

Seit langem ist es in der mikroskopischen Untersuchungstechnik gebräuchlich, die Metallimprägationen von den eigentlichen Färbemethoden zu trennen. Gierke konnte schon im Jahre 1885 nicht mehr feststellen, warum und von wem diese Unterscheidung eingeführt wurde. Grundsätzlich dienen beide Arbeitsweisen dem gleichen Ziele, nämlich Gewebbestandteile durch die künstliche Hervorrufung von Farbwirkungen besser erkennbar zu machen.

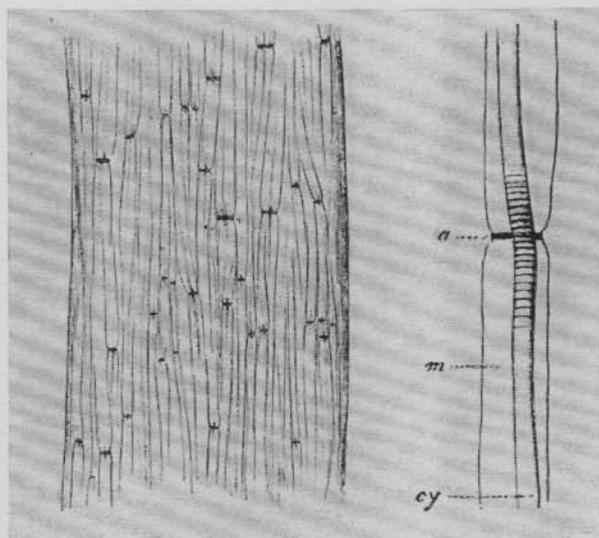
Möglicherweise sah man früher in dem bei der Verwendung von Metallsalzen sichtbar werdenden körnigen Niederschlag ein Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Färbungen (Gierke 1885, v. Apathy 1892). Wie K. Zeiger (geb. 1895) 1938 bemerkte, ist eine derartig begründete Unterscheidung nicht gerechtfertigt, denn die bei der Imprägnation entstehenden Farbwirkungen beruhen keineswegs immer auf Niederschlägen von mikroskopisch sichtbarer Teilchengröße, vielmehr kann es sich auch um Teilchenaggregate von kolloider oder sogar von molekularer Größenordnung handeln.

So wie man in der Mikrotechnik Farbstoffe auf das native Gewebe oder auf abgestorbene Zellen einwirken lassen kann, so kann man die Imprägnation mit Metallen an frischen oder an in bestimmter Weise vorbehandelten und dadurch abgetöteten Geweben vornehmen. Wie die Färbung wurde auch die Metallimprägation ursprünglich an frischen Geweben ausgeführt; die früheste Erwähnung erfolgte durch den Anatomen K. F. Th. Krause (1797–1868) im Jahre 1844, also noch vor der Einführung der Färbung zu mikroskopischen Zwecken. Krause sah nach Einwirkung einer Silbernitratlösung auf die Haut deutliche Grenzen der Epithelzellen in Form von schwarzen Körnchenreihen. Die gleiche Beobachtung wurde an der Cornea nach Höllensteinbehandlung 1854 von Flinzer und 1856 von dem Basler Anatomen Wilhelm His gemacht (s. Ciba Zeitschrift Nr. 21, S. 726). Zu einer Methode der mikroskopischen Forschung wurde die Anwendung von Silbernitrat jedoch erst in den Jahren 1860 und 1862 durch v. Recklinghausen. Bei seinen systematisch durchgeführten Studien legte er frische Stücke von verschiedenen Gewebsarten kurze Zeit in schwache Silbernitratlösung, brachte

sie dann in verdünnte Kochsalzlösung und setzte sie danach dem Lichte aus. Ist die Imprägnation geglückt, dann ist durch diese Behandlung ein feiner Silber Niederschlag im Gebiete der Grenzlinien von Epithelien und in feinen Hohlräumen und Kanälchen entstanden, der durch seine schwarze Farbe leicht unter dem Mikroskop zu erkennen ist.

Wenn diese Arbeitsweise in der histologischen Technik keine ebenso große Verbreitung gefunden hat wie die Färbemethoden, so ist daran nicht zum wenigsten ihre «Launenhaftigkeit» schuld, d. h. die Silbermethode führt, selbst bei strenger Einhaltung gleicher Bedingungen, durchaus nicht immer zu gleichen Ergebnissen; offenbar beeinflusst der jeweilige Zustand des Gewebes den Reduktionsvorgang in entscheidender Weise. Die Versuche, die Silbernitratniederschläge als Fasernetze (Adler 1864) oder als Kunstprodukte zu deuten (z. B. Harpek 1864 und Hartmann 1864), konnten erst durch eingehende und überzeugende Untersuchungen von Elenz (1864), Auerbach (1865), Hüter (1866) und anderen Forschern als unrichtig erwiesen werden. In jenen Jahren begann man auch die Art der Silberanwendung zu modifizieren, um eine Arbeitsweise zu finden, mit der konstantere Ergebnisse erreicht werden können. Hier ist besonders die von Ranvier 1867 mitgeteilte Methode zu nennen:

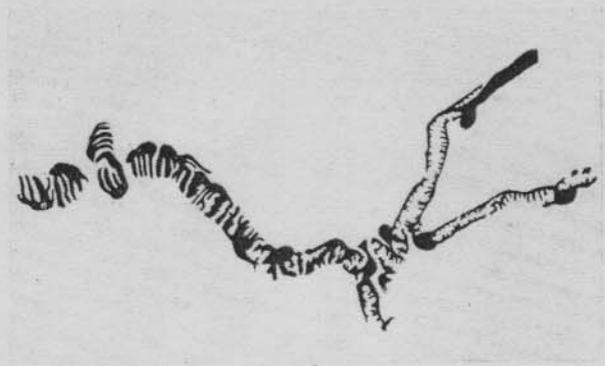
Mit Silber imprägnierte periphere Nerven. «Schnürringe» und «Kreuze». Abbildung aus der deutschen, von Nicati und Wyß besorgten Ausgabe von Louis A. Ranvier, «Traité technique d'histologie». Leipzig 1888.



Durch Nachbehandlung der silberimprägnierten Präparate mit Goldchlorid und darauffolgende Kernfärbung mit Karmin werden ausgezeichnete und zuverlässige Ergebnisse erzielt. Die Empfehlung eines in technischen Dingen so geübten Forschers, wie Ranvier es damals schon war, trug erheblich zur Anerkennung der Silberimprägnation als einer vielseitig verwendbaren histologischen Methode bei. Wenn auch weiterhin noch gelegentlich Zweifel geäußert wurden, so bezogen sich diese mehr auf die Frage, aus welchen Gründen sich das Silber nur an bestimmten Orten niederschlägt, eine Frage, die auch heute noch nicht eindeutig beantwortet werden kann.

Anfänglich wurde die Imprägnation mit Silber vor allem zur Untersuchung von Epithelien, z. B. der Cornea und der Lungenalveolen, benutzt, bald aber wurde sie auch zum feineren Studium des Gefäßbaues und der Gelenke verwendet, und in der Folgezeit spielte sie besonders bei der Untersuchung des Nervengewebes eine große Rolle. Die erste Verwendung von Silbernitrat zum Studium der peripheren Nervenfasern geht auf

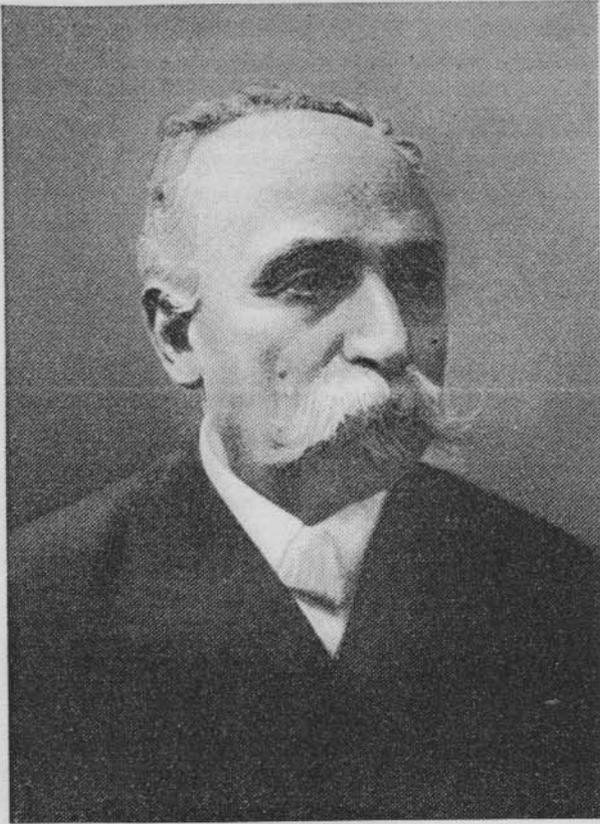
Louis Antoine Ranvier (1835–1922), Verfasser des bedeutenden und sehr verbreiteten Lehrbuches der histologischen Technik, «*Traité technique d'histologie*», und Schöpfer neuer histologischer Arbeitsmethoden. Aus: *Compt. rend. Soc. biol.* Bd. 86, 1922.



Pericyten an Blutgefäßen eines menschlichen Herzens durch Imprägnation nach Golgi dargestellt. Zu beachten ist der Formwechsel vom praecapillaren Abschnitt (links) zum Capillargebiet (rechts). Nach K. W. Zimmermann, *Ztschr. f. Anat. und Entwicklungsgesch.* 68, 1923.

C. Frommann (1864) zurück; allerdings erwiesen sich die von ihm beschriebenen Querstreifungen im Achsenzylinder als Artefakte; sie entstanden infolge der rhythmischen Ausfällungen des Silbers im kolloidalen Milieu. Für die Histologie wichtig geworden sind die 1871 von Ranvier in peripheren markhaltigen Nervenfasern durch Versilberung dargestellten «Kreuze» oder «Schnürringe». Wenn sich auch über die Bedeutung dieser Gebilde immer noch keine einheitliche Auffassung hat durchsetzen können, so ist doch die Tatsache einer lokalen Unterbrechung der vom Myelin herrührenden Isolation des Achsenzylinders sehr beachtenswert. G. Kato konnte an der einzelnen überlebenden Nervenfasern zeigen, daß sie nur am Orte des Ranvierschen Schnürringes durch elektrischen Strom reizbar ist, eine Beobachtung, die u. a. zur Aufstellung der Theorie von der saltatorischen Reizleitung im Nerven durch I. Taşaki geführt hat.

Ihr Hauptanwendungsgebiet fand die Silberimprägnation aber bei der Erforschung des zellulären Aufbaues des Zentralnervensystems. Hier werden die Silbersalz-Lösungen nicht am frischen, sondern an einem in bestimmter Weise vorbehandelten, also abgetöteten Gewebestück angewendet. In einer vorläufigen Mitteilung vom Jahre 1873 empfahl Camillo Golgi (1843–1926) zuerst die Versilberungsmethode zu Untersuchungen des zentralen Nervensystems. Er hatte sein Material vor der Versilberung in Kaliumbichromat gehärtet und fand die in der grauen Substanz gelegenen Zellen elektiv geschwärzt. Dieses Verfahren der «Nachversilberung», also der Silberimprägnation vorbehandelten Materials, ermöglichte der Histomorphologie außerordentliche



Camillo Golgi (1843–1926), Anatom in Pavia, Nobelpreisträger 1906. Golgi entdeckte 1873 die «schwarze Reaktion», mit deren Hilfe eine Aufklärung der zellulären Zusammensetzung vieler Teile des Zentralnervensystems gelang. Aus: Rendiconti Reale Istituto Lombardo di Scienze e Lettere. Ser. II, Vol. 59, 1926.

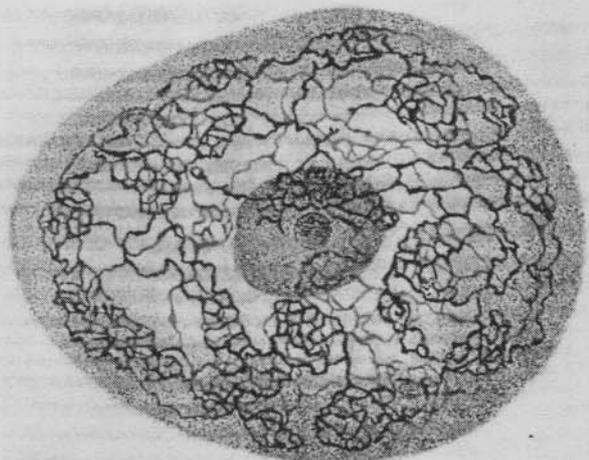
Fortschritte, besonders hinsichtlich der Kenntnis der Zellformen. Carl Weigert schrieb 1895 in einem Referat, daß bisher noch keine Methode in so kurzer Zeit derart große Erfolge aufweisen konnte. Tatsächlich hat erst Golgis «schwarze Reaktion» die Silberimprägnation zu einer Arbeitsmethode gemacht, die neben den Färbeverfahren immer ihre Bedeutung behalten wird. Die von Golgi auf breiter Basis durchgeführten Studien sind zusammengestellt in seinen 1894 veröffentlichten «Untersuchungen über den feineren Bau des zentralen und peripheren Nervensystems».

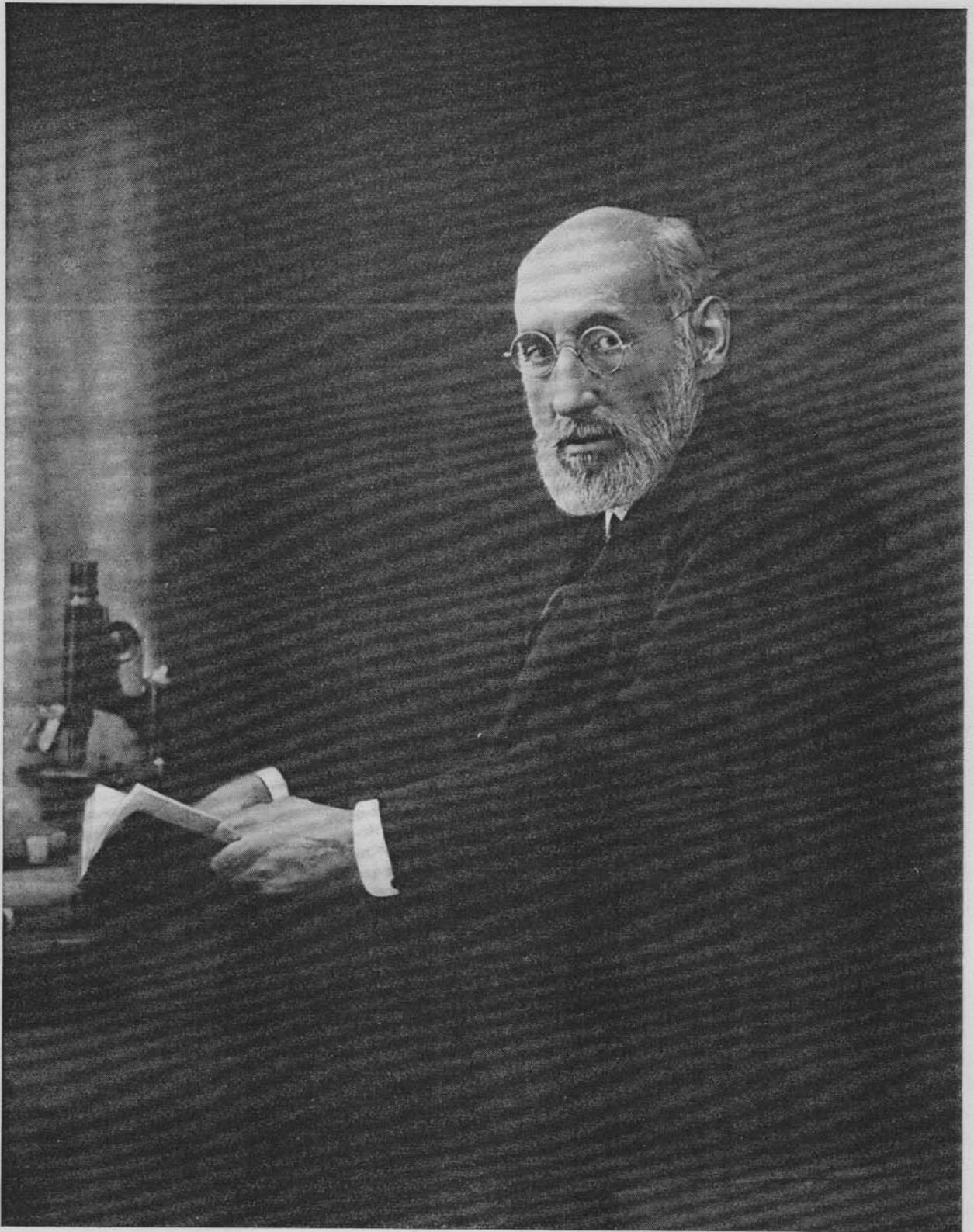
Etwa seit 1888 hatte sich auch der spanische Forscher Santiago Ramón y Cajal (1852 bis 1934), damals Professor der normalen und pathologischen Histologie in Barcelona, mit dem Studium des Nervensystems beschäftigt. Anfangs benutzte er Golgis Originalmethode, aber bald gelangen ihm verschiedene Modifikationen; so ist z. B. die mehrmals wiederholte Chromierung und Nachversilberung eine wichtige Verbesserung; sie wurde 1892 bekanntgegeben. Außerdem hatte Ramón y

Cajal den glücklichen Gedanken, das Nervensystem von Embryonen und Jugendlichen, das von den benutzten Lösungen leichter durchdrungen wird, als Untersuchungsobjekt zu wählen. Seine erste wichtige Entdeckung war der von Golgi schon früher einmal geführte, aber nicht verwertete Nachweis, daß die Nervenfasern Kollateralen und Endverzweigungen besitzen, und die Feststellung, daß diese Verzweigungen sich in der grauen Substanz des Rückenmarkes in verschiedener Form an andere Nervenzellen anlagern und sie umspinnen. Damit war die morphologische Grundlage der Reizübertragung von der Nervenfasern auf andere Nervenzellen gefunden. Cajal spezialisierte seine Untersuchungen nun mehr und mehr auf das Zentralnervensystem. 1894 gab er darüber sein erstes zusammenfassendes Werk heraus; es erschien in Paris unter dem Titel: «Les nouvelles idées sur la fine anatomie des centres nerveux». 1897 bis 1904 folgte in drei Bänden die spanische Ausgabe einer «Histologie des Nervensystemes des Menschen und der Wirbeltiere». (Spanischer Titel: «Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados».)

Neue und bald noch verbesserte Methoden brachten eine reiche Ernte wichtiger Ergebnisse, die vor allem in einem Werk niedergelegt sind, dessen deutscher Titel lautet: «Studien über die Hirnrinde des Menschen» (1900) (s. Abb. S. 3105). Die Bedeutung der Silberimprägnationsmethoden für die Forschung wird auch dadurch bestätigt, daß Camillo Golgi und Santiago Ramón y Cajal zusammen im Jahre 1906 den Nobelpreis für Physiologie und Medizin erhielten; sie sind bisher die ein-

Golgis «Binnennetz» im Flachschnitt durch eine Nervenzelle aus dem Ganglion spinale eines Pferdes. Nach C. Golgi: Di nuovo sulla struttura delle cellule nervose ... Pavia 1899.





Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), Nobelpreisträger 1906, zuletzt Professor der Histologie in Madrid. Seine Arbeiten über den zellulären Aufbau des Zentralnervensystems waren wegweisend. Bildsammlung Prof. C. Wegelin, Bern.

zigen Anatomen, deren Leistungen auf diese Weise anerkannt wurden. Die Einzelheiten des weiteren Ausbaues der Silberimprägnationsmethoden seien hier aus Raummangel übergangen, dagegen sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die Versilberung keineswegs

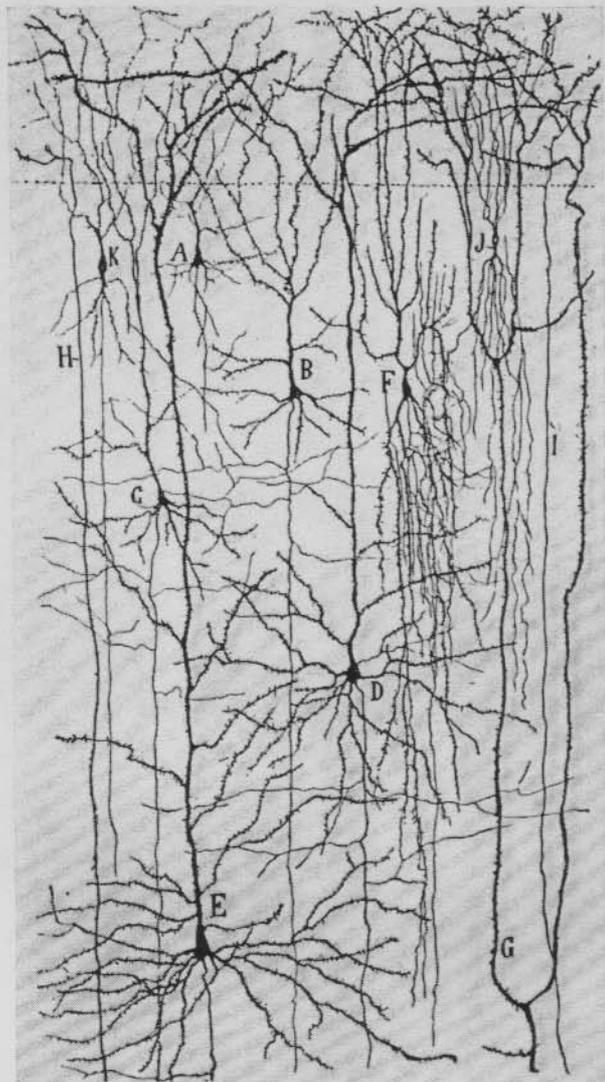
nur bei Untersuchungen des Nervensystems zu verwenden ist. Eine großangelegte und ergebnisreiche Arbeit neueren Datums unter Verwendung der Versilberungsmethode auf einem anderen Gebiete ist z. B. die des früheren Berner Histologen K. W. Zimmermann

(1861–1935) über den feineren Bau der Blutkapillaren (1923, siehe Abbildung Seite 3102).

Auch die Imprägnation mit Goldsalzen ist nicht ausschließlich auf das Nervengewebe beschränkt. Cohnheim benutzte 1866 als erster Goldchlorid zur Darstellung der Nervenendigungen; er verwendete es in der auch für das Silbernitrat üblichen Weise. Arnold brauchte ein Jahr später Goldchloridkalium; mit seiner Methode gelangen Gerlach besonders schöne Präparate der Nervenfibrillen. Er gab sie in einem Artikel «Von dem Rückenmark» in Strickers «Handbuch der Lehre von den Geweben» (1871) wieder. Es mag genügen, noch zwei klassische Werke anzuführen, um den Wert auch dieser Imprägnationsart hervorzuheben: Paul Flechsig benutzte sie zu Studien für sein 1876 erschienenes Buch «Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen», und Louis A. Ranvier empfahl sie 1878 in seinen «Leçons sur l'histologie du système nerveux».

Eine andere auch heute noch gebräuchliche Imprägnationsmethode beruht auf der Behandlung der Gewebe mit Osmiumsäureanhydrid. Max Schultze (1825–1874) gab 1865 eine erste Beschreibung der durch Reduktion der Osmiumsäure entstehenden Schwärzungen; zu diesen Untersuchungen war er durch den Zoologen F. E. Schulze in Rostock angeregt worden. Die Methode ist besonders geeignet zur Darstellung der Verteilung feinsten Mengen von Fetten und Lipoiden, vor allem ist sie für die Unterscheidung markhaltiger und markloser Nervenfasern häufig benützt worden. Wie im Jahre 1902 von Friedrich Kopsch nachgewiesen wurde, läßt sich durch Osmierung auch eine vier Jahre vorher von Camillo Golgi zuerst beschriebene Zellstruktur, das Binnennetz, darstellen (siehe Abbildung Seite 3103).

Da man schon früh erkannt hatte, daß die Osmiumsäure Gewebe, die gegen Reagenzien



Darstellung von drei Schichten der vorderen Zentralwindung eines kindlichen Gehirnes. Das Bild zeigt die verschiedenen Zelltypen. Nach Santiago Ramón y Cajal, «Studien über die Hirnrinde des Menschen», 2. Heft, 1900.

sehr empfindlich sind, gut konserviert, so wurde sie bald als Fixationsmittel, zumeist in Gemischen, z. B. der Flemmingschen Flüssigkeit, verwendet. Die Osmiumsäure dringt aber nur schwer in das Gewebe ein, deshalb eignet sie sich als Fixierungsmittel nur für kleine Objekte.

Angina pectoris:

Prophylaktisch und therapeutisch

Spasmo-Cibalgin-Suppositorien