

Aus dem Pathologischen Institut der Westfälischen Landesuniversität zu Münster
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. HERBERT SIEGMUND).

Zur Morphologie und Histochemie nervöser Elemente.

I. Mitteilung.

Die Fluorochromierung markhaltiger Nervenfasern mit Acridinorange*.

Von

NORBERT SCHÜMMELFEDER.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juni 1950.)

Ausgangspunkt der eigenen Untersuchungen war die Frage: inwieweit sind die bekannten histologischen Bau- und Strukturelemente des peripheren markhaltigen Nerven vital vorhanden? Wenn wir im wesentlichen der prägnanten Darstellung von v. MURALT¹ folgen, so besteht die markhaltige Nervenfaser aus 3 Hauptelementen: der *Achsenzylinder* (*Axon*) ist der innere, durchlaufende Teil, umgeben von einem Markhohlzylinder, der *Markscheide*, welcher seinerseits umhüllt wird von der *SCHWANNschen Scheide* (*Neurolemm*) mit eigenen Kernen (*SCHWANNsche Kerne* oder *Lemmoplasten*). In regelmäßigen Abständen treten an der markhaltigen Nervenfaser Einschnürungen auf, die nach ihrem Entdecker *RANVIERSche Schnürringe* genannt werden. Bei *Rana esculenta* beträgt der Abstand zwischen diesen Schnürringen 2—3 mm, je nach dem Durchmesser der Faser (v. MURALT). Durch die Einschnürungen entstehen Zwischenstücke (*internodale Strecken*), die nach Ansicht von v. MURALT ganz besondere funktionelle Einheiten darstellen sollen (vgl. jedoch AUTRUM und SCHNEIDER²). Der Markhohlzylinder hat immer nur die Länge einer internodalen Strecke und bildet eine internodale Scheide, die von dem äußerst feinen Neurolemm umkleidet ist. In jedem internodalen Stück liegt der zum Neurolemm zugehörige *SCHWANNsche Kern* mit der ihn umgebenden *cytoplasmatischen Region*. Sehr wahrscheinlich ist das Neurolemm ganz um den Markhohlzylinder herumgeschlagen, so daß auch zwischen Axon und Markscheide eine trennende Membran liegt (*Axolemm* oder *Achsenzylinderscheide*). Die Anordnung der *SCHWANNschen Kerne* ist sehr regelmäßig, ihre Lage ist bezüglich der Faserachse von einem internodalen Abschnitt zum anderen immer um 180° verschoben.

Bei der noch reizbaren Einzelfaser können auch die sog. *SCHMIDT-LANTERMANNschen Einkerbungen* (*Incisuren*) im polarisierten Licht und

* Ein Teil der Ergebnisse wurde von H. SIEGMUND und N. SCHÜMMELFEDER auf der 34. Tagg der Dtsch. Ges. für Pathologie zu Wiesbaden kurz vorgetragen.

bei der Ultraviolett-mikroskopie deutlich erkannt werden (v. MURALT). Sie durchbrechen in regelmäßigen Abständen als schräggestellte Einschnitte innerhalb der internodalen Strecke die Markscheide.

Zur Vitaldarstellung markhaltiger Nervenfasern wurde von TONUTTI³ die Fluorochromierung mit dem basischen Fluorochrom Acridinorange angegeben, nachdem bereits früher HIRT und Mitarbeiter⁴ mit einem „Spezialtrypaflavin“ fluoreszenzmikroskopisch am lebenden Tier Nervenfasern beobachtet hatten. Wurde am Frosch der Plexus lumbosacralis mit einer Lösung von Acridinorange (1:20000—100000) in physiologischer Kochsalzlösung berieselt, so konnten an ungeschädigten oder ungereizten Nerven die eben genannten histologischen Bauelemente von TONUTTI nur zum Teil festgestellt werden. Die Nervenfasern fluorescierten hell grünlich, wobei sich das Axon als hellerer Streifen abhob. An den Fasern konnten keine Unterbrechungen innerhalb der internodalen Abschnitte der Markscheiden entsprechend den SCHMIDT-LANTERMANNschen Einkerbungen festgestellt werden. Die RANVIERSchen Schnürringe zeigten an ungeschädigten Präparaten keine besonderen Strukturen. Erst wenn die Nerven oberhalb der Beobachtungsstelle kräftig mechanisch gereizt oder aber durchschnitten wurden, trat plötzlich innerhalb des Schnürringes eine purpurrot leuchtende Kreuzfigur (das RANVIERSche Kreuz) in Erscheinung. Von TONUTTI wurde bislang keine eingehende Analyse seiner Beobachtungen vorgenommen, jedoch knüpft weitgehende Folgerungen an seine Befunde, welche die als sicher angenommenen Befunde und Ansichten der Nervenphysiologie wenigstens für die Verhältnisse im lebenden Organismus in Frage stellen.

Methoden und Material.

Als Farbstoff wurde bei unseren Versuchen Acridinorange (3,6-Tetramethyldiaminoacridin) stand. „Bayer“ verwandt. Die Eigenschaften des Acridinorange wurden von STRUGGER und Mitarbeiter⁵ eingehend analysiert und SCHÜMMELFEDER⁶ untersuchte genauer die physiko-chemischen Mechanismen der Färbung tierischen Gewebes mit diesem Fluorochrom. Die benutzten Fluoreszenzmikroskope für Auflicht- und Durchlichtbeobachtung im Blau- und Ultraviolettlicht beschrieb kürzlich SCHÜMMELFEDER⁶. Wir verweisen bezüglich Einzelheiten auf die genannten Arbeiten.

Als Versuchstiere kamen Winterfrösche (*Rana esculenta*) während der Monate Januar, Februar und März zur Verwendung. Die Tiere wurden ohne Fütterung in einem kühlen Raum gehalten.

Eigene Versuche.

Auf Grund der eigenen Fragestellung war es erforderlich, zu prüfen, welche histologischen Strukturen am fixierten Nerven durch Acridinorange fluorochromiert werden können. Nur bei denjenigen Bauelementen der markhaltigen Nervenfasern, die am fixierten Präparat fluorochromiert werden können, kann die Frage geprüft werden, ob sie vital vorhanden und nachweisbar sind.

Mit den bisher üblichen histologischen Methoden, insbesondere verschiedenen Imprägnationsverfahren mit Silberverbindungen, werden ganz charakteristische, immer wieder reproduzierbare Bilder erhalten, wie sie in Abb. 1, welche wir der Monographie von v. MURALT¹ entnehmen, dargestellt sind. Das *Neurokeratin-* oder *Spongiosagerüst* wurde von

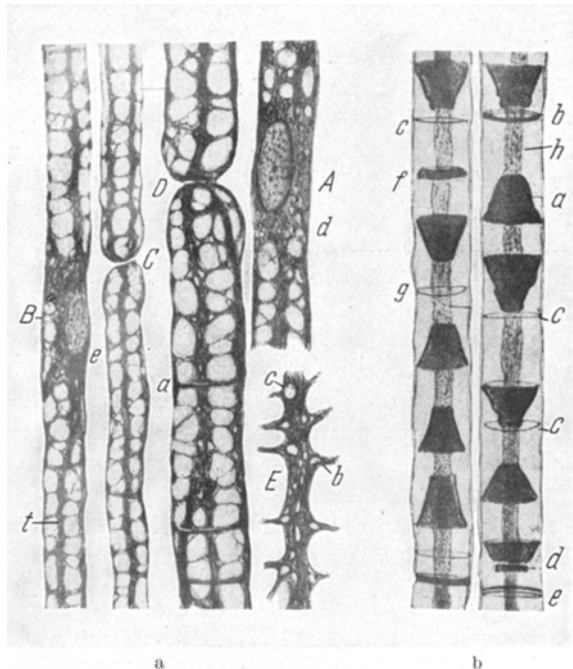


Abb. 1a u. b. a Alkoholbehandelte, mit Silber imprägnierte Nervenfasern der Katze. *A* und *B* cytoplasmatische Regionen um den SCHWANNschen Kern herum; *D* RANVIERScher Schnürring an einer dicken Faser; *C* RANVIERScher Schnürring an einer dünnen Faser; *E* longitudinale Balken (stark vergrößert); *a* fissurale Ringe; *b* und *c* Vacuolen; *e* Kern; *t* longitudinale Trabecula (nach CAJAL, aus v. MURALT). b Nervenfasern des Kaninchens in Formolpyridinmangan fixiert und mit Silber imprägniert. *a* Incisur mit Trichter; *b*, *c*, *e* und *g* solitäre Ringe; *h* Axon (nach CAJAL, aus v. MURALT).

EWALD und KÜHNE⁷ und KÜHNE und CHITTENDEN⁸ auf Grund von Lösungs- und Verdauungsversuchen als „keratinartig“ bezeichnet, die Darstellung desselben soll nach v. MURALT erst nach Herauslösung der Lipide (Alkoholbehandlung) möglich sein, wodurch allerdings auch das Eiweißgerüst verändert wird. Im sichtbaren Licht ist von diesem Gerüst an der lebenden bzw. isolierten, noch reizbaren Einzelfaser des Nerven nichts zu sehen, doch fand v. MURALT bei der Untersuchung überlebender, noch reizbarer Nervenfasern im kurzwelligen Ultraviolett ($\lambda = 257 \text{ m}\mu$) ein deutliches Netzgerüst, das besonders am RANVIERSchen Schnürring ausgeprägt war. Er vermutet, daß die starke Ultraviolettabsorption

des Gerüsts durch einen Gehalt an Cystin bedingt ist. Nach der Beschreibung und den beigegeführten Mikrophotographien, schlägt das Netzgerüst am Schnürring „wie das Korbgeflecht einer Fischreue“ gegen den Achsenzylinder um. An der internodalen Strecke war im Beginn der Beobachtung das Netzgerüst nicht so deutlich zu sehen, doch nahm die Schärfe und Deutlichkeit der Zeichnung mit dem Altern der Faser vom Schnürring aus gegen die internodalen Strecken hin zu. Diese Beobachtung macht es nach v. MURALT wahrscheinlich, daß eine gewisse Denaturierung auch hier „trotz erhaltenen Lebens der Faser“ (besser wohl: bei erhaltener Reizbarkeit) schon vorliegt und daß hierdurch die auf den Mikrophotographien der Ultraviolettbeobachtung so deutlich sichtbare Zeichnung entsteht. Ob dieses Netzgerüst mit dem Neurokeratingerüst identisch ist oder ob dagegen in der Ultraviolett Aufnahme das Reticulum, das von der SCHWANNschen Scheide um die Markscheide gebildet wird, zur Darstellung kommt, läßt v. MURALT offen, doch hält er dieses Netzgerüst für eine vitale (!) Struktur, da er sie an der isolierten, reizbaren Einzelfaser sah. Bezüglich der übrigen Einzelheiten sei auf Abb. 1 verwiesen.

A. Die Fluorochromierung der fixierten markhaltigen Nervenfasern.

1. Versuchsanordnung.

Aus dem Plexus lumbosacralis von dekapitierten Winterfröschen wurden einzelne größere Nervenstränge herauspräpariert und 48 Std in 4%igem Formol fixiert. Die Nervenstücke wurden anschließend kurz gewässert und dann unter der Präparationslupe in Einzelfasern zerlegt. Diese wurden 10 min bzw. 16 Std in Acridinorange 1:10000 gefärbt und dann nochmals gewässert.

Ergebnis. Im 10 min lang gefärbten Präparat waren an den Einzelfasern die aus der normalen Histologie bekannten Strukturen, wie sie in Abb. 1 dargestellt sind, deutlich und gut differenziert zu beobachten. Das grün fluoreszierende Neurokeratingerüst der Markscheide wies ein überraschend ähnliches Bild wie bei der Silberimprägnation der alkoholbehandelten Faser auf, so waren insbesondere die longitudinale Trabecula und heller gelbgrün fluoreszierende Vacuolen deutlich sichtbar (vgl. Abb. 2). Gelegentlich fanden sich auch in nicht ganz regelmäßigen Abständen fissurale Ringe; oder aber häufiger SCHMIDT-LANTERMANNsche Incisuren mit Golgi-Trichtern. Die RANVIERSchen Schnürringe wiesen ähnlich wie in der Abb. 1 keine besonderen Strukturen auf, so konnten weder RANVIERSche Kreuze noch Quermembranen innerhalb des Achsenzylinders an dieser Stelle der Faser beobachtet werden. Die SCHWANNschen Kerne in den cytoplasmatischen Regionen waren in ihrer Fluoreszenzfarbe und -helligkeit wenig von der markhaltigen Faser unterschieden. Eine deutliche Abgrenzung des Achsenzylinders war nur innerhalb des Schnürringes möglich, wo er etwas dunkler grün als das Neurokeratingerüst der Markscheide fluorescierte.

In dem 16 Std gefärbten und anschließend 6 Std gewässerten Präparat waren longitudinaler Balken, cytoplasmatische Region und SCHWANNsche Kerne orangerot bis kupferrot gefärbt. Die Vacuolen im Neurokeratingerüst wiesen eine gelbgrüne bis gelborange Färbung auf. Unter der Bestrahlung mit ultraviolettem oder blauen Licht veränderte sich die Färbung der Vacuolen in gelbweiß bis grünlichweiß.

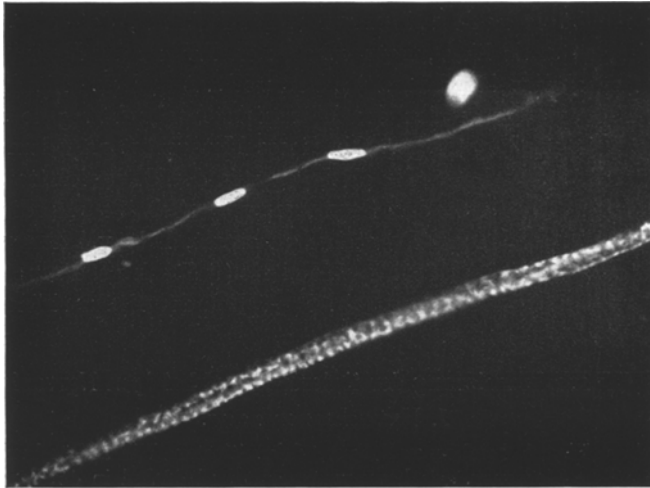


Abb. 2. Alkoholfixierte, markhaltige und marklose Nervenfasern aus dem Plexus lumbosacralis vom Frosch. Fixierungsdauer 48 Std. Färbung 6 Std. Acridinorange 1:10 000. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal. Kopie einer Farbaufnahme auf Agfa-Color.

2. Versuchsanordnung.

Entsprechende Färbungsversuche wurden mit 48 Std in 96%igem Äthylalkohol fixierten Nervenstücken aus dem Plexus lumbosacralis von Winterfröschen durchgeführt.

Ergebnis. Das Neurokeratingerüst (Spongiosagerüst) des alkoholfixierten Präparates verhielt sich färberisch ebenso wie am formolfixierten Nerven, doch war es hier wesentlich zarter und feinmaschiger dargestellt, insbesondere fehlte die Ausbildung einer ausgesprochenen longitudinalen Trabecula. Die übrigen Strukturelemente (RANVIERScher Schnürring, SCHMIDT-LANTERMANNsche Einkerbungen, Golgi-Trichter, cytoplasmatische Region und Achsenzyylinder) verhielten sich — außer den SCHWANNschen Kernen — wie am formolfixierten Präparat (Abb. 3). Die SCHWANNschen Kerne leuchteten kräftig hellgrün, wobei deutlich das heller fluorescierende Chromatingerüst unterschieden werden konnte.

Abgesehen von den SCHWANNschen Kernen, die weiterhin hellgrün fluorescierten, war nach 16stündiger Färbung die Fluoreszenzfarbe der einzelnen Elemente ebenso wie am formolfixierten Nerven in orangerot bis kupferrot umgeschlagen.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß es mit der Acridinorange-Fluorochromierung leicht gelingt, die sonst nur mit der Silberimprägnation darstellbaren Strukturelemente der markhaltigen Nervenfasern darzustellen. Dabei ist auffällig, daß die Darstellung des Neurokeratingerüsts nicht nur am alkoholbehandelten sondern auch am formolfixierten, noch lipoidhaltigen Nerven gelingt. Die Ausbildung des Gerüsts ist bei den beiden angewandten Fixierungsarten etwas unterschiedlich. Bei der Formolfixierung entsprach das Bild praktisch in allen Einzelheiten (longitudinale Trabecula, Vacuolen, fissurale Ringe) dem nach Silberimprägnation der alkoholbehandelten Faser (vgl. Abb. 1), während die Darstellung des Neurokeratingerüsts im alkoholfixierten Nerven in den eigenen Versuchen mit Acridinorange-Fluorochromierung wesentlich zarter war. In diesen Präparaten war auch das Verhalten der Vacuolen ein anderes als am formolfixierten Präparat. Nach Formolfixierung fluorescierten die Vacuolen im nur kurz

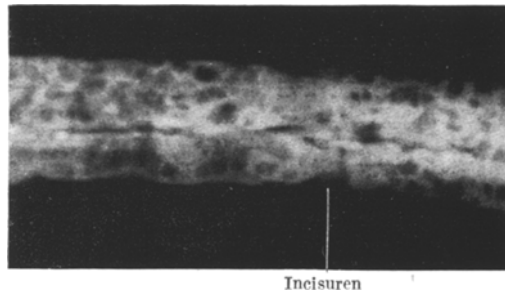


Abb. 3*. Zwei formalinfixierte, markhaltige Nervenfasern aus dem Plexus lumbosacralis vom Frosch. Fixierungsdauer 24 Std, Färbung 6 Std mit Acridinorange 1:10 000. Objektiv 90mal (Ölimmersion), Periplan-Ocular 10mal.

gefärbten Nerven hellgelbgrün, nach längerer Färbezeit meist ebenso wie vorher gelbgrün oder seltener gelborange. Unter der Bestrahlung mit ultraviolettem oder blauem Licht verschob sich der gelborange Farbton der Vacuolen nach gelblich- bis grünlichweiß, während das Neurokeratingerüst weiterhin orangerot bis kupferrot gefärbt blieb. In der alkoholfixierten Nervenfasern dagegen war die Färbung der Vacuolen im gleichen Farbton, d. h. nach kurzer Färbung grün, nach langer Farbstoffeinwirkung orangerot bis kupferrot, erfolgt wie die des Neurokeratingerüsts, doch war die Fluoreszenzintensität der Vacuolen so erheblich geringer, daß eine deutliche Differenzierung gegeben war. Das unterschiedliche Verhalten beruht aller Wahrscheinlichkeit darauf, daß im formolfixierten Nerven die Lipide erhalten geblieben sind, die den Farbstoff Acridinorange als undissoziiertes Molekül speichern. In molekulardisperser Form fluoresciert Acridinorange gelbgrün und weist keinen „Konzentrationseffekt“ (STRUGGER⁵) auf, der bei dem Acridinorangeion zur Rotfärbung führt.

* Die Abb. 3—11 wurden auf Agfa-Isopan-ISS 21/10⁰ DIN mittels Leica mit Mikroansatz aufgenommen. Die Kleinbilderaufnahmen wurden nachvergrößert.

Die Darstellung von Fibrillen im Achsenzyylinder fehlte bei der Acridinorange-Fluorochromierung der fixierten Nerven. Dies ist um so bemerkenswerter, als es leicht gelingt nachzuweisen, daß auch die feinsten Bindegewebsfibrillen bei der Acridinorange-Färbung alkoholfixierten oder formolfixierten Mesenteriums des Meerschweinchens in grüner Farbe elektiv dargestellt werden.

B. Die Fluorochromierung der unfixierten, toten Nervenfasern.

1. Versuchsanordnung.

Aus dem Plexus lumbosacralis von Winterfröschen wurden einzelne größere Nervenstränge herauspräpariert, 48 Std in 0,6 %iger Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur bzw. im Eisschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden die Nervenstücke 10 min bzw. 1 Std lang mit Acridinorange-Lösung 1:10000 in physiologischer Kochsalzlösung eingefärbt und gleiche Zeiten in farbloser Kochsalzlösung vom Farbstoffüberschuß befreit. In einem kleinen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung wurde dann das Nervenstück unter der binokularen Präparationslupe präpariert. Mit zwei feinen, vorn lanzettenförmig abgeflachten, spitzen Nadeln wurde das Bindegewebe vom Nerven gelöst und ähnlich wie ein Gummifingerling über den Nerven zurückgeschoben. Unter stärkerer Vergrößerung wurde sodann das Perineurium gespalten und nach beiden Seiten wie ein Schlauch in der Richtung des Nerven zurückgestoßen. Die nun freiliegenden Einzelfasern wurden in wenig physiologischer Kochsalzlösung flach ausgebreitet. Auf die Isolierung einer einzelnen Faser wurde verzichtet, um das Präparat möglichst wenig zu schädigen. Nach Auflegen eines Deckglases konnte das Präparat im Fluoreszenzmikroskop beobachtet werden. Bei der eingehaltenen Präparationsmethode waren im fertigen Nervenpräparat genügend Fasern einzelliegend, um eine eingehende Analyse des morphologischen Verhaltens der Fasern durchführen zu können. Zur Beobachtung wurden vorzugsweise dicke Fasern aus der Gruppe A ausgewählt, die wohl zur Untergruppe A α gehörten, wenn auch das physiologische Verhalten — der eigentliche Maßstab der Unterteilung in Untergruppen — nicht geprüft wurde.

Ergebnis. Färbezeit 10 min. Diese Färbezeit reichte offensichtlich nicht aus, um die Fasern des Nervenstückes in der gesamten Länge gleichmäßig einzufärben. Die Fluoreszenz an den Enden der Nervenfasern war deutlich kräftiger als in den mittleren Abschnitten, die während des Färbeproganges vom Bindegewebe und Perineurium umgeben waren. Die Diffusion des Farbstoffes ging somit innerhalb der markhaltigen Faser rascher vonstatten als durch das Bindegewebe und Perineurium hindurch. An der Einzelfaser ergab sich im Fluoreszenzmikroskop ein außerordentlich klares Bild. Die Fasern selbst leuchteten hell in grün-gelben Farbton, dabei konnte aber an jeder Faser nur ein Teil der vorhergenannten Strukturelemente festgestellt werden. So fehlte vollkommen die Darstellung eines Neurokeratingerüsts, auch waren SCHMIDT-LANTERMANNsche Einkerbungen und Golgi-Trichter in der typischen Ausbildung nicht festzustellen. An einzelnen Fasern mit sonst homogen leuchtendem Markhohlzyylinder fanden sich jedoch in etwa entsprechenden,

regelmäßigen Abständen in der äußeren, etwas heller fluoreszierenden Markscheidenkontur schwache Einziehungen. An anderen Fasern waren in gleichen Abständen Einschnitte in der Markscheide festzustellen, auf die weiter unten eingegangen wird. Die am RANVIERSchen Schnürring unterbrochene Markscheide leuchtete erheblich heller als der nur am Schnürring deutlich sichtbare, grünlich oder olivgrün fluoreszierende Achsenzylinder. Während die Markscheide im Verlauf der internodalen Stücke heller fluoreszierte, war das Neurolemm nur schwach grün gefärbt. Die Kerne des Neurolemms leuchteten kräftig hellgrün, wobei das Chromatingerüst dieser Kerne wie am alkoholfixierten Nerven die stärkste Fluoreszenz aufwies und etwa das gleiche Bild wie im fixierten histologischen Präparat darbot. Am RANVIERSchen Schnürring setzte sich die Markscheide deutlich und mit scharfer, meist leicht gewölbter Grenze gegen den Achsenzylinder und das über den Schnürring ziehende Neurolemm ab. An Stellen, wo SCHWANNsche Kerne der Markscheide aufgelagert waren, wurde nicht selten eine dem Kern angepaßte Einbuchtung des Markhohlzylinders beobachtet. Die Schnürringe boten ein unterschiedliches Bild. Der hier freiliegende Achsenzylinder war in jedem Fall dunkelgrün bis leicht olivgrün gefärbt, während das über den Schnürring ziehende Neurolemm eine fast gleich helle oder etwas schwächere rein grüne Fluoreszenzfarbe aufwies. Gelegentlich fand sich eine den Bildern v. MURALT entsprechende, doppelkonturierte Quermembran, die häufig nach einer Seite hin durchgebogen war. Eine Rotfluoreszenz, wie sie TONUTTI am gereizten Nerven *in situ* gesehen hatte, fand sich in diesen Präparaten nicht, auch waren Fibrillen im Achsenzylinder nicht dargestellt.

Während nur wenige Fasern einen vollkommen homogen aussehenden Markhohlzylinder besaßen, zeigten die meisten eine Reihe von Abänderungen. So war an verschiedenen Nervenfasern die Markscheidengrenze gegen das Neurolemm in seiner Fluoreszenz heller, wobei sich der Farbton etwas mehr zum gelbgrün hin verschoben hatte. Gleichzeitig traten damit an dieser heller leuchtenden Markscheidengrenze Einkerbungen in regelmäßigen Abständen innerhalb der internodalen Abschnitte auf, die gewisse Ähnlichkeit mit den SCHMIDT-LANTERMANNschen Incisuren besaßen. An günstig gelegenen Fasern konnte im optischen Querschnitt deutlich der ringförmige Verlauf dieser Einkerbungen um die Faser beobachtet werden. Mit dem Auftreten dieser Incisuren waren innerhalb der Markscheiden in unmittelbarer Nähe der RANVIERSchen Schnürringe Strukturen festzustellen. Eine kurze Strecke weit in den Markhohlzylinder hinein war nun gegen das Axolemm bzw. den Achsenzylinder eine ebenso helle Grenzlinie festzustellen wie an der Begrenzung zum Neurolemm, dabei waren die Enden der internodalen Stücke der Markscheide meist etwas aufgetrieben, so daß der Achsenzylinder hier

eingengt wurde. An den Schnürringen konnte in diesem Zustand der Fasern fast regelmäßig eine deutlich doppeltkonturierte Quermembran festgestellt werden. An leicht gedehnten Schnürringen war das Bild besonders deutlich.

Viele Fasern zeigten hell gelbgrün leuchtende, pilzartige Einstülpungen in die Markscheide, die an manchen Fasern nur von den vorher genannten Incisuren ausgingen, an anderen dagegen auch von der zwischenliegenden Markscheiden-Neurolemm-Grenze. An weiteren Fasern hatten sich diese Einstülpungen abgekugelt und waren so zahlreich geworden, daß die Markscheide ein grobwolkiges Aussehen erhielt. Das Bild dieser Fasern entsprach aber in keiner Weise dem fixierter Fasern mit ihrem Neurokeratingerüst.

Färbezeit 60 min. Im ganzen gesehen zeigte die längere Färbung lediglich eine Verstärkung der Fluorescenz. An den Enden der Nervenstücke hatten die Markscheiden der Einzelfasern infolge höherer Farbstoffaufnahme nun nicht mehr gelbgrüne, sondern mehr gelbe bis gelb-orange Fluoreszenzfärbung, wobei auffiel, daß die kugeligen Einstülpungen weißlichgelb bis weißlichgrün gefärbt waren und die Rotfärbung sich auf das zwischenliegende wabige Gerüst beschränkte. Die SCHWANNschen Kerne waren auch nach einer Färbezeit von 60 min in grüner Farbe fluorochromiert.

2. Versuchsanordnung.

In gleicher Weise wie in den vorhergehenden Versuchen wurden einzelne größere Nervenstränge aus dem Plexus lumbosacralis vom Frosch herauspräpariert, 48 Std in 0,6%iger Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur bzw. bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt und dann mit Acridinorangelösung 1:10 000 (in 0,6%iger Kochsalzlösung) gefärbt. Färbezeit 16 und 30 Std. Nach dieser Färbung wurden die Nervenstücke jeweils 9 Std in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt, um den nicht gebundenen Farbstoff auszuwaschen.

Ergebnis. Das Bild nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur und 16stündiger Färbung entsprach im wesentlichen dem nach kürzerer Färbung (1. Versuchsanordnung). Doch zeigten die meisten Fasern ein grobwolkiges Aussehen. In der Nähe der ursprünglichen Schnittstelle fluorescierte die Markscheide gelbrot bis rot, dagegen waren die kugeligen Gebilde und Einstülpungen in die Markscheide weißlichgelb bis hell gelbgrün gefärbt. In der weiteren Entfernung von dieser Schnittstelle fluorescierte die Markscheide jedoch noch hellgrün, die kugeligen Einstülpungen weißlichgrün. Die SCHWANNschen Kerne blieben auch nach dieser Färbezeit grün und unterschieden sich weder in ihrer Farbe noch im morphologischen Bild von denen des alkoholfixierten Materials. Der Achsenzylinder war innerhalb der RANVIERSchen Schnürringe deutlich heller grün oder olivgrün dargestellt und fluorescierte dabei geringfügig stärker als die schwach grün leuchtende SCHWANNsche

Scheide. Einkerbungen in der äußeren Markscheidenkontur waren nicht sehr deutlich.

Nach Aufbewahrung der Nervenstücke bei $+4^{\circ}\text{C}$ und 16stündiger Färbung bestand gegenüber dem Bild des bei Zimmertemperatur aufbewahrten Materials nur ein geringer Unterschied. Doch waren erheblich mehr Fasern glatt konturiert und die übrigen wiesen nur wenige Einstülpungen auf. Die Markscheiden fluorescierten grün, nur in der unmittelbaren Nähe der ursprünglichen Schnittstelle waren gelbgrüne bis gelbe Fluoreszenzfarben vorhanden. Die SCHWANNschen Kerne leuchteten in gewohnter Weise hellgrün. Innerhalb der RANVIERSchen

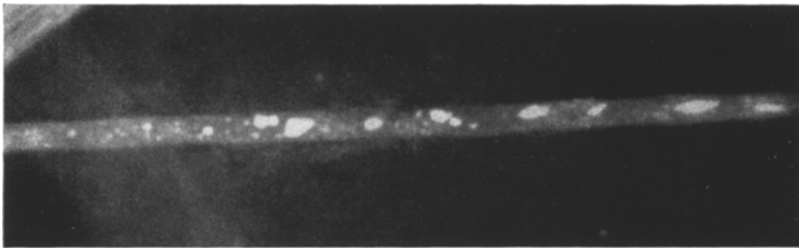


Abb. 4. Tote, unfixierte, markhaltige Nervenfasern aus dem Plexus lumbosacralis vom Frosch. Der Nerv wurde 24 Std bei Zimmertemperatur in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Acridinorange 1:10 000, Färbezeit 16 Std. Lipoidtropfen hell gelbgrün. Grundgerüst dunkler rotorange. Objektiv 30 mal. Periplan-Okular 10mal.

Schnürringe leuchtete der Achsenzylinder deutlich heller grün als die SCHWANNsche Scheide. Im Verlauf der internodalen Stücke konnte der Achsenzylinder jedoch nicht vom Markhohlzylinder unterschieden werden.

Nach 30stündiger Färbung und Aufbewahrung bei Zimmertemperatur waren auch weit von der Schnittstelle die Einzelfasern innerhalb der Markscheiden fleckig, zum Teil rötlich, zum Teil grünlich gefärbt. Die grobwolkigen, kugeligen Gebilde fluorescierten meist grün, während das zwischenliegende wabige Gerüst rote Färbung aufwies (vgl. Abb. 4). In der Nähe der RANVIERSchen Schnürringe war innerhalb der Markscheide die Rotfärbung am deutlichsten ausgeprägt, doch blieb der Schnürring selbst frei von einer roten Anfärbung.

Die im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrten Nervenstücke verhielten sich nach 30stündiger Färbung in ihrer Fluoreszenz und dem morphologischen Bild ebenso wie nach einer Färbezeit von 16 Std.

Auffällig war, daß in keinem Fall in Färbezeiten bis zu 30 Std rote Fluoreszenzfarben in den SCHWANNschen Kernen auftraten.

3. Versuchsanordnung.

Aus dem Plexus lumbosacralis von dekapitierten Winterfröschen wurden einzelne größere Nervenstränge herauspräpariert, sofort anschließend in Acridin-

orangeförsung 1:10000 (in 0,6%iger Kochsalzlösung) 1 Std lang angefärbt und sodann 48 Std bei Zimmertemperatur in physiologischer Kochsalzlösung ohne Farbzusatz aufbewahrt. Die weitere Verarbeitung des Nervenstückes erfolgte dann in üblicher Weise unter der Präparationslupe.

Ergebnis. Das Bild im Fluoreszenzmikroskop entsprach dem der 1. Versuchsanordnung, doch fanden sich in der Umgebung der grün fluoreszierenden SCHWANNschen Kerne innerhalb der cytoplasmatischen Region feinste, rubinrote Granula in geringer Anzahl.

Beurteilung der Befunde. Zunächst ist festzustellen, daß auch bei der Fluorochromierung unfixierter, toter markhaltiger Nerven keine Darstellung von Fibrillen innerhalb der Achsenzylinder erfolgt. Die Markscheiden zeigen Bilder, die aller Wahrscheinlichkeit nach verschiedenen Graden von postvitalen Veränderungen entsprechen. Von der homogenen, glattkonturierten Einzelfaser läßt sich über Ausbildung von Einkerbungen, Einstülpungen und kugeligen Bildungen eine kontinuierliche Reihe bis zu grobwarlig veränderten Markscheiden aufstellen. Der Ausfall der Färbung gibt dabei Anhaltspunkte, welche Substanzen bei dieser morphologischen Abänderung betroffen sind. Bei dem Farbstoff Acridinorange zeigt nur die ionendisperse Form — bei höherer Farbstoffkonzentration — rote Fluoreszenzfarben, während die molekulare Form in jedem Konzentrationsbereich eine gelbgrüne Fluoreszenz aufweist. Nur letztere ist lipoidlöslich. Da die Einstülpungsfiguren und kugeligen Gebilde ebenso wie die „Vacuolen“ am formalinfixierten Material auch dann eine grüne bis gelbgrüne oder weißlichgrüne bis weißlichgelbe Farbe aufweisen, wenn das sie umgebende wabige Gerüst rot fluoresciert, dürften dieselben aus Lipoiden bestehen, welche den molekulardispersen Farbstoffanteil aus der Färbelösung gespeichert haben. Diese Figuren würden damit *Myelinfiguren* darstellen. Hierfür spricht auch die zunächst schlauchartige Figur dieser Bildungen, die sich dann später abkugeln. Es würde sich demnach bei der Bildung dieser Myelinfiguren um einen Entmischungsvorgang an dem zähflüssigen Baumaterial der Markscheiden handeln. Die in roter Farbe aufleuchtende Zwischensubstanz zeigt nachweislich der Fluoreszenzfärbung eine kräftige Kationenadsorption. Da die Bindung des Farbstoffes hier nur elektrostatischer Natur sein kann, ist es erforderlich, daß die speichernde Substanz selbst zur Bindung befähigte Gruppen besitzen muß. Auf Grund dieser Überlegungen und des morphologischen Bildes ist es am wahrscheinlichsten, daß es sich hier um die Eiweißphase des Markscheidenmaterials handelt. Diese Eiweißphase verhält sich in ihrer Farbbindung wie das Neurokeratingerüst am fixierten Nerven, morphologisch zeigt sie jedoch ein ganz anderes Bild (vgl. Abb. 1 und 4). Eine überraschende Ähnlichkeit weist das Gerüst der Eiweißphase an der toten, unfixierten Faser jedoch mit den v. MURALT beschriebenen Bildern und gezeigten Mikrophotographien des bei der Ultraviolett-mikroskopie sichtbar

werdenden „Netzgerüsts“ der überlebenden, reizbaren Faser auf. Die Frage, ob es *in vivo* vorhanden ist, kann vorläufig von uns nicht entschieden werden, aber sicher kann gesagt werden, daß das Netzgerüst nicht mit dem Neurokeratingerüst vollkommen identisch ist. Bei dem Neurokeratingerüst handelt es sich um das bei der Fixierung ausgefällte Eiweiß, um ein Eiweißcoagulum, hier dagegen um eine lediglich aus dem Lipoid-Eiweiß-Gemisch entmischte, noch zähflüssige Eiweißphase. Die chemische Substanz ist die gleiche wie beim Neurokeratingerüst, der physikochemische Zustand der Substanz jedoch nicht. Sicher handelt es sich aber nicht um das Reticulum der SCHWANNschen Scheide, wie von v. MURALT erwogen wurde, denn das Netzgerüst tritt immer erst nach Entmischung der Markscheide in Erscheinung. Ob man diese Entmischung als Denaturierung bezeichnen kann, wie es v. MURALT tut, bezweifeln wir, ob dagegen eine gewisse Denaturierung der Eiweißphase bei der Entmischung — etwa ähnlich wie bei der Spreitung globulärer Eiweißstoffe — eintritt, können wir zwar auf Grund unserer Versuche nicht beurteilen, ist aber wahrscheinlich.

Einkerbungen der Markscheide in der Art SCHMIDT-LANTERMANNscher Incisuren sind nicht an allen Fasern des toten, unfixierten Nerven in gleicher Ausprägung zu sehen. In jedem Fall aber unterscheiden sich diese Einkerbungen von dem gewohnten histologischen Bild erheblich, ähneln aber denen, wie sie bei der Beobachtung überlebender, isolierter Fasern im polarisierten Licht zu sehen sind (vgl. v. MURALT). Wenn auch diese Einkerbungen an der toten, unfixierten Faser nicht immer bei der Fluorochromierung deutlich dargestellt sind, so spricht die Tatsache, daß gerade an entsprechenden Stellen der Markscheide die ersten Myelinfiguren auftreten, für eine besonders leicht veränderliche Struktur der Markscheide an diesen Stellen.

Die RANVIERSchen Schnürringe lassen an toten, unfixierten Nervenfasern eigentlich alle Strukturelemente erkennen, die v. MURALT an der überlebenden Faser fand. So läßt sich häufig eine deutliche, doppelt-konturierte Quermembran im Schnürring nachweisen. Diese Membran ist am fixierten Nerven schon länger bekannt. CAJAL⁹ schrieb ihr mehr die Rolle einer Verbindungs- und Stützmembran zu, während v. MURALT, der sie zuerst an der überlebenden, noch reizbaren Einzelfaser mit polarisationsoptischer Methode und durch Ultraviolett-mikroskopie nachwies, ihr außer der Bedeutung als mechanische Trennwand eine bedeutende Rolle bei dem Vorgang der Nervenregeneration zuschrieb („Theorie der Quermembran“, v. MURALT).

C. Die Fluorochromierung der überlebenden markhaltigen Nervenfasern.

1. Versuchsanordnung.

Aus dem Plexus lumbosacralis von frisch dekapitierten Winterfröschen wurden einzelne größere Nervenstränge herauspräpariert, sofort in Acridinorangelösung

1:10000 (in 0,6 %iger Kochsalzlösung) 10 und 60 min lang eingefärbt und gleiche Zeiten in farbstofffreier Kochsalzlösung vom überschüssigen Acridinorange befreit. Die weitere Präparation erfolgte in üblicher Weise unter der Präparationslupe.

Ergebnis. Färbezeit 10 min. Diese Färbezeit reichte auch hier offensichtlich nicht aus, um die einzelnen Fasern des Nervenpräparates in der gesamten Ausdehnung gleichmäßig anzufärben. Die Fluorescenz an den Enden der Nervenfasern war deutlich kräftiger und heller als in den mittleren Abschnitten. An der einzelnen Nervenfaser ergab sich im Fluorescenzmikroskop ein farbenprächtiges Bild. Die Fasern leuchteten

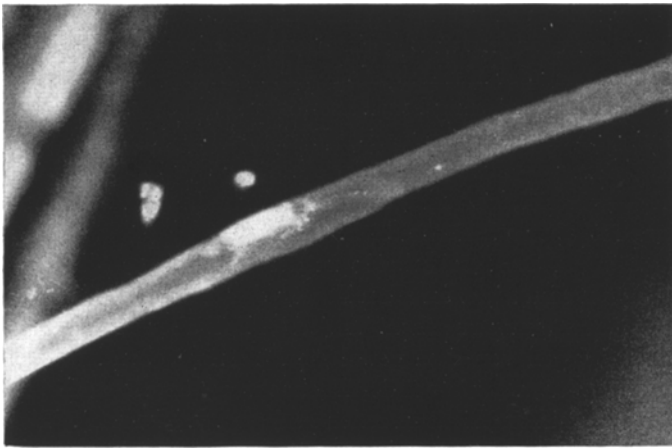


Abb. 5. Markhaltige Nervenfaser vom Frosch. Färbung eines Nervenstückes 10 min mit Acridinorange 1:10 000. Hellgrün fluoreszierender SCHWANNscher Kern. In der cytoplasmatischen Region um den Kern rot leuchtende Granula. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

hell in grüngelben Farbton, wobei die Markscheide (d. h. der optische Querschnitt derselben) deutlich heller fluorescierte als die übrigen Elemente der Faser. Die Kerne der SCHWANNschen Scheide leuchteten kräftig hellgrün, wobei wie an der toten Faser das Chromatingerüst dieser Kerne die stärkste Fluorescenz aufwies und das gleiche Bild wie im fixierten histologischen Präparat darbot. Die SCHWANNschen Kerne waren innerhalb der cytoplasmatischen Region umgeben von einer verschieden großen Anzahl helleuchtender, rubinroter Granula (Abb. 5), die besonders dicht an den Kernpolen gelagert waren, aber auch noch in der weiteren Umgebung der Kerne gefunden wurden. Einzelne, gleichartige Granula fanden sich auch innerhalb des Neurolemms im Verlauf der übrigen Anteile der internodalen Stücke. Am RANVIERSchen Schnürring setzte sich die Markscheide deutlich und mit scharfer, meist leicht gewölbter Grenze gegen den Achsenzylinder und das über den Schnürring ziehende Neurolemm ab. Am frischen, ungeschädigten Präparat konnten innerhalb der Markscheide weder in der Nähe der

Schnürringe noch im Verlauf der internodalen Strecke weitere strukturelle Einzelheiten festgestellt werden. So fehlten insbesondere den SCHMIDT-LANTERMANNSchen Incisuren entsprechende Einkerbungen in der äußeren Begrenzung der Markscheide, auch war von einem Neurokeratingerüst oder von Entmischungsfiguren in der Markscheide nichts festzustellen. An Stellen, wo SCHWANNSche Kerne der Markscheide aufgelagert waren, wurde nicht selten eine dem Kern angepaßte Einbuchtung der Markscheide beobachtet. Die RANVIERSchen Schnürringe boten ein unterschiedliches Bild: Der hier freiliegende Achsenzylinder war in jedem

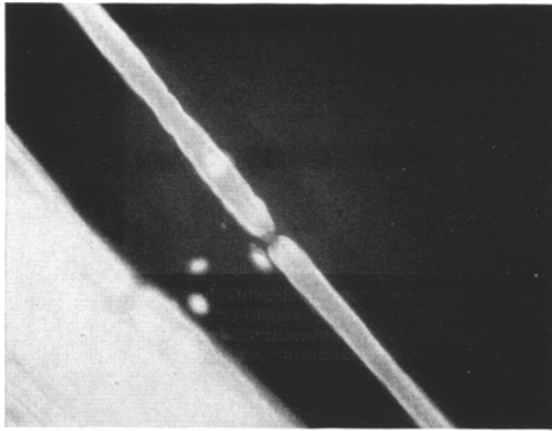


Abb. 6. RANVIERScher Schnürring an einer markhaltigen Nervenfasern aus dem Plexus lumbosacralis. Eben beginnende Entmischung am Schnürring. Acridinorange 1:10 000 unter dem Deckglas zugesetzt. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

Fall dunkelgrün bis leicht olivgrün gefärbt, während das über den Schnürring ziehende Neurolemm eine fast gleich helle oder etwas schwächere rein grüne Fluoreszenzfarbe aufwies. Am völlig ungeschädigten Präparat war eine den Bildern von v. MURALT entsprechende Quermembran innerhalb des Schnürringes bzw. des hier freiliegenden Achsenzylinders nicht zu sehen, doch fanden sich an deren Stelle häufig hell leuchtende, rubinrot fluoreszierende feinste Granula. Die Anzahl dieser Granula und die dadurch bedingte Rotfärbung war an den einzelnen Schnürringen sehr unterschiedlich, an einzelnen fehlten sie ganz, an anderen waren sie in geringer Anzahl vorhanden (vgl. Abb. 7), so daß sie einzeln unterschieden werden konnten und bei wieder anderen Schnürringen bildeten sie eine rot fluoreszierende Querwand, wobei einzelne Körnchen nicht mehr unterschieden werden konnten (Abb. 8). Da gerade an Schnürringen mit sehr deutlich ausgebildeter, rot fluoreszierender Querwand auch der Achsenzylinder im Bereich des Schnürringes und bis in die Markhohlzylinder hinein rot fluoreszierte (es konnte nicht eindeutig festgestellt werden, ob es sich dabei um die Einlagerung feinsten, an der

Auflösungsgrenze des Fluoreszenzmikroskops gelegene Körnchen oder aber um stäbchenartige Elemente handelte. Eine Darstellung von Fibrillen fand sich jedoch mit Sicherheit nicht), ergab sich eine Kreuzfigur, die ganz dem entsprach, wie TONUTTI es für den gereizten Nerven beschrieb.

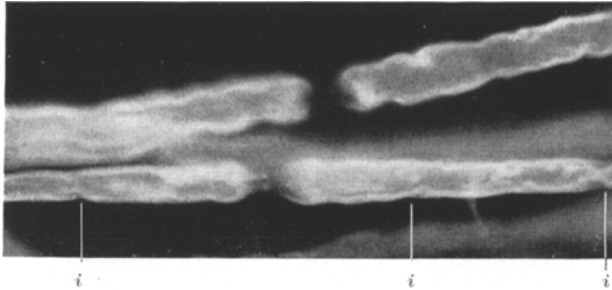


Abb. 7. Geschädigte markhaltige Nervenfasern mit Entmischungsfiguren und SCHMIDT-LANTERMANNSchen Incisuren (*i*). Im unteren Schnürring 2 rubinrot fluoreszierende Granula. Acridinorange 1:10 000, Färbedauer 10 min. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

Die Nervenfasern zeigten bei längerem Aufenthalt in physiologischer Kochsalzlösung eine Reihe von morphologischen Abänderungen, die zur Deutung der Bilder des toten, unfixierten Nerven recht aufschlußreich

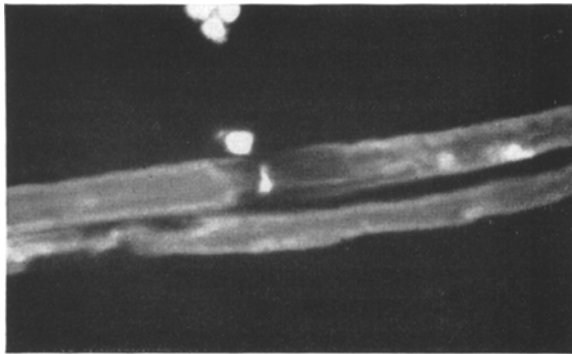


Abb. 8. Überlebende, markhaltige Nervenfasern mit rot fluoreszierender Quermembran im RANVIERSchen Schnürring. Acridinorange 1:10 000 unter dem Deckglas zugesetzt. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal, Rotfilter.

sind. Als erstes wurde die Markscheidengrenze gegen das Neurolemm in seiner Fluoreszenz heller, wobei sich der Farbton etwas mehr zum Gelbgrün hin verschob. Gleichzeitig traten damit in dieser jetzt heller als dünner Mantel leuchtenden Markscheide Incisuren in regelmäßigen Abständen innerhalb der internodalen Abschnitte auf, die den Einkerbungen an der toten Faser entsprachen. An günstig gelegenen Fasern konnte im optischen Querschnitt deutlich der ringförmige Verlauf dieser Incisuren

um die Faser beobachtet werden (vgl. Abb. 9). Mit dem Auftreten dieser Einkerbungen waren innerhalb der Markscheiden in unmittelbarer Nähe der RANVIERSchen Schnürringe Strukturen festzustellen. Eine kurze Strecke weit in den Markhohlzylinder hinein war nun wie an der toten

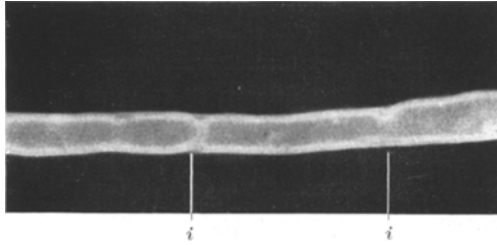


Abb. 9. Beginn der Incisurbildung (i) an einer leicht geschädigten, markhaltigen Nerven-faser vom Frosch. Acridinorange 1:10 000, Färbedauer 10 min. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

Faser gegen das Axolemm bzw. den Achsenzylinder eine ebenso helle Grenzschicht festzustellen wie an der Begrenzung zum Neurolemm,



Abb. 10. Geschädigte, markhaltige Nervenfasern vom Frosch mit Entmischungsfiguren. Am RANVIERSchen Schnürring Anheftung der Markscheide an den Achsenzylinder deutlich. Acridinorange 1:10 000, Färbezeit 10 min. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

dabei waren die Enden der internodalen Stücke der Markscheide etwas konisch verdickt, so daß der Achsenzylinder hier geringfügig eingengt wurde (Abb. 10). An den RANVIERSchen Schnürringen, die keine oder nur geringe Einlagerung rot fluoreszierender Granula aufwiesen, konnte in diesem Zustand der Fasern eine deutlich doppelkonturierte Quer-membran festgestellt werden, in der die vorhandenen Granula gelegen waren. An leicht gedehnten Schnürringen war das Bild besonders

deutlich, gelegentlich war die Quermembran nach einer Seite hin durchgebogen.

Durch längere Lagerung in Kochsalzlösung stärker geschädigte Fasern zeigten hell gelbgrün leuchtende, pilzartige Einstülpungen in die Markhohlzylinder, die zunächst nur von den vorhergenannten Incisuren ausgingen, später aber auch an den zwischenliegenden Abschnitten der internodalen Stücke festzustellen waren. Diese Einstülpungen kugelten sich ab und vermehrten sich so, daß schließlich die Markscheide ein grobvolkiges Aussehen erhielt.

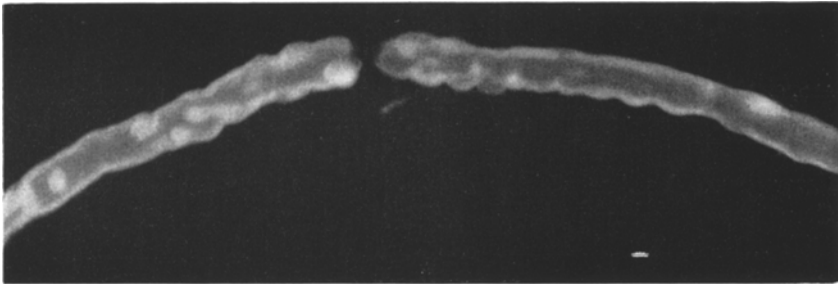


Abb. 11. Geschädigte, markhaltige Faser mit Entmischungsfiguren. Acridinorange 1:10 000, Färbedauer 10 min. Objektiv 30mal, Periplan-Ocular 10mal.

Färbezeit 60 min. Im ganzen gesehen zeigte die längere Färbung lediglich eine Verstärkung der Fluorescenz. An den Enden der Nervestücke hatten die Markscheiden der Nervenfasern infolge höherer Farbstoffaufnahme nun nicht mehr gelbgrüne, sondern mehr gelbe bis gelb-orange Fluoreszenzfärbung. Auch die granuläre Rotfluorescenz in der Umgebung der SCHWANNschen Kerne war verstärkt, ebenso die Rotfärbung innerhalb der Schnürringe. Aber auch bei dieser Färbezeit blieben einzelne Schnürringe frei von roten Farbtönen.

2. Versuchsanordnung.

Aus vitalfluorochromierten Winterfröschen (1 mg Acridinorange je Gramm Körpergewicht, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, in den Rückenlymphsack 1 Std vor der Tötung des Frosches injiziert) wurden sofort nach Dekapitierung Stücke aus größeren Nervenästen des Plexus lumbosacralis bzw. Nervus ischiadicus herausgenommen und ohne weitere Färbung in üblicher Weise unter der Präparationslupe verarbeitet.

Ergebnis. Die Nervenfasern fluorescierten etwa in dem Ausmaß, wie diejenigen eines Nervens, welcher nach der Herausnahme 10 min fluorochromiert waren. Im Gegensatz zur 1. Versuchsanordnung waren jedoch nur gelegentlich in der Nähe SCHWANNscher Kerne rote Granula zu sehen, an den RANVIERSchen Schnürringen wurden rote Farbtöne vollkommen vermißt.

3. Versuchsanordnung.

An weiteren Fröschen wurde die Zeit zwischen Vitalfluorochromierung und Tötung sowie Herausnahme der Nervenstücke auf 5 Std verlängert.

Ergebnis. Hier fluorescierten die einzelnen Nervenfasern kräftiger in hellgrüngelben Farbton, jedoch fehlten auch hier Rottöne an den RANVIERSchen Schnürringen. Dagegen waren in der Umgebung der SCHWANNschen Kerne zahlreichere, rot fluoreszierende Granula als bei den vorhergehenden Versuchen festzustellen. Das sonstige morphologische Bild entsprach ganz der 2. Versuchsanordnung.

4. Versuchsanordnung.

Winterfröschen wurde 1 mg Acridinorange je Gramm Körpergewicht (gelöst in physiologischer Kochsalzlösung) in den Rückenlymphsack injiziert. Nach einer Einwirkungszeit von 1 bzw. 5 Std wurde das Verhalten der Nerven und Nervenfasern in situ im Auflichtfluoreszenzmikroskop mit dem Ultropak (Leitz) bei Blaulichterregung der Fluoreszenz beobachtet. Zur Beobachtung wurden die Frösche dekapitiert und es wurde vor der Freilegung des Plexus lumbosacralis das Rückmark ausgebohrt.

Ergebnis. Einwirkungszeit des Farbstoffs 1 Std. Wurde ein einzelner Nerv mit dem Ultropak und den Objektiven 55 mal und 70 mal (Wasserimmersionen) im Blaulicht beobachtet, so konnten die einzelnen Nervenfasern gut gesehen werden. Die einzelnen Fasern leuchteten als vollkommen glattkonturierte und homogene, helle, grüngelbe „Röhren“. Myelinfiguren oder ein Neurokeratingerüst konnten nicht festgestellt werden. Überhaupt fiel auf, daß der Markhohlzylinder vollkommen ohne jede Struktur war, so fehlten auch Einkerbungen oder den SCHMIDT-LANTERMANNSchen Incisuren entsprechende Bildungen. Der Achsenzylinder war im Verlauf der internodalen Stücke nicht eindeutig von der Markscheide abzugrenzen. Innerhalb der Schnürringe leuchtete er grünlich in etwas schwächerer Intensität als der Markhohlzylinder. An den Schnürringen konnte eine Rotfluoreszenz in Form des „RANVIERSchen Kreuzes“ oder in granulärer Art ebensowenig wie eine Quermembranbildung festgestellt werden. Nur selten waren in der Umgebung SCHWANNscher Kerne vereinzelt rot gefärbte Granula vorhanden.

Einwirkungszeit 5 Std. Im ganzen gesehen unterschied sich hier das Bild lediglich durch die hellere Fluoreszenz von dem vorhergehenden. In der Umgebung der SCHWANNschen Kerne fanden sich nun häufiger rot fluoreszierende Granula, doch wurde längst nicht eine derart prägnante Darstellung wie nach Einfärbung des überlebenden Nervenstückes (1. Versuchsanordnung) erreicht.

Nach Quetschung oder Durchschneiden des Nerven oberhalb der Beobachtungsstelle veränderte sich das Bild nicht.

5. Versuchsanordnung.

An dekapitierten Winterfröschen wurde nach Ausbohrung des Rückenmarks der Plexus lumbosacralis freigelegt. Ein einzelner Nerv wurde unter dem Auflichtmikroskop eingestellt und dann der gesamte Plexus mit einer Acridinorangelösung (1:10000 in physiologischer Kochsalzlösung) berieselt. Der Überschuß an Farbstoff wurde nach wenigen Minuten mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült.

Ergebnis. Bei Beobachtung der Nerven des Plexus lumbosacralis mit dem Ultropak (Wasserimmersion 55 mal, Ocular 6 mal oder 10 mal) im Helllicht (Blaulicht) sind die einzelnen markhaltigen Nervenfasern deutlich als glattkonturierte, röhrenartige Gebilde zu sehen. Im Verlauf der Einzelfasern finden sich RANVIERSche Schnürringe, an denen die internodalen Abschnitte der Markscheide halbkugelig oder parabolisch abgerundet enden. Am Schnürring selbst sind weitere morphologische Einzelheiten nicht zu erkennen. An den internodalen Stücken sieht man häufig eine Eindellung in der äußeren Markscheidenkontur, deren Lage etwa derjenigen eines SCHWANNschen Kernes entspricht. SCHMIDT-LANTERMANNSche Einkerbungen fehlen an den meisten Fasern mit Sicherheit, doch scheint die äußere Kontur einzelner, oberflächliche im Nerven liegender Fasern an entsprechenden Stellen schwache Einziehungen zu besitzen. An einzelnen Fasern sind besonders in der Nähe der RANVIERSchen Schnürringe innerhalb der Markscheide kugelige und wolkige Gebilde zu sehen, die den Myelinfiguren in Abb. 9 und 10 entsprechen.

Nach Einfärbung mit Acridinorange zeigt die Beobachtung der Nerven im Blaulicht-Fluoreszenzmikroskop ein wesentlich klareres und deutlicheres Bild. Die SCHWANNschen Kerne leuchten hell gelbgrün, deutlich schwächer und in einer geringfügig nach gelb verschobenen Farbnuance fluorescieren die Markscheiden. Der Achsenzylinder wird nicht sichtbar. Während der mittlere Teil der internodalen Strecke glatte äußere Konturen aufweist, ist in vielen Fasern in unmittelbarer Nähe der Schnürringe eine wellige Kontur der Markscheide festzustellen, wobei die Faser an dieser Stelle meist eine konische Verbreiterung zum Schnürring hin aufweist. SCHMIDT-LANTERMANNSche Einkerbungen in der Art, wie sie aus dem histologischen Bild des fixierten Nerven bekannt sind, können nicht gesehen werden, doch zeigen einzelne Fasern an entsprechenden Stellen schwache Einziehungen der äußeren Kontur, die jedoch schwächer als in Abb. 8 an der isolierten Faser ausgebildet sind. Einzelne Fasern weisen auch innerhalb der internodalen Stücke kugelige oder pilzartige Myelinfiguren ähnlich wie in Abb. 9 auf. Am RANVIERSchen Schnürring ist gelegentlich eine doppelkonturierte Quermembran deutlich sichtbar. Rote Granula wie an der isolierten Einzelfaser sind weder am Schnürring noch in der Umgebung SCHWANNscher Kerne zu sehen, ebensowenig erfolgt eine Darstellung des RAN-

VIERSEN Kreuzes innerhalb der Schnürringe. Erst nach längerer Beobachtungszeit können in der Nähe einzelner SCHWANNscher Kerne rot fluoreszierende Granula festgestellt werden.

Nach Quetschung des Nerven oberhalb der Beobachtungsstelle ist das Bild unverändert, insbesondere ist das RANVIERSche Kreuz im Gegensatz zu den Angaben von TONUTTI nicht durch rote Fluoreszenzfärbung dargestellt. Auch tritt im Gegensatz zu dessen Angaben eine Darstellung der SCHMIDT-LANTERMANNschen Einkerbungen nach der Reizung nicht ein.

Bei Beobachtung mit Wasserimmersion $75\times$ können keine neuen morphologischen Einzelheiten festgestellt werden.

6. Versuchsanordnung.

Der zum obigen Versuch benutzte Frosch wurde 24 Std bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank aufbewahrt, um festzustellen, ob das Bild durch Absterbevorgänge verändert würde.

Ergebnis. Ohne Nachfärbung waren die einzelnen Nervenfasern jetzt geringfügig schärfer dargestellt wie vorher. An den RANVIERSchen Schnürringen sind die Achsenzylinder nun deutlich als hellgrüne Bänder zu sehen, die eine kleine Strecke weit in den Markhohlzylinder hinein verfolgt werden können. Auch sind die Quermembranen innerhalb der Schnürringe an diesem Präparat deutlicher festzustellen als vorher. Vereinzelt sind in den cytoplasmatischen Bezirken um SCHWANNsche Kerne rote Granula zu sehen. Die im eigentlichen Versuch (5. Versuchsanordnung) durch Quetschung mechanisch geschädigten Nerven unterschieden sich nicht von ungeschädigten des gleichen Tieres, sofern man von der Schädigungsstelle selbst absieht. Nachfärbung mit Acridin-orangelösung ergibt keine Änderung des Bildes bei einer Färbezeit von 1 min.

Beurteilung der Befunde. Die Fluorochromierung der isolierten, überlebenden, markhaltigen Nervenfasern gibt in verschiedenen Punkten ein anderes Bild wie die der toten Faser. So wird an weitgehend ungeschädigten Fasern das internodale Stück der Markscheide als strukturloses, röhrenartiges Gebilde dargestellt. Ein Neurokeratingerüst fehlt und das von v. MURALT als vitale Struktur angesprochene „Netzgerüst“ ließ sich insbesondere auf Grund der Färbung überlebender Fasern am ganzen Tier als postvital entstandene Entmischung der Markscheiden-substanzen aufklären. Anscheinend reagiert die Markscheide bereits auf sehr geringe Alterationen mit einer derartigen Entmischung, denn sie war auch dann nachzuweisen, wenn die Präparation der Einzelfaser mit aller Vorsicht durchgeführt wurde. Die Entmischungsvorgänge beginnen am RANVIERSchen Schnürring und schreiten mit Fortdauer der Schädigung der Faser vom Schnürring aus gegen die internodalen

Strecken der Markscheide hin zu. Diese Beobachtung unter dem Fluoreszenzmikroskop entspricht ganz dem Befund von v. MURALT bei der Ultraviolett-mikroskopie. Außer am Schnürring aber beginnen gleichartige Erscheinungen auch an ganz bestimmten Stellen der internodalen Stücke. Wenn auch an weitgehend ungeschädigten, isolierten oder sicher ungeschädigten, in situ befindlichen Nervenfasern SCHMIDT-LANTERMANNSche Incisuren oder ihnen entsprechende Einkerbungen der äußeren Markscheidenkontur nicht gefunden wurden, so scheint die Markscheide doch an entsprechenden Stellen eine besonders hohe Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen zu besitzen. Im Beginn von Veränderungen an diesen Stellen stehen Einziehungen der äußeren Markscheidenkontur, deren Lage und Abstand den SCHMIDT-LANTERMANNSchen Incisuren am fixierten Nerven entspricht. Ebenso wie am Schnürring beginnen auch hier sehr bald nach der Präparation sich Entmischungsvorgänge bemerkbar zu machen, die zunächst als einzelne pilz- oder schlauchartige Bildungen imponieren und sich später abkugeln. Bei länger dauernder Schädigung treten solche Myelinfiguren auch unabhängig von den Einkerbungen im Verlauf der internodalen Stücke auf.

Besonders bemerkenswert ist das Verhalten der RANVIERSchen Schnürringe an der isolierten, überlebenden Einzelfaser. Wenn auch an weitgehend ungeschädigten Nervenfasern eine Quermembran in der Art wie an der toten Faser vermißt wurde, so traten doch jetzt an den meisten Schnürringen kräftig rubinrot leuchtenden Körnchen in Erscheinung, deren Lage derjenigen der Quermembran entsprach. Da besonders an den Schnürringen, die eine reichliche Anzahl derartiger Granula aufwiesen, auch der freiliegende Achsenzylinder braunrot bis rubinrot fluorescierte, ergab sich eine Kreuzfigur, die ganz dem RANVIERSchen Kreuz am fixierten Material entsprach. TONUTTI hatte diese Kreuzfigur bei der Vitalfluorochromierung des Plexus lumbosacralis mit Acridinorange nach Reizung oder Durchschneiden der Nerven oberhalb der Beobachtungsstelle gesehen. Allerdings hatte TONUTTI nicht festgestellt, daß die der Quermembran entsprechende Rotfärbung granulärer Natur war. Wenn es auch gelang, diese Rotfluoreszenz des RANVIERSchen Kreuzes am isolierten, überlebenden Nerven nachzuweisen, so fehlte sie jedoch, wenn am dekapitierten Frosch der Nerv in situ gereizt oder durchschnitten wurde. Während HIRT⁴ bei seinen Vitalfärbungen mit einem „Spezialtrypaflavin“ diese Rotfärbung des RANVIERSchen Kreuzes nicht feststellte, fand er jedoch genau wie wir eine Darstellung feinsten, roter Granula im Plasma SCHWANNscher Zellen, die TONUTTI an der markhaltigen Faser entgangen war. In reichlicher Anzahl ließen sich diese Granula in unseren Versuchen nur an der isolierten überlebenden Faser darstellen.

D. Vitalfärbung des lebenden Nerven.

1. Versuchsanordnung.

Fröschen wurden 4 cm³ einer Acridinorangelösung 1:10000 in 0,6%iger Kochsalzlösung in den Rückenlymphsack injiziert. Sechs Stunden später wurde in Urethannarkose der Plexus lumbosacralis freigelegt und dieser mit dem Ultropak im Blaulicht-Fluoreszenzmikroskop beobachtet.

Ergebnis. Bei Anwendung des Objektivs UO 11 mal und 12fachem Ocular waren die einzelnen Nervenstränge als hellgrün leuchtende Bänder zu sehen. Abgesehen von vorhandenen Melanophoren waren Einzelheiten wie z. B. Einzelfasern oder Zellkerne nicht zu unterscheiden. Wurde dagegen mit Wasserimmersion 55 mal oder 75 mal und 6- oder 12fachem Ocular ein einzelner Nerv eingestellt, so konnten die einzelnen Nervenfasern als homogene, hellgrün leuchtende „Röhren“ gesehen werden. RANVIERSche Schnürringe waren deutlich zu erkennen, doch wurden rote Fluoreszenzfarben an ihnen vermißt, auch konnten morphologische Einzelheiten wie an der überlebenden Einzelfaser nicht festgestellt werden. Die internodalen Stücke der markhaltigen Nervenfasern waren immer gleichmäßig homogen gefärbt und ließen Myelinfiguren vermissen, diese fehlten auch in der Nähe von RANVIERSchen Schnürringen, doch war die Faser hier gelegentlich etwas konisch aufgetrieben. SCHMIDT-LANTERMANNsche Einkerbungen kamen am vitalen Nerven nicht zur Darstellung. Die SCHWANNschen Kerne des Neurolemms leuchteten sehr kräftig hellgrün, in deren Umgebung fehlten aber rote Granula.

Wurde der Nerv oberhalb der Beobachtungsstelle durch Quetschen mechanisch gereizt, so konnte im Gegensatz zu den Befunden von TONUTTI keine Änderung des morphologischen Bildes erreicht werden. Weder die SCHMIDT-LANTERMANNschen Incisuren noch das RANVIERSche Kreuz kamen zur Darstellung.

Nachfärbung am lebenden Tier mittels Berieselung mit Acridinorangelösung 1:10000 (in 0,6%iger Kochsalzlösung) verstärkte die Leuchtkraft der angefärbten Strukturen erheblich, ergab jedoch weder an ungereizten oder gereizten, noch an durchschnittenen Nerven eine Änderung des morphologischen Bildes.

Ein Frosch dieser Reihe wurde etwa 10 Std nach der Farbstoffinjektion getötet, 24 Std bei Zimmertemperatur aufbewahrt und anschließend wurde an ihm der Plexus lumbosacralis freipräpariert und unter dem Ultropak betrachtet. Abgesehen von einer unschärferen Darstellung war das morphologische Bild farblich das gleiche wie am lebenden Tier.

2. Versuchsanordnung.

In Urethannarkose wurde bei Winterfröschen der Plexus lumbosacralis freigelegt und unter dem Auflichtmikroskop eingestellt. Der Plexus wurde sodann

für etwa 1 min mit Acridinorangelösung 1:10000 berieselt und anschließend mit farbstofffreier Kochsalzlösung vom Farbstoffüberschuß befreit.

Ergebnis. Der Färbeerfolg war praktisch der gleiche wie in der 1. Versuchsanordnung nach der Nachfärbung. Bei längerer Beobachtungszeit wurden jedoch ähnlich wie am isolierten, überlebenden Nerven innerhalb der cytoplasmatischen Regionen um den SCHWANNschen Kern feinste, rubinrot fluorescierende Granula dargestellt, die Anzahl derselben war jedoch geringer als an isolierten Nervenfasern. Weder am ungereizten, noch am gereizten oder durchschnittenen Nerven ergaben sich rote Fluoreszenzfarben innerhalb der RANVIERSchen Schnürringe.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Wenn wir bei der Erörterung der eigenen Befunde von der eingangs gestellten Frage ausgehen, so läßt sich sagen, daß die Acridinorangemethode in der fixierten Nervenfasern — abgesehen von den Fibrillen des Achsenzylinders — die bekannten histologischen Bau- und Strukturelemente klar und deutlich zur Darstellung bringt. Das Spongiosa- oder Neurokeratingerüst der Markscheide wird dabei nicht nur am alkoholbehandelten sondern auch am lediglich mit Formaldehyd fixierten Nerven durch die Fluoreszenzfärbung herausgehoben. Am vital gefärbten Nerven dagegen ist von einem derartigen Gerüst nichts zu sehen. Somit handelt es sich bei diesem Neurokeratingerüst um eine durch die Fixierung entstandene Bildung, die jedoch bei gleichartiger Fixierungsmethode (Formalin bzw. Alkohol) in erstaunlich gleichartiger Weise immer wieder reproduziert werden kann. Und doch kann man nicht sagen, daß diese Struktur vital vorgebildet sein muß, denn je nach Art des Fixierungsmittels fällt das Endbild verschieden aus (vgl. die eigenen Versuche mit Alkohol- bzw. Formalinfixierung). In den eigenen Untersuchungen wurden bewußt zwei grundsätzlich unterschiedlich wirkende Fixationsmittel benutzt. Nach ZEIGER¹⁰ wirkt das Formalin vorwiegend durch Vernetzung, d. h. Brückenbildung zwischen benachbarten Polypeptidketten, daneben tritt eine Methylenierung von Aminogruppen ein. Dabei gelatiniert das Formaldehyd die Eiweißsubstanzen ohne stärkere Niederschlagsbildung aber mit geringfügiger Quellung. Coacervations- und Coagulationsvorgänge werden weitgehend vermieden. Die Vernetzung durch Brücken vom Typus der Oxymethylenpolymerisate wird in submikroskopisch geordneten Bereichen geordnet nach Art von leitersprossenartigen Einbauten erfolgen (ZEIGER). Alkohol dagegen führt keine Vernetzung herbei, sondern befestigt lediglich durch Dehydratation die heteropolaren Kohäsionsbindungen unter Entquellung, Verzerrung und Schrumpfung des submikroskopischen Gefüges. Daneben ist mit der lösenden Wirkung auf Fette und Lipide eine tiefgreifende Destruktion

der Lipoidfassaden (ZEIGER) verbunden. ZEIGER ist der Ansicht, daß es dabei aller Wahrscheinlichkeit nach zum Zusammenbruch des Molekulargefüges kommt und dann eine Koagulation von unterschiedlich großen Plasmateilen eintritt. Diese Wirkungsweise der Fixierungsmittel muß berücksichtigt werden, wenn die Frage angeschnitten wird, ob das Ultraviolett absorbierende (v. MURALT) und mit Acridinorange fluorochromierbare „Netzgerüst“ an der unfixierten, isolierten Faser mit dem Neurokeratingerüst identisch ist oder eine Vorstufe desselben darstellt. v. MURALT hatte dieses Netzgerüst als vital vorhandene Struktur aufgefaßt, da es sich an der isolierten, aber noch reizbaren Faser darstellen ließ. Wie die eigenen Vitalfärbungsversuche aber wohl beweisend zeigen konnten, ist diese Struktur am in situ befindlichen Nerven des lebenden Tieres nicht vorhanden, sondern entsteht erst als Entmischungsphänomen nach Alteration der Nervenfasern, insbesondere aber bei der Präparation der isolierten Einzelfaser. Die das Netzgerüst bildende Substanz besteht aller Wahrscheinlichkeit nach aus Eiweißkörpern, wie das Verhalten des Gerüsts bei der „Konzentrationsmetachromasie“ des Acridinorange zeigt. Dagegen stellen die „Vacuolen“ in diesem Netzgerüst ebenso wie im Neurokeratingerüst Tröpfchen lipoider Stoffe dar, denn ihnen fehlt die Konzentrationsmetachromasie, so daß angenommen werden muß, daß hier der Farbstoff in der lipoidlöslichen molekularen Form gespeichert wurde. Im Gegensatz zu dem aus gleichen oder zumindest sehr ähnlichen chemischen Substanzen aufgebauten Spongiosagerüst ist jedoch der physikochemische Zustand dieser Eiweißstoffe des Netzgerüsts ein ganz anderer. Das bei der Fixierung entstandene Neurokeratingerüst besteht im Falle des Fixierungsmittels Formalin aus gelatiniertem Eiweiß mit vernetzten Polypeptidketten, während es nach Alkoholfixation ein Eiweißcoagulum darstellt. An der unfixierten Faser treten jedoch weder Vernetzung in diesem Umfang, noch Coagulationserscheinungen bei der Bildung des Netzgerüsts auf, hier handelt es sich nach den eigenen Versuchen lediglich um eine Entmischung des Lipoid-Eiweiß-Gemisches der Markscheide, wobei tiefergreifende Veränderungen im physikochemischen Zustand der Eiweißkörper im Gegensatz zur Fixierung ausbleiben. Vom morphologischen Standpunkt ist dies Netzgerüst somit keinesfalls als Äquivalent oder Vorstufe des Neurokeratingerüsts aufzufassen. Für diese Ansicht spricht auch schon das vom Spongiosagerüst erheblich abweichende Bild des Netzgerüsts. Auf Grund der eigenen Befunde ist selbstverständlich auch die Annahme ausgeschlossen, es handle sich hierbei um das Reticulum der SCHWANNschen Scheide.

Ebensowenig wie das Neurokeratin- und das Netzgerüst wirkliche vitale Strukturen darstellen, muß man dies für die SCHMIDT-LANTER-

MANNSchen Incisuren und die Golgi-Trichter sagen. Obwohl beide am fixierten Nerven sehr gut zur Darstellung kommen (am gleichen Präparat zusammen mit dem Neurokeratingerüst!) lassen sie sich am wirklich vitalen Präparat, d. h. am lebenden Tier, nicht nachweisen. Wohl können an der toten, unfixierten oder geschädigten überlebenden Faser an entsprechenden Stellen der internodalen Stücke Einziehungen oder Einstülpungen in der äußeren Markscheidenkontur festgestellt werden, für die im optischen Querschnitt ein ringförmiger Verlauf nachgewiesen werden konnte, doch unterscheidet sich das morphologische Bild dieser „Einziehungen“ oder „Einstülpungen“ erheblich von dem bekannten Bild der SCHMIDT-LANTERMANNschen Incisuren. Auch für diese Strukturen hatte v. MURALT auf Grund seiner Untersuchungen an überlebenden (!), reizbaren Fasern angenommen, es handele sich um eine vitale Struktur. Aber trotzdem berücksichtigt er derartige Gebilde in seinem Modell des Nerven nicht, obwohl vorhandene Incisuren nicht ohne Einfluß auf die elektrisch isolierenden Eigenschaften der Markscheide sein würden. Mit der Feststellung, daß diese Incisuren an ungereizten Nerven des mit Acridinorange vitalfluorochromierten Tieres nicht nachweisbar sind, bestätigen wir den gleichen Befund von TONUTTI, wieso es aber nach Reizung der Fasern im Gegensatz zu den Angaben von TONUTTI in den eigenen Versuchen nicht zur Darstellung der SCHMIDT-LANTERMANNschen Incisuren kam, können wir heute noch nicht erklären. Hier müssen weitere Versuche zeigen, ob z. B. Ernährung der Tiere oder jahreszeitliche Einflüsse eine Rolle spielen.

Besonders bemerkenswert sind die Befunde an den RANVIERSchen Schnürringen. Bei seinen Vitalfärbungsversuchen hatte TONUTTI festgestellt, daß nach Erregung markhaltiger Nerven plötzlich innerhalb der vorher im wesentlichen strukturlosen Schnürringe eine rot fluoreszierende Kreuzfigur in Form des RANVIERSchen Kreuzes auftritt. Wir konnten zwar an lebenden Tieren (Winterfröschen) diesen Befund *nicht* reproduzieren, fanden aber, daß sich an der isolierten, überlebenden markhaltigen Faser in den meisten Schnürringen ein derartiges Kreuz mit Acridinorange anfärben läßt. An der Einzelfaser war dies morphologische Bild aber weiter aufzulösen, als es TONUTTI bei der Vitalbeobachtung möglich war. Während der durchlaufende Achsenzylinder bei Vorliegen einer Kreuzfigur gleichmäßig braunrot bis rubinrot gefärbt war, wobei nicht unterschieden werden konnte, ob vielleicht körnchen- oder stäbchenartige, an der Sichtbarkeitsgrenze des Mikroskops gelegene Elemente angefärbt waren, zeigte die „Quermembran“ sich zusammengesetzt aus feinen, rubinrot leuchtenden Granula. Waren nur wenige Körnchen innerhalb des Schnürringes vorhanden, so blieb häufig die Rotfärbung des Axon aus und es fluores-

cierte dieses in grünlichem Farbton. Da es sich hier um einen Konzentrationseffekt des Acridinorange-kations (vgl. STRUGGER⁵, SCHÜMMEL-FEDER⁶) handelt, läßt sich ganz allgemein sagen, daß die das Acridinorange-kation in hohem Maße adsorbierende Struktur eine negative Ladung tragen muß. Damit können wir färberisch die Überlegungen von v. MURALT bestätigen.

Bei der Erörterung seines Modells der ruhenden Nervenfasers sagt nämlich v. MURALT: „Ein besonderes Wort ist zu der Art zu sagen, in der die Quermembran schematisch und übertrieben im RANVIERSchen Schnürring dargestellt ist. Die Porennatur der Membran ist durch „Röhren“ angedeutet, in denen die Kationen als *Gleitonen* beweglich sind. Das Gerüst trägt aber im Sinne der TROBELL-MEYERSchen Theorie eine negative Ladung, die von der Dissoziation der Eiweiße herrühren kann und „hält“ damit die Gleitonen fest. Die Anionen können aus elektrostatischen Gründen nicht in die Membran eintreten und bilden die innere Belegung einer Doppelschicht. Die weiße Trennungslinie, die den Anionen den Eintritt in die Membran versperrt, soll weiterhin andeuten, daß an dieser Stelle Lipide eventuell einen monomolekularen Film bilden und aus Löslichkeits- oder Porengründen den Anionen den Eintritt in die Membran erschweren. In der Mitte ist nochmals eine solche Trennungslinie eingezeichnet, um anzudeuten, daß die Quermembran funktionell aus 2 Teilen besteht, von denen jede Hälfte zu dem entsprechenden Internodium gehört. Ich betone nochmals, daß es sich nur um ein Modellbild handelt, welches meines Erachtens die experimentellen Daten heute am besten wiedergibt“ (v. MURALT).

Falls dieses Schema von v. MURALT bezüglich der Quermembran den tatsächlichen Befunden gerecht wird, mußte erwartet werden, daß an dieser Quermembran Farbkationen verstärkt adsorbiert würden, wie es in unseren Versuchen dann auch nachgewiesen werden konnte.

Die in den cytoplasmatischen Regionen um die SCHWANNschen Kerne vorhandenen, rot fluoreszierenden Granula sah bereits HIRT⁴ bei der Vitalfluorochromierung von Tieren mit einem „Spezialtrypaflavin“. Da es sich bei dem Farbstoff von HIRT anscheinend um eine besondere Charge handelte, ist eine Nachprüfung dieser Befunde mit Trypaflavin heute nicht mehr möglich. Auf Grund des gleichen färberischen Verhaltens der einzelnen Gewebelemente und der Tatsache, daß Trypaflavin wie Acridinorange ein Acridinfarbstoff ist, scheint es mir jedoch wahrscheinlich, daß HIRT ein Trypaflavin mit reichlicher Beimengung von Acridinorange benutzt hat. Über die Bedeutung dieser Granula kann ich auf Grund der eigenen Befunde noch nichts aussagen. Ob sie in irgendeiner Weise mit dem Vitamin-B₂-Gehalt des Nerven oder der SCHWANNschen Scheide verknüpft sind, wie HIRT auf Grund seiner Versuche annimmt, muß durch weitere Versuche geklärt werden.

Zusammenfassung.

1. An der mit Acridinorange fluorochromierten, alkohol- oder formolfixierten, markhaltigen Nervenfasers lassen sich folgende Bau- und

Strukturelemente einwandfrei nachweisen: Achsenzylinder, Markscheide, RANVIERSche Schnürringe, SCHWANNsche Scheide mit SCHWANNschen Kernen, Neurokeratingerüst mit longitudinaler Trabecula und Vacuolen, SCHMIDT-LANTERMANNsche Incisuren und Golgi-Trichter.

2. An der unfixierten, toten Nervenfasern werden dagegen nur Achsenzylinder, Markscheide, SCHWANNsche Scheide mit SCHWANNschen Kernen dargestellt. Neu sichtbar wird eine doppelkonturierte Quermembran innerhalb des Schnürringes und ein „Netzgerüst“ innerhalb der Markscheide, welches weitgehend dem gleicht, das v. MURALT bei der Ultraviolett-mikroskopie der überlebenden, reizbaren Faser gesehen hat.

3. Gleiche Bilder wie tote, unfixierte Fasern geben überlebende, aber mehr oder minder stark geschädigte Nervenfasern, während an der weitgehend ungeschädigten Faser ein Netzgerüst nicht festzustellen ist. Bei der überlebenden, markhaltigen Faser weisen die meisten RANVIERSchen Schnürringe eine rot fluoreszierende Kreuzfigur oder Quermembran auf. Es läßt sich zeigen, daß die Quermembran hier aus rot leuchtenden Körnchen oder Tröpfchen zusammengesetzt ist. An der überlebenden Faser finden sich ähnliche Granula in den cytoplasmatischen Bezirken um die SCHWANNschen Kerne.

4. An der lebenden Faser des in situ befindlichen Nerven wird als einzige vital vorhandene Struktur der RANVIERSche Schnürring vorgefunden.

5. Der Befund von TONUTTI, daß nach Reizung auch am in situ befindlichen Nerven das RANVIERSche Kreuz in roter Fluoreszenzfarbe erscheint, konnte am eigenen Tiermaterial (Winterfrösche) nicht bestätigt werden.

Literatur.

- ¹ MURALT, A. v.: Die Signalübermittlung im Nerven. Basel: Birkhäuser 1945. — ² AUTRUM, H., u. D. SCHNEIDER: Naturwiss. **37**, 21, 46 (1950). — ³ TONUTTI, E.: Schweiz. med. Wschr. **1946**, 778. — ⁴ HIRT, A.: Verh. anat. Ges. **1939** (Erg.-H. z. Anat. Anz. **88**, 25). — ⁵ STRUGGER, S.: Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover: M. & H. Schaper. (Dort weitere Literatur). — ⁶ SCHÜMMELFEDER, N.: Naturwiss. **35**, 346 (1948); **36**, 58 (1949). — Virchows Arch. **318**, 119 (1950). — ⁷ EWALD u. KÜHNE: Zit. nach v. MURALT (¹). — ⁸ KÜHNE u. CHITTENDEN: Zit. nach v. MURALT (¹). — ⁹ CAJAL, S. RAMONY: Degeneration and Regeneration of the Nervous System. Oxford 1928. Zit. nach v. MURALT (¹). — ¹⁰ ZEIGER, K.: Z. Zellforschg **34**, 230 (1949).

Privatdozent Dr. med. N. SCHÜMMELFEDER, (21a) Münster i. Westf.,
Westring 17, Pathologisches Institut der Universität.