden, im menschlichen Körper weit verbreitet sind.

Schließlich sei noch erwähnt, daß *Ramond*, *Ramond* und *Hirschberg* die Silberimprägnation nach *Levaditi* an der Magenschleimhaut in Anwendung gebracht haben. Wie ich seinerzeit mitgeteilt habe, werden durch diese Methode die Körnchen der gelben Zellen geschwärzt, zugleich aber auch meist in ganz unregelmäßiger Weise die verschiedensten Gewebsbestandteile wie Bindegewebsfasern, binnenzellige Kanälchen usw., so daß von der Verwendung dieser Methode zu histologischen Feststellungen nur abgeraten werden kann.

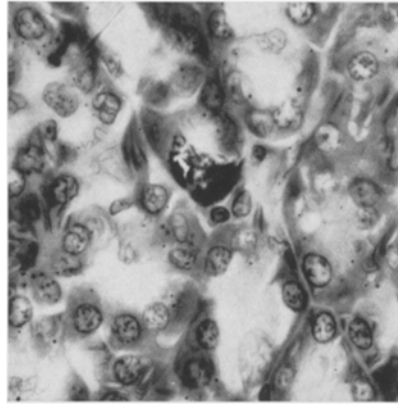


Abb. 7. Normales Hundepankreas. Versilberung nach *Gros-Schultze* (Methode 7). Nachfärbung mit Carmin. Eine der von *Lasowsky* beschriebenen, im exokrinen Anteil der Drüse verstreuten versilberbaren Zellen.

Wir sehen also, daß mit den geschilderten Silbermethoden ein je nach dem eingeschlagenen Verfahren größerer oder kleinerer Kreis von Zellarten sich darstellen läßt, wobei die größte Zahl von den letztgenannten, die kleinste von den erstbesprochenen Methoden erfaßt wird. Wenn wir also nach den oben gegebenen Begriffsbestimmungen alle Gewebsbestandteile als argentaffin bezeichnen, die bei Behandlung mit Silberlösungen durch das Auftreten von Körnchen reduzierten Silbers geschwärzt werden, so müssen wir je nachdem, welche der geschilderten Methoden wir zur Erzeugung des Silberniederschlags verwenden, den Kreis der argentaffinen Zellen jeweils weiter oder enger ziehen. Schon daraus geht zur Genüge hervor, daß *die Bezeichnung einer Zellart als „argentaffin“ ohne gleichzeitige Angabe der Methode, mit der diese Eigenschaft festgestellt wurde, wertlos ist*, gelingt es doch mit entsprechenden Verfahren fast in jedem Gewebe Silberniederschläge zu erzeugen. Aber nicht einmal bei Anwendung ein und desselben Verfahrens, die Methoden 1 und 2 ausgenommen, ist es immer möglich, mit Sicherheit zu sagen, wie viele und welche Zellen als versilberbar zu betrachten sind. Gerade bei der *Gros-Schultzeschen* Methode wurde betont, daß, je nachdem, ob man die Zeit der Versilberung kürzer oder länger wählt, bald mehr, bald weniger Zellen versilbert erscheinen, wie z. B. in der Hypophyse. Alle diese Gedankengänge leiten dazu, *die Bezeichnung „argentaffin“ mit großer Vorsicht zu gebrauchen oder besser überhaupt nicht anzuwenden, da ja von einer Affinität bestimmter Zellen zu Silber, etwa in dem Sinne, daß Zellen das Silber aus einer Lösung zu sich ziehen, nicht die Rede sein kann.*

III. Welche Schlüsse dürfen wir aus dem gleichem Ausfall einer Versilberungsmethode an verschiedenen Zellen ziehen?

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, die mit Silber darstellbaren Zellen einander gleichzusetzen, gewissermaßen zu einem System, wie etwa das chromaffine System zusammenzufassen. Wir müssen uns deshalb fragen, welche Schlüsse wir aus dem gleichen positiven Ausfall der einzelnen Silbermethoden an verschiedenen Zellen auf ihre Gleichheit, Ähnlichkeit oder Verwandtschaft ziehen dürfen.

Benützen wir als Ausgangspunkt unserer Betrachtungen das Verfahren, das eine größere Zahl von Zellen erfaßt, das *Gros-Schultzesche*, so werden im wesentlichen folgende Zellen dargestellt: die Zellen des Nebennierenmarkes, der *Langerhansschen* Inseln, Zellen in der Adenohypophyse, gelbe Zellen und Pigmente. Es wird wohl niemand bezweifeln, daß sich die Zellen des Nebennierenmarkes, Hypophysenvorderlappens und der *Langerhansschen* Inseln, trotz der allen gemeinsamen Silberreaktion, sowohl funktionell als auch in ihrem übrigen morphologischen Verhalten voneinander grundlegend unterscheiden. Wenn sie sich aber mit ein und derselben Methode darstellen lassen, so zeigt das

doch wohl nur, daß sie sich in einer Richtung gleich verhalten und nichts weiter. Die Versilberung wäre dabei mit einer histologischen Färbemethode zu vergleichen, die auch die verschiedensten und gegensätzlichsten Gewebsbestandteile in gleicher Weise darstellt, wie z. B. das Methylviolett Amyloid, Knorpel und Schleim in gleicher Weise färbt. Die gemeinsame positive Silberreaktion ist offenbar durch eine mehr allgemeine Eigenschaft dieser Zellen bedingt, die nichts mit ihrer eigenartigen Leistung zu tun haben muß.

Bei der Unterscheidung der mit der *Gros-Schultzeschen* Methode in gleicher Weise versilberbaren Zellen des Nebennierenmarkes, der Hypophyse und der *Langerhansschen* Inseln, hat uns also das sonstige verschiedene Verhalten in morphologischer und funktioneller Beziehung unterstützt. Bei Besprechung der gelben Zellen aber, deren funktionelle Bedeutung keineswegs sicher feststeht, können wir nur das morphologische Verhalten allein heranziehen. Immer wieder wird der Versuch gemacht, sie und die ihnen sehr nahestehenden Carcinomide des Darmes entweder mit den Nebennierenmarkzellen oder den *Langerhansschen* Inseln in Zusammenhang zu bringen.

Besprechen wir zunächst das Verhalten der gelben Zellen zu den *Langerhansschen* Inseln. Würden wir von den gelben Zellen wirklich nur die mit der *Gros-Schultzeschen* Methode zu erzielende Silberreaktion kennen, so könnte man zunächst der Meinung sein, die gleichen Zellen wie in den *Langerhansschen* Inseln in Darmepithel eingestreut vor sich zu haben. Allerdings müßte der gleichzeitige positive Ausfall derselben Methode an der Adenohypophyse und am Nebennierenmark sowie an den Pigmentzellen, die doch offenbar alle von den *Langerhansschen* Inseln verschiedene Gebilde darstellen, dazu drängen, die Gleichheit der gelben Zellen und der *Langerhansschen* Inseln noch durch andere histologische Methoden zu erhärten. Ist uns doch z. B. von den Zellen der *Langerhansschen* Inseln bekannt, daß sie feine, mit Methylviolett darstellbare Körnchen enthalten. Schon nach diesen Körnchen suchen wir vergeblich in den gelben Zellen. Wenn wir nun gar hören, daß die gelben Zellen auch chromaffin sind, die Zellen der *Langerhansschen* Inseln aber — entgegen der Behauptung von *Erös* — eine Chromaffinität nicht zeigen, so wird dadurch der Unterschied zwischen beiden Zellarten ein so großer, wie etwa zwischen den in ähnlicher Weise wie die gelben Zellen chromaffinen und sich bei der *Gros-Bielschowskyschen* Silbermethode ebenfalls imprägnierenden Nebennierenmarkzellen und den Zellen der *Langerhansschen* Inseln, zwei Zellarten, deren Gleichheit man aus den obenerwähnten Gründen kaum wird annehmen wollen.

Dasselbe trifft auch auf das Verhältnis der *Langerhansschen* Inseln zu den Carcinoiden zu. *Saltykow* hat ja seinerzeit die Carcinomide als eine Art von Inseladenomen auffassen wollen und in der Tat erinnert manchmal die Anordnung von soliden Zellsträngen in diesen Geschwülsten

an den Bau der *Langerhansschen* Inseln. Wenn *Saltykow* nun aber als Beleg für diese Auffassung den positiven Ausfall der Silberimprägnation nach *Gros-Schultze* verwenden will, so können wir ihm nicht zustimmen. Da die Zellen der Carcinome vielfach den normalen gelben Zellen im Darmepithel entsprechen, müssen alle Einwände, die wir gegen eine Gleichstellung der gelben Zellen mit den Zellen der *Langerhansschen* Inseln eben angeführt haben (z. B. das Fehlen bzw. Vorhandensein der Chromaffinität — *Oberndorfer*) auch gegen die Annahme einer engeren Beziehung zwischen Carcinomen und *Langerhansschen* Inseln erhoben werden. Die gleiche Verwandtschaft wie zwischen den Zellen der Carcinome und der *Langerhansschen* Inseln bestünde — auf Grund des Ausfalles der Silberreaktion — auch zwischen diesen Zellen und anderen ebenfalls versilberbaren, aber doch ganz verschiedenen Zellen, wie z. B. den Zellen der Adenohypophyse. Daß aber in einer eben durch die Versilberung aufgedeckten Beziehung *Langerhanssche* Inseln und Carcinome wirklich verwandt sind, soll nicht bestritten werden, nur fehlt uns jeder Maßstab, um zu beurteilen, ob diese Verwandtschaft eine wesentliche oder bedeutungslose Seite des Zellebens betrifft.

Viel verlockender und besser begründet ist es, die *gelben Zellen*, bzw. die Carcinome mit den Zellen des Nebennierenmarkes in Zusammenhang zu bringen. Alle diese Zellen zeigen nämlich eine deutliche Chromaffinität, so daß zu der allen diesen Zellen eigenen positiven Silberreaktion nach *Gros-Schultze* und auch nach *Hasegawa* und *Törös* noch ein weiteres gemeinsames, bedeutungsvolles Merkmal hinzukäme.

Allerdings zeigen sich schon bei Anstellung der *Chromreaktion* zwischen gelben Zellen und Nebennierenmarkszellen gewisse Unterschiede. Im *Nebennierenmark* erhalten wir die kennzeichnende Braunfärbung nur dann, wenn wir das Organ frisch in die Kaliumbichromat enthaltende Flüssigkeit bringen; vorherige Fixierung z. B. mit Formalin zerstört das Vermögen der Zellen, sich unter Einwirkung des Chromsalzes braun zu färben. Die Fähigkeit zu dieser Reaktion wird dementsprechend auf die Anwesenheit eines sehr empfindlichen Stoffes zurückgeführt und der Vorgang selbst von *Cordier* und *Lison*, sowie *Gerard*, *Cordier* und *Lison* als eine durch ihn bewirkte Reduktion, bzw. eine durch das Kaliumbichromat hervorgerufene Oxydation dieses Stoffes zu einer gefärbten Verbindung aufgefaßt, was auch *Clara*, sowie *Clara* und *Canal* bestätigen konnten. Dem entspricht auch die Tatsache, daß man die reduzierende Fähigkeit dieses Stoffes auch durch Zusammenbringen der frischen Nebenniere mit ammoniakalischer Silberlösung nachweisen konnte (*A.* und *T. Ogata*, *Kutschera*). Viele Umstände machen es wahrscheinlich, daß es sich dabei um das Adrenalin, bzw. den ihm zugrunde liegenden Brenzkatechinkern handelt.

Anders die gelben Zellen. Der hier die Reaktion auslösende reduzierende Stoff ist nicht so empfindlich und bleibt auch nach Formol-

fixierung wirksam erhalten, so daß man auch bei nachträglicher Chromierung eine Gelbfärbung wahrnehmen kann (*Tehver*). Diese reduzierenden Fähigkeiten benutzen wir auch, wenn wir die gelben Zellen nach der Methode von *Masson* (Methode 1 und 2) am fixierten und eingebetteten Material darstellen, wo, wie obenerwähnt, die Zellen, bzw. die Zellkörnchen selbst es sind, die das Silber zu dem schwarzen Niederschlag reduzieren. Gerade dieses Verfahren liefert aber an den Zellen des Nebennierenmarkes begreiflicherweise regelmäßig negative Ergebnisse. Während wir also in der Nebenniere einen sehr empfindlichen reduzierenden Körper vor uns haben, ist dieser in den gelben Zellen durch eine größere Widerstandsfähigkeit ausgezeichnet, bzw. es ist wie *Cordier* und *Lison* sich ausdrücken, eine vollkommene Oxydation zur gefärbten Verbindung an ihm schwerer zu erzielen wie bei dem Adrenalin.

Morphologisch ähnlich wie die gelben Zellen verhalten sich bei der *Massonschen* Versilberungsmethode die Pigmente (Melanine). Da der reduzierende Kern im Melanin aber bemerkenswerterweise derselbe ist wie im Adrenalin, nämlich das Brenzkatechin (s. auch die engen Beziehungen zwischen Nebenniere und Pigmentbildung, wie sie beim Morbus Addison sinnfällig zum Ausdruck kommen), habe ich seinerzeit als wahrscheinlich angenommen, daß der reduzierende Körper in den gelben Zellen ebenfalls diesem Stoffe nahestehen dürfte, eine Ansicht, die inzwischen von *Cordier* und *Lison* auf histologischem Wege erhärtet wurde. Damit ist aber auch bewiesen (s. auch *Clara*), daß eine gewisse chemische Verwandtschaft zwischen Nebennierenmarkzellen und gelben Zellen besteht, eine Verwandtschaft, die uns auch den gleichen positiven Ausfall der Chromierung und gewisser Silbermethoden verständlicher macht, die wir aber nicht überschätzen dürfen, da die bloße Anwesenheit eines reaktionsfähigen Brenzkatechnikernes noch sehr wenig über die funktionelle Bedeutung einer Zelle aussagt. Denselben Brenzkatechnikern wie das Adrenalin weist ja auch das Melanin auf, dem doch sicherlich eine ganz andere funktionelle Bedeutung zukommt als dem Adrenalin. Es ist sehr die Frage, ob die Körnchen der gelben Zellen nicht überhaupt den Melaninen näherstehen, als der chromaffinen Substanz in der Nebenniere, bzw. dem Adrenalin, da sie ja eine, wenn auch sehr schwache, aber immerhin doch sichtbare, gelbliche Eigenfarbe besitzen können.

Ich habe deswegen schon in einer früheren Arbeit dagegen Einspruch erhoben, daß man die gelben Zellen bloß auf Grund der Chromreaktion zum chromaffinen System rechnet, bzw. bei der Namensgebung ihre Eigenschaft, sich bei Anwendung von Chromsalzen zu bräunen, zu sehr in den Vordergrund rückt. Sowohl die Zellen des chromaffinen Systems sind ja außer durch ihre Chromaffinität noch durch eine Reihe anderer, morphologischer Merkmale gekennzeichnet, die keinesfalls zu vernachlässigen sind (Protoplasmakörnclung, Beziehung zu sympathischen

Ganglienzellen usw.). Aus allen diesen Gründen muß ich gegen *Obern-dorfer* daran festhalten, daß die gelben Zellen und die Zellen des Nebennierenmarkes, wenn sie auch beide chromaffin sind und sich mit denselben Silbermethoden darstellen lassen, abgesehen von einer gewissen Verwandtschaft, voneinander morphologisch und wahrscheinlich auch funktionell wesensverschiedene Zellen darstellen. An dieser Stellungnahme würde sich auch dann nichts ändern, wenn es gelänge, weitere gleiche Färbereaktionen dieser beiden Zellarten aufzufinden¹.

Dieselben Einwände wie *gegen die Annahme einer engeren Beziehung zwischen gelben Zellen und Nebennierenmarkszellen* sind *gegen einen Zusammenhang zwischen chromaffinem System und den gelben Zellen* nahestehenden, sich bei Färbung und Imprägnation gleich verhaltenden *Carcinoiden* zu erheben. Überdies kennen wir ja zweifellose Geschwülste des chromaffinen Systems, die sich ihrer ganzen Bauart nach von den Carcinoiden des Darmes wesentlich unterscheiden. Wir möchten genau so wie bei den gelben Zellen viel eher eine Verwandtschaft mit den pigmentführenden Zellen annehmen, so etwa wie *Aschoff*, der, wenn auch nicht auf Grund der gleichen Überlegung, von *Nävi* oder wie *Feyrter*, der von „Pigmentmälern der Schleimhaut“ spricht.

Es hat sich also gezeigt, daß es nicht angeht, auch nur eine der Zellarten, die sich mit den verschiedenen Silbermethoden darstellen lassen, deswegen mit einer anderen ebenfalls darstellbaren Zellart morphologisch gleichzusetzen. *Die positive Silberreaktion, die „Argentaffinität“, ist eine je nach dem angewandten Verfahren mehr oder weniger zahlreichen Zellarten zukommende Eigenschaft, die uns höchstens eine gemeinsame Seite der verschiedenen Zellarten enthüllt, über der aber alle übrigen voneinander abweichenden, ebenfalls morphologisch feststellbaren Eigentümlichkeiten nicht vernachlässigt werden dürfen.* Eine der vielen morphologisch feststellbaren Eigenschaften einer Zelle aber als bedeutungsvoller als alle übrigen anzusehen, bedeutet bereits eine Wertung, die naturgemäß subjektiv sein muß und deshalb abzulehnen ist.

Die Summe der durch histologische Methoden erfaßbaren Merkmale einzelner Zellen reicht aber nur hin, um sie als morphologisch gleich, ähnlich oder verwandt zu erkennen; inwieweit gegebene Zellen funktionell oder überhaupt biologisch miteinander verwandt, ähnlich oder gleich sind, bleibt dabei im Dunklen.

IV. Welche Dienste können uns die verschiedenen Versilberungsmethoden bei der Erkennung einer bestimmten Zellart, insbesondere der gelben (chromaffinen) Zellen leisten?

Wenn wir also auch den Ausfall der jeweiligen Silberreaktion für die verwandtschaftlichen Beziehungen der Zellen untereinander für weniger bedeutungsvoll halten müssen, so bleibt doch die Silberreaktion, wenn

¹ Siehe Nachtrag bei der Korrektur am Schlusse der Arbeit.

sie an einer Zellart mit Regelmäßigkeit festzustellen ist, ein so in die Augen springendes Kennzeichen, daß wir uns seiner zur Erkennung der Zellen gerne und mit Erfolg bedienen können. Eine histologische Methode, die uns die Erkennung einer Zellart erleichtern soll, wird aber um so besser und wertvoller sein, je weniger Gewebsbestandteile sie darstellt: *Je kleiner der Kreis der erfaßten Zellen, um so größer der Wert der Methode*, um so größer ihre „Elektivität“, die sich, wenn nur eine einzige Zellart dargestellt wird, bis zur „Spezifität“ steigern kann. Von diesem Standpunkt aus müssen wir unter den geschilderten Silbermethoden *den Verfahren den Vorzug geben, durch die die wenigsten Zellen und diese regelmäßig erfaßt werden: den Verfahren von Masson, 1 bzw. 2*. Alle anderen Methoden erfassen einen so großen Kreis von Zellen, daß es schwer fällt, auf Grund ihres positiven Ausfalls eine Zellart als solche zu erkennen. Viel schwerwiegender ist aber in dieser Beziehung der Umstand, daß ihnen die „Regelmäßigkeit“ mangelt, insofern, als je nach der Schicht des Präparates, wie in den verschiedenen Blockmethoden oder je nach der Dauer der Versilberung, wie bei dem *Gros-Schultzeschen* Verfahren bald mehr, bald weniger Zellen dargestellt erscheinen. Wir können deshalb weder den negativen Ausfall als Beweis des Fehlens einer sonst versilberbaren Zellart ansehen, noch den positiven Ausfall ohne weiteres als Beweis ihres Vorhandenseins benutzen.

Wenn also z. B. *Danisch* u. a. zur Feststellung von gelben Zellen ein Verfahren benutzten, das auch Zellen des chromaffinen Systems darstellte, so müssen die Ergebnisse dieser Methode mit Vorsicht aufgefaßt werden und erst durch andere, die Zellen des chromaffinen Systems nicht färbende überprüft werden, wie z. B. die *Massonsche* Methode. Das trifft vor allem für jene als gelbe Zellen angesprochenen Gebilde zu, die außerhalb des epithelialen Verbandes der Krypten liegen (sog. periglanduläre argentaffine Zellen), wo uns also Form und Lage der Zellen als Kennzeichen im Stiche lassen. *Masson* bezeichnet deswegen auch ganz mit Recht alle die Feststellungen, die *Danisch* bezüglich der im Gerüst gelegenen gelben Zellen gemacht hat, als fraglich, so daß also die Theorie des Einwanderns von gelben Zellen aus dem Gerüst in das Darmepithel als durchaus unbewiesen zu betrachten ist.

Derselbe Einwand ist auch *Erös* entgegenzuhalten, wenn er Zellen im Gerüst des Hundemagens beschreibt, die seiner Meinung nach ebenfalls zu den gelben Zellen zu rechnen sind. Eine Nachprüfung dieser mit der *Hasegawaschen* Methode erhobenen Feststellungen durch die *Massonsche* Methode, die ich unternahm, hatte ein vollkommen negatives Ergebnis, wie das auch von *Tehwer* angegeben wird.

Auch die von *Lasowsky* im Hundepankreas mit der *Gros-Schultzeschen* Methode festgestellten Zellen (s. Abb. 7) können nicht als gelbe Zellen angesprochen werden, da sie sich durch die *Massonsche* Methode nicht darstellen lassen. Ihre Bedeutung bleibt unklar.

Aber auch der positive Ausfall des Massonschen Verfahrens braucht keinen unbedingten Beweis zu bilden, daß eine außerhalb des Darmepithels gelegene Zelle wirklich eine gelbe Zelle ist, denn diese Methode stellt zwar mit bemerkenswerter Regelmäßigkeit die gelben Zellen dar, man kann aber umgekehrt nicht sagen, daß alle von ihr dargestellten Zellen gelbe Zellen sind (s. auch Peyron und Prenant). Ebenso wie die Chromaffinität nicht eine bloß einer Zellart zukommende Eigenschaft ist, sondern vielmehr nach Verne allen Körpern eignet, die einen aromatischen Kern mit zwei Hydroxylgruppen oder eine Hydroxyl- und eine Amino-

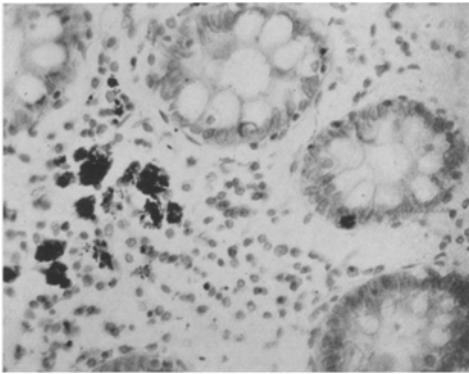


Abb. 8. Menschlicher Dickdarm, wegen Krebs reseziert. Versilberung nach Methode 2. Nachfärbung mit Carmin. In einer Krypte eine gelbe Zelle (versilbert) im epithelialen Verbinde. Im Gerüst zahlreiche Zellen mit ebenfalls versilberten, jedoch gröberen Körnchen (keine gelben Zellen!).

gruppe in Ortho- oder Parastellung enthalten, so ist auch die Massonsche Silbermethode nur eine Reaktion auf die Anwesenheit eines reduzierenden Körpers, wahrscheinlich desselben, der der Chromaffinität zugrunde liegt, der aber außer in den gelben Zellen auch in den Pigmenten enthalten sein kann. Nun kommen aber gerade in der Darm-schleimhaut besonders in der Schleimhaut des Dickdarmes und des Wurmfortsatzes, Zellen vor, die ebenfalls die Massonsche Silberreaktion gebendes Pigment enthalten (s. Abb. 8).

Es ist allerdings in verschiedenen großen, meist groben, schmutzigen braunen Schollen abgelagert, was bei Hämatoxylin-Eosinfärbung vor Verwechslungen mit gelben Zellen schützen kann. Mit der Anwesenheit dieser Zellen im Gerüst der Darmschleimhaut, insbesondere des Wurmfortsatzes und des Dickdarms, müssen wir also immer rechnen. Wenn daher Pessin von Zellen berichtet, die im Wurmfortsatzgerüst um die Krypten liegen und durch verschieden große, manchmal sehr umfangreiche versilberbare Körnchen ausgezeichnet sind, so ist damit durchaus noch nicht erwiesen, daß es sich um gelbe Zellen handelt, ja nach der Beschreibung der versilberten Körnchen ist es eher wahrscheinlich, daß dies nicht der Fall ist; die kennzeichnenden versilberbaren Körnchen der gelben Zellen sind nämlich fein, fast staubförmig. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß es nicht wirklich gelbe Zellen im Gerüst gibt, die durch den von Masson beschriebenen Wucherungs- bzw. Sprossungsvorgang dorthin gelangt sind, den wir (s. oben) auch im Magen feststellen konnten. Die gelben Zellen sind eben nicht bloß durch ihre Versilberbarkeit, sondern durch eine Reihe von anderen, nicht zu vernachlässigenden

morphologischen Merkmalen ausgezeichnet, wie z. B. die Chromaffinität.

Als ganz ungeklärt ist die Stellung der Zellen zu betrachten, die *Lasowsky* im atrophischen Hundepankreas gesehen hat: Sie sind chromaffin und lassen sich nach der *Gros-Schultzeschen* Methode versilbern. Es sei in diesem Zusammenhange nur daran erinnert, daß in den Speicheldrüsen der Cephalopoden ebenfalls chromaffine Zellen nachgewiesen werden konnten, die sicherlich nicht als echte gelbe Zellen anzusprechen sind.

V. Schluß.

Es hat sich also gezeigt, daß je nach der angewandten Versilberungsmethode ein größerer oder kleinerer Kreis von Zellen mit verschiedener Regelmäßigkeit erfaßt werden kann, sich also als „argentaffin“ erweist. Die Bezeichnung einer Zellart als „argentaffin“ ist ohne Angabe der benutzten Methode wertlos, da dieselbe Zellart bei Anwendung eines anderen Versilberungsverfahrens sehr wohl „nicht argentaffin“ sein könnte. So werden z. B. bei Anwendung der *Gros-Schultzeschen* Methode (Methode 7) Pigmentzellen, gelbe Zellen und Zellen des Nebennierenmarkes, der *Langerhansschen* Inseln und Zellen in der Adenohypophyse dargestellt, bei der *Massonschen* Versilberung (Methode 2) jedoch nur gelbe Zellen und Pigmentzellen. Der Begriff „argentaffin“, d. h. „mit Versilberungsmethoden darstellbar“, ist also in dieser allgemeinen Fassung abzulehnen.

Da keines der im ersten Abschnitt geschilderten Verfahren eine Zellart allein darstellt, ist es nicht angängig, bloß nach dem Ausfall einer Versilberungsmethode eine Zellart als solche erkennen zu wollen, es müssen vielmehr alle histologisch faßbaren Kennzeichen von denen freilich der Ausfall der Silberreaktion eines der hervorstechendsten ist, berücksichtigt werden. Besonders trifft dies für die außerhalb des epithelialen Verbandes im Schleimhautstroma des Verdauungsschlauches liegenden versilberbaren Zellen epithelialer Herkunft (*Masson*) zu, die leicht mit anderen, ebenfalls versilberbaren, pigmentierten Zellen im Schleimhautstroma verwechselt werden könnten.

Gleichfalls nicht zulässig ist es, bei Zellarten, die sich sonst voneinander unterscheiden, bloß auf Grund des gleichen Ausfalles einer Silbermethode auf Gleichheit oder weitgehende Verwandtschaft zu schließen. Hier gelten *Goethes* Worte:

„Wir sollten, dünkt mich, immer mehr beobachten, worin sich Dinge, zu deren Erkenntnis wir gelangen mögen, voneinander unterscheiden, als wodurch sie einander gleichen. Das Unterscheiden ist schwerer, mühsamer als das Ähnlichfinden und wenn man recht gut unterschieden hat, so vergleichen sich alsdann die Gegenstände von selbst. Fängt man damit an, die Sachen gleich oder ähnlich zu finden, so kommt man leicht in den Fall seiner Hypothese oder seiner Vorstellungsart zulieb Bestimmungen zu

übersehen, wodurch sich die Dinge sehr voneinander unterscheiden.“ (Naturlehre, 1789.)

Nachtrag bei der Korrektur:

Als die vorliegende Mitteilung bereits im Druck war, erschien die Arbeit von *Erös* „Eine neue Darstellungsmethode der sog. „gelben“ argentaffinen Zellen des Magendarmtraktes“ im Zbl. Path. 54, 385 (1932). *Erös* berichtet in dieser Arbeit über Untersuchungen mittels des *Reichert*schen Fluoreszenzmikroskops, die zur Aufdeckung einer eigentümlichen, gelblichen Eigenfluoreszenz der gelben Zellen, sowie der Zellen der *Langerhans*schen Inseln und anderer endokriner Organe geführt haben. *Erös* erblickt in diesem Untersuchungsergebnis gewissermaßen eine neuerliche Bestätigung des Zusammenhangs, bzw. der Verwandtschaft von gelben Zellen, *Langerhans*schen Inseln und anderen endokrinen Organen, für die er früher auf Grund des Ausfalles von Ver Silberungen bereits eingetreten war.

Da ich selbst mit Untersuchungen im Fluoreszenzmikroskop beschäftigt bin, die demnächst veröffentlicht werden sollen, habe ich Gelegenheit gehabt, die Angaben von *Erös* sogleich einer Nachprüfung zu unterziehen. Diese führte zunächst zu einer vollkommenen Bestätigung der Angaben von *Erös*, was die Eigenfluoreszenz vieler gelber Zellen anlangt. Nicht bestätigen kann ich aber die Angaben über die Eigenfluoreszenz der *Langerhans*schen Inseln. Im übrigen sind Stoffe, die eine gelbliche Eigenfluoreszenz aufweisen, derart verbreitet im menschlichen Körper (sehr viele Lipide, wie z. B. die in Speicheldrüsen, Nieren, Leber, Nebennieren usw. zu findenden, sowie das Lipofuscin der glatten Muskeln), daß man aus dieser Eigenschaft allein durchaus zu keinen Schlüssen auf Ähnlichkeit oder Verwandtschaft zwischen verschiedenen Zellarten berechtigt ist.

Bemerkenswert ist noch, daß die gelbliche Eigenfluoreszenz der gelben Zellen auch nach Chromierung zu sehen ist. Da sonst die Verbindung mit einem Schwermetallsalz jede Eigenfluoreszenz auslöscht, spricht auch dieser Befund für die Richtigkeit der Anschauungen von *Cordier* und *Lison*, daß nämlich die bei Chromierung auftretende Gelbfärbung der gelben Zellen nicht einer Chromsalzablagerung, sondern einer Umwandlung (Oxydation) eines in den Zellen selbst vorhandenen Stoffes zuzuschreiben ist.

Auf das ganz verschiedene Verhalten der Carcinoide unter dem Fluoreszenzmikroskop soll an anderer Stelle noch näher eingegangen werden.

Schrifttum.

Ältere Arbeiten sind angeführt in:

Hamperl: Über die „gelben (chromaffinen)“ Zellen im Epithel des Verdauungstraktes. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 2 (1925). — Über die „gelben (chromaffinen)“ Zellen im gesunden und kranken Magen-Darmschlauch. Virchows Arch. 266 (1927).

Neuere Arbeiten:

Aschoff: Über die sog. Appendixcarcinome. Verein Freiburger Ärzte, Sitzg v. 1. Juli 1910. Münch. med. Wschr. **1910**, Nr 36, 1914. — *Barth*: Untersuchungen an Neuromen und Carcinoiden des Wurmfortsatzes. Virchows Arch. **273**, 62 (1929). *Clara, M.*: Untersuchungen über die basalkörnnten Zellen des Schweines (*Sus serosa* dom.) Z. mikrosk.-anat. Forschg **30**, 467 (1932). — *Clara, M. u. F. Canal*: Histochemische Untersuchungen an den Körnchen in den basalkörnnten Zellen des Darmepithels. Z. Zellforschg **15**, 801 (1932). — *Cordier et Lison*: Etude histochemique de la substance chromo-argentaffine de la cellule de *Kultschitzky*. Bull. Histol. appl. **7**, 140 (1930). — *Erös, Gedeon*: Über die argentaffinen Zellen der Schleimhaut des Magen- und Darmtraktes. Frankf. Z. Path. **36**, 2 (1928). — Über die Bedeutung der argentaffinen Zellen. Frankf. Z. Path. **40**, 155 (1930). — *Feyrter, F.*: Über angeborene heterotope knotige Gewebswucherungen des menschlichen Magens und Darmes. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **27** (1931). — Nebenpankreas und Adenomyom des Darmes. Wien. med. Wschr. **1929**, Nr 14. — Zur Frage der Carcinomide. Verh. 26. Tagg dtsch. path. Ges. **1931**, 287. — *Gáspár, I.*: Metastazing „carcinoid“ tumor of jejunum. Amer. J. Path. **6**, 515 (1930). — *Gerard, Cordier et Lison*: Sur la nature de la réaction chromaffine. Bull. Histol. appl. **7**, 133 (1930); C. r. Soc. Biol. Paris **105**, 876 (1930). — *Hampert, H.*: Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie menschlicher Speicheldrüsen. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **27** (1931). — Über die Versilberung von Zellkörnnetungen und ihre Bedeutung. Wien. klin. Wschr. **1921**, Nr 18. — *Kahlau, G.*: Versuch zur Beeinflussung der „gelben Zellen“ des Darmes durch Hormone. Z. exper. Med. **80**, 190 (1931). — *Kon*: Studies on the Silver Reaction of the Tissue. Trans. jap. path. Soc. **17**, 43 (1927). — *Lasowsky*: Zur Morphologie der sog. argentaffinen Zellen der Pankreasdrüse. Frankf. Z. Path. **41** (1931). — Zur Morphologie des atrophischen Prozesses der Bauchspeicheldrüse beim Hund. Virchows Arch. **269**, 209 (1928). — *Masson*: Carcinoids (argentaffin-cell tumors) and nerve hyperplasia of the appendicular mucosa. Amer. J. Path. **4**, 3 (1928). *Oberndorfer*: Diskussionsbemerkung zu *Saltykow*. Verh. dtsch. path. Ges. **1912**, 306. — Die Geschwülste des Darmes. *Henke-Lubarsch*, Bd. IV/3. 1929. — Altes und Neuere über Appendix, Appendicitis, Appendixcarcinomide. Münch. med. Wschr. **1928**. — *Pessin*: The enterochromo-argentaffin cells. Arch. of Path. **11**, 171 (1931). — *Prenant*: Diskussionsbemerkung zum Vortrage von *Peyron* und Mitarbeitern. Bull. Assoc. franç. Etude Canc. **13**, No 9 (1924). — *Ramond, F.*: Diskussionsbemerkung zum Vortrage *Massons*. Soc. méd. Hosp. **1922**, 969. — *Ramond et Hirschberg*: Apropos de l'imprégnation argentique de la muqueuse gastrique. Soc. Anat., Juli 1923. — *Ritchie, Gorton*: Argentaffin Tumors of the small intestine. (A report of four cases, one with metastases.) Arch. of Path. **10**, 6 (1929). — *Saltykow*: Diskussionsbemerkung zum Vortrage *Feyrters*. Verh. 26. Tagg dtsch. path. Ges. **1931**, 295 u. 298. — *Schultze, O.*: Neues zur mikroskopischen Untersuchung des Zentralnervensystems. Sitzgsber. physik.-med. Ges. Würzburg **1918**. *Tchver, J.*: Beitrag zur Kenntnis der Histologie der Duodenaldrüsen bei den Haussäugetieren. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **18**, 71 (1929). — Über die enterochromaffinen Zellen der Haussäugetiere. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **21**, 462 (1930). — *Cellules de Nussbaum et de Stöhr* comme cellules enterochromaffines. Bull. Histol. appl. **1929**, No 3. — *Törö*: Über enterochromaffine Zellen. Verh. anat. Ges., 38. Verslg. Anat. Anz. Erg.-H. — Bedeutung und Entstehung der Zellgranula in der Darmresorption. Z. Anat. **94**, 1 (1931). — *Verne*: Zit. nach *Cordier et Lison*.