

**from the library of Helmut Kettenmann**

**Max Delbrück Center for Molecular Medicine  
Berlin – Buch**

scanned by Victoria Rothe

VIRCHOW'S  
ARCHIV

160

610.5  
A 673



Virchow: Dieses Archiv, 149.

Welker: Ziegler's Beiträge, 18.

Betreffs der übrigen, sämmtlich nach Original citirten (schon in anderen Publicationen mehrmals erwähnten) Autoren-Angaben sei auf „Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse u. s. w.“, sowie die drei letzten Jahrgänge des C. B. f. Bakteriologie, der hygienischen Rundschau, der Zeitschrift für Hygiene und Infect.-Krankh. verwiesen.

## XVI.

### Eine neue Färbung der Neuroglia.

(Zugleich ein kleiner Beitrag zur Kenntniss der Natur von den Glia-Fasern.)

Von

Dr. K. Yamagiwa,

Prof. an der kaiserl. Jap. Universität zu Tokio.

(Hierzu Tafel VI.)

Für die Untersuchung bestimmter Elementarbestandtheile der Gewebe in der normalen Histologie wird die sog. elective Färbung unerlässlich sein. Zur Beobachtung pathologischer Objecte aber ist sie nicht immer vortheilhaft. Wir verlangen in der pathologischen Histologie vielmehr durch gewisse Färbung solche Präparate zu gewinnen, an welchen man alle Gewebsbestandtheile gleichzeitig und zwar womöglich verschieden gefärbt findet, sodass das gegenwärtige Verhältniss einzelner Bestandtheile der betreffenden Gewebe klar zu Tage tritt. Das gilt besonders für das Studium solcher Art an Geweben mit der complicirten Structur des Centralnervensystems.

An der Zahl der zur Untersuchung des pathologischen oder normalen Centralnervensystems bisher angewendeten Färbungsmethoden fühlt man wohl keinen Mangel. Sie sind reichlich zu nennen und sie haben auch alle ihre Vortheile, worauf



einzu gehen aber nicht der Zweck meiner Darstellung ist. Ich will nur im Folgenden eine neue Färbungsmethode des Centralnervensystems kurz mittheilen, welche jene Anforderung, nemlich dass alle Gewebsbestandtheile gleichzeitig und zwar verschieden gefärbt werden sollen, wie mir scheint, ungefähr erfüllen kann.

Wie ich zu dieser Färbung kam, das ist einfach ein Zufall. Im Sommer des Jahres 1897 habe ich bei einem Sectionsfall mit der klinischen Diagnose „Jackson'sche Epilepsie und Kakke“ (aus der med. Klinik meines verehrten Collegen, Herrn Prof. K. Miura) ein Gliom des linken Thalamus opticus gefunden<sup>1)</sup>. Nach der Section (8 Stunden post mortem) habe ich aus dem genannten Tumor, bzw. auch aus dessen Peripherie, viele dünne Scheibchen herausgeschnitten. Ein Theil von ihnen ist nach der Vorschrift von Weigert zur Gliafaserfärbung<sup>2)</sup> fixirt, und der andere in Müller'scher Flüssigkeit conservirt worden. Die Weigert'sche Färbung ist mir leider damals nicht gelungen. Dagegen die anderen in Müller'scher Flüssigkeit conservirten Scheibchen haben mir viel geleistet. Während der anfänglichen 5—6 Tage habe ich die Müller'sche Flüssigkeit täglich erneuert. Ich habe auch täglich durch das oftmalige Schütteln des Glases das Eindringen der Flüssigkeit von allen Seiten ins Gewebe befördert. Nach einem Monate ungefähr sind die Scheibchen aus der Müller'schen Flüssigkeit, ohne Ausspülen in Wasser, direct in absoluten Alcohol gelegt und nachgehärtet worden. Weiter sind aus den so vorbereiteten Scheibchen, wie gewöhnlich, Celloidinschnitte angefertigt worden — soweit also keine Neuigkeit. Diese Celloidinschnitte habe ich nun nach dem Princip der Axencylinderfärbung von Ströbe<sup>3)</sup> behandelt, nachdem ich die Schnitte vorher durch concentrirte alcoholische Eosinlösung etwa 12 Stunden lang gefärbt hatte. Die ganze Procedur ist also:

<sup>1)</sup> Diesen Fall hat Prof. K. Miura im IV. Bande (No. III) der „Mittheilungen aus der med. Facultät der kaiserl. Jap. Univ. zu Tokio“ veröffentlicht.

<sup>2)</sup> Festschr. z. 50jähr. Jubil. d. ärztl. Vereins z. Frankfurt a. M. 1895.

<sup>3)</sup> Vgl. Ctbltt. für Allgem. Pathologie u. pathol. Anatomie, Bd. IX, No. 2.

## I. Härtung der möglichst dünnen Scheibchen

- a) in Müller'scher Flüssigkeit während eines Monats ungefähr (anfänglich, 5—6 Tage nach dem Einlegen, wird die Flüssigkeit täglich erneuert); dann kommen die Scheibchen
- b) direct in absoluten Alcohol (ohne Ausspülen in Wasser) und bleiben mehrere Tage bis eine Woche darin (Alcohol täglich erneuert); weiter
- c) Einbettung in Celloidin.

## II. Färbung der Celloidinschnitte

- a) in der gesättigten oder concentrirten alcoholischen Eosinlösung über 12 Stunden oder noch länger; dann
- b) in der concentrirten wässerigen Anilinblaulösung 4 bis 6 Stunden;
- c) Differenzirung in dem durch Einträufeln von 1procent. Kalilösung schwach alkalisch gemachten verdünnten Alcohol. — Die tiefblau gefärbten Schnitte werden momentan oder allmählich röthlich-bräunlich je nach der Alkalescenz des Alcohol;
- d) Auswaschen des alkalischen Alcohol in destillirtem Wasser;
- e) Ausziehen des überschüssigen Anilinblau in verdünntem Alcohol. — Die Schnitte zeigen röthlichen Farbenton.
- f) Entwässern in absolutem Alcohol;
- g) Aufhellen in Origanumöl, worin die Schnitte wieder etwas blauer werden;
- h) Einschliessen in Balsam.

Durch diese Färbung habe ich Präparate gewonnen, in welchen die Axencylinder tiefblau, Gliafasern und rothe Blutzellen dunkelroth, Markscheiden hellroth, Protoplasma der Gliazellen blassviolett (oder bläulich-röthlich), der Zellenleib der Ganglienzellen blassbläulich-grau (mit grünlich gefärbten Körnern beladen — Fig. 3), ihre dicken Fortsätze blassbläulich, Bindegewebefasern, Adventitia und Intima der Gefäße himmelblau bis schwachgrünlich, Media bläulich-röthlich, weiter die Kernmembran aller Zellkerne bläulich, das Kernkörperchen der Ganglienzellen tiefviolett bis tiefblau,

dasjenige der Gliazellen auch bläulich, aber mit einer mehr röthlichen Nuance gefärbt werden.

Wie man sieht, der Kernpunkt in dieser Färbung liegt in der gleichzeitigen Contrastfärbung der Gliafasern (roth), des Protoplasma der Gliazellen (schwachviolett), des Axencylinders (tiefblau) und der Bindegewebsfasern (himmelblau-grünlich).

Seither habe ich einige Male frisches Gehirn (aus den Sectionen 2—3 Stunden post mortem) nach der genannten Methode behandelt. Die Färbung der Schnitte ist zwar nicht ganz so hübsch ausgefallen, wie bei den erwähnten Gliompräparaten. Aber die zuletzt genannte Contrastfärbung war deutlich genug.

Dagegen ist die Färbung an Schnitten aus vielen als Ganzes in Müller'scher Flüssigkeit aufbewahrten, in Wasser ausgespülten (auch nicht so frischen) Gehirnen nie gelungen. Ebenso nehmen die Gliafasern in den lange im Alcohol aufbewahrten Schnitten aus dem richtig gehärteten Stücke selbst die Eosin-farbe nicht an. Ferner lässt sich die Randschicht der Schnitte immer besser färben, als die innere Partie, worüber Mallory auch bei der Mittheilung seiner Färbungsmethode geklagt hatte<sup>1)</sup>. Man wird gewiss noch viele Mängel in meiner Färbung herausfinden können, mit welcher auch ich selber noch nicht zufrieden bin. Jedoch, wenn das Material frisch ist und in möglichst dünnen Scheibchen richtig gehärtet wird, gelingt die Färbung selbst ganz sicher und constant. Die gut gefärbten Präparate verblassen nicht leicht. So besitze ich Präparate, welche ich im Herbst vorvorigen Jahres angefertigt habe, und in welchen man jetzt nach zwei Jahren alle Elemente noch ganz deutlich gefärbt findet.

Die Brauchbarkeit meiner Methode sollte eigentlich vor der Publication auch schon am Rückenmark und Augengliom u. s. w. geprüft werden, was mir Mangel an geeignetem, frischen Material nicht gestattete. Auch inzwischen verschiedentlich gestört, musste ich meine Arbeit zur Vervollkommnung der Methode öfters unterbrechen.

<sup>1)</sup> Vgl. Ctblt. für Allgem. Pathologie u. pathol. Anatomie, Bd. VI, No. 19.

Bekanntlich hat Virchow vor nunmehr 46 Jahren die eigenartige interstitielle Bindesubstanz im Centralnervensystem zum Unterschiede von interstitiellem Bindegewebe in anderen Geweben als Neuroglia bezeichnet und er hat auch diejenige Neubildung, welche aus der Neuroglia hervorgeht, Gliom genannt<sup>1)</sup>. Seitdem haben sich viele Forscher bemüht, durch verschiedene Methoden die Natur der Neuroglia näher zu charakterisiren ohne dass sie jedoch bis zum jetzigen Augenblick ganz aufgeklärt worden ist. Man streitet besonders über das Verhältniss der Gliafasern zu den Gliazellen. Auf der einen Seite behauptet man im Besitz der Silberpräparate nach Golgi<sup>2)</sup>, Gliafasern seien Fortsätze der Gliazellen, dagegen lässt Weigert, gestützt auf die nach seiner neuen Gliafaserfärbung erhaltenen Präparate, mit Ranvier, Gliafasern von den Gliazellen vollkommen differenzirte, faserige Intercellularsubstanz sein<sup>3)</sup>.

Sind meine Gliompräparate im Stande, die betreffende Frage etwas aufzuklären?

Wenn ich nach der Untersuchung meiner Präparate schliesse, so liefern die Gliazellen im ausgewachsenen Centralnervensystem Stützpunkte für die Gliafasern, welche eben nichts Anderes sind als die differenzirten, peripherischen Theile der Gliazellen, deren Zellenleib nicht etwa durch eine besondere Membran ringsum scharf begrenzt ist.

Rothgefärbte Gliafasern von verschiedener Stärke berühren einmal in ihrem Verlaufe eine Seite des Leibes der Gliazellen (Fig. 4), fassen ein andermal dreieckig gestaltete Gliazellen zwischen sich (Fig. 2—5). Bald schalten sich kleinere Gliazellen da zwischen den Gliafasern ein, wo die letzteren an einanderliegen (Fig. 6—7), bald werden grössere Gliazellen vielfach durch die Convexseite der kometenbahnartig umbiegenden Gliafasern begrenzt (Astrocyten. Fig. 8). Entweder sieht man feine, rothe Punkte als Querschnitte der feinen Gliafasern in der peripherischen Schicht

<sup>1)</sup> Dies. Arch., Bd. VI. u. VIII; Cellularpathologie, III. Aufl.; Geschwülste II.

<sup>2)</sup> Unters. über d. feineren Bau d. centr. u. periph. Nervens., Jena 1894; Kölliker, Handb. d. Gewebelehre 1896, II.

<sup>3)</sup> a. a. O.

des Zellenleibes (Fig. 12), oder werden Zellcomplexe wahrgenommen, welche verschiedentlich von den Fasern begrenzt sind (Fig. 9).

Die genannten Bilder lassen keinen Zweifel mehr darüber bestehen, dass die Gliafasern differenzirte Intercellularsubstanz darstellen, welche aber nicht ganz oder nicht überall von den Zellen getrennt sind. Einige Bedenken zu dieser Behauptung rufen dabei jene dicken, gewöhnlich kurzen Fortsätze hervor, welche wirklich als die Fortsetzung des Zellenleibes sich an die Gefässwand heranbegeben und da konische Verbreiterung zeigen. Dass ein solcher oft beschriebener Conus an einem Ende der Gliafasern wirklich existirt, ist nicht zu leugnen. Nach der Färbung von Weigert kommt dieser Conus nicht zum Vorschein, aber Silberbilder und auch meine Präparate zeigen ihn deutlich. Nur in meinen Präparaten werden jene dicken Fortsätze nicht mitsammt dem Zellenleib gleichmässig verschwärzt, wie im Golgi'schen Präparate. Das dünnere Mittelstück der dicken Fortsätze und die seitlichen Theile sind, wie andere Gliafasern, roth gefärbt und faserig, während sie am Zellleib dicker sind, gegen den Zellenleib allmählich den blassviolett-bläulichen Farbenton des Zellprotoplasma annehmen, und die innere Schicht zwischen den seitlichen rothen Partien des Conus an der Gefässwand ebenso, wie das Zellprotoplasma, blassviolett gefärbt wird (Fig. 10). Selbst in diesem Falle haben also die Fortsätze auch zum grössten Theil einen anderen Charakter als das Zellprotoplasma bekommen, wengleich ihre Natur als Zellenfortsatz noch erhalten bleibt. Wie es mir scheint, geht diese Fortsatznatur umsomehr verloren, je länger solche Fortsätze werden. Die letztere Art findet man unter den radiär um die Gefässwand angeordneten Fasern immer zahlreich (Fig. 2, 1) Ihr Mittelstück besteht aus zwei parallel neben einander verlaufenden rothen Fasern, welche, an einem Ende die beiden Seiten kleiner Gliazellen berührend, weiter auseinandergehen, während sie an der Gefässwand, konisch verbreitert, eine schon mehr röthlich und faserig aussehende Masse zwischen sich fassen.

Bemerkenswerth ist ferner, dass im Allgemeinen das Protoplasma kleinerer Gliazellen oder der fast allseitig von den Gliafasern berührten Gliazellen mehr röthlichgefärbt wird, während



das Protoplasma der grösseren und der riesiggrossen mehrkernigen Gliazellen im faserarmen, zellenreichen Theile des Glioms mehr einfach bläulich gefärbt wird. Diese riesiggrossen Zellen von verschiedenster Gestalt (Fig. 10—12) sind gewöhnlich mit vielen randständigen, ovalen oder ellipsoiden Kernen, manchmal mit bandartigen Fortsätzen versehen. Die peripherische Schicht solcher Zellen schickt oft gegen die Umgebung feine büschelartige protoplasmatische Fortsätze, oder sie beherbergt Gliafasern oder auch restinge Nervenfasern (Fig. 12), so dass es manchmal scheint, als ob der Leib solcher Zellen irgendwelche Lücken in der Umgebung ausfülle.

Unter solchen hypertrophischen Gliazellen giebt es viele, welche jenen oben beschriebenen dicken, kurzen Fortsatz an die Gefässwand schicken. In den zellreichen Theilen meines Glioms sind also Riesenzellen und auch grosse Astrocyten ziemlich häufig angetroffen worden. An keinen von ihnen habe ich jedoch eine Aehnlichkeit mit den Ganglienzellen gefunden, welche auch in meinem Gliome als die noch erhaltenen, präexistirenden (Fig. 3) vorgefunden worden sind.

Nach meiner Färbung konnte ich also auch, wie Weigert nach seiner Methode, constatiren, dass die Affinität der Gliafasern für den Farbstoff (in meinem Fall für Eosin) nach der bestimmten Behandlung anders oder stärker ist, als die des Protoplasma der Gliazellen. Dieses verschiedene Verhalten der Gliafasern gegen Farbstoff beweist genügend, dass sie differenzirte Gebilde sind, wenn sie auch noch irgendwo an das Protoplasma sich anlehnen. Dass sie aber Producte vom Protoplasma der Gliazellen sind, dafür sprechen auch im ausgewachsenen Gehirn jene dicken, kurzen Fortsätze gegen die Gefässwand.

Diesmal kann ich nicht auf weitere Fragen eingehen. Später hoffe ich, noch einmal über die Natur der Neuroglia ausführlicher sprechen zu können, wenn ich mit meiner weiter zu verbessernden Methode mehr Material untersucht haben werde.

Tokio, am 16. November 1899.

## Erklärung der Abbildungen auf Taf. VI.

**Fig. 1.** Ein dem III Ventrikel zugekehrter Theil des I. Thalamus opticus, der Peripherie des Tumors entsprechend. Vergrößerung: Zeiss-Apochromat, Ocular 2, homogene Immersion 0,2 mm.

**Fig. 2 u. 3.** Vergrößerung: wie bei Fig. 1.

**Fig. 4—12.** Vergrößerung: Zeiss-Apochromat, Ocular 6, homogene Immersion 0,2 mm.

Sonstige Erklärungen siehe im Text.

