

Die Färbung der Markscheiden und das Ranson-sche Verfahren bei der Untersuchung peripherischer Nervenfasern

von Dr. P. BACSICH, Assistent.

Bei den Untersuchungen am peripherischen Nervensystem ist es u. a. auch sehr wichtig zu entscheiden, wie sich die Zahl der marklosen zu jener der markhaltigen Fasern bei den einzelnen Nerven verhalte.

Zu diesem Zwecke verwendeten die einzelnen Autoren verschiedene Verfahren. Die einen zogen die Färbung der Markscheiden vor, andere versuchten durch Färbung des Axons selbst, die Frage zu lösen.

Bei den ausgedehnten Versuchen, die in unserem Institute auf dem Gebiete des peripherischen Nervensystems ausgeführt worden sind (KISS, GELLÉRT, BOTÁR, BOROS), gebrauchten wir die Osmium-Methode und die Weigert'sche-Markscheidenfärbung, beide in der von uns zur Unterscheidung der marklosen von den markhaltigen Fasern modifizierten Form (KISS 1932, GELLÉRT-BACSICH 1932). Diese Verfahren, deren Durchführung außerordentlich einfach und zuverlässig ist, unterscheiden nicht nur die markhaltigen und die marklosen Fasern voneinander, sondern zeigen auch sehr deutlich das Verhältnis zwischen Fasern mit dicker und dünner Markscheide. Mit Hilfe dieser Methoden gelang es uns über die prozentischen Mengenverhältnisse der verschiedenen Fasern in den peripherischen Nerven ein genaues Bild zu erhalten.

Über die Brauchbarkeit der Markscheidenfärbungsmethoden in diesem Sinne sind RANSON und seine Mitarbeiter anderer Meinung. Ihrer Auffassung nach sind die Verfahren die der Untersuchung der Markscheiden dienen, weder in bezug auf das Vorkommen von marklosen Fasern, noch auf deren prozentische Verteilung zu verwerten. Aus diesem Grunde bedienten sie sich bei ihren Untersuchungen des von RANSON empfohlene Pyridin-

Silberverfahrens, welches eine Modification der Cajal-schen Imprägnation darstellt.

Die von der RANSON-schen Schule erwähnten Vorteile dieses Verfahrens lassen sich in folgendem kurz zusammenfassen: Das Verfahren ist specifisch für marklose Fasern, welche durch ihre dunkelbraune Färbung leicht von den hellgelben Axonen der markhaltigen Fasern zu unterscheiden sind. Die Axonen der Fasern mit Markscheide sind nebenbei mit einem hellen, der Markscheide entsprechenden Hofe (halo) umgeben. Dieses Verfahren ist in bezug auf die marklosen Fasern verlässlicher, als die Markscheidenfärbungen, denn es läßt die Markscheiden auch in jenen Nerven erscheinen, in denen mit dem letzteren Verfahren solche garnicht oder nur in geringerer Anzahl darstellbar sind.

Der Gegensatz, der zwischen den beiden Richtungen besteht, gab uns die Anregung, den mikrotechnischen Wert des RANSON-schen Verfahrens nachzuprüfen.

1. In erster Linie wollten wir uns davon überzeugen, ob die RANSON-sche Methode tatsächlich als für die Axonen specifisch anzusprechen sei. Dies hielten wir für unumgänglich notwendig, da die Zahl der marklosen Fasern in den von RANSON ausgearbeiteten Präparaten uns in vielen Fällen als unglaublich groß erschienen war, ein Umstand, der leicht den Verdacht aufkommen ließ, daß sich ev. auch Bindegewebsfasern mitgefärbt haben. Um dies zu untersuchen behandelten wir zusammen mit dem Nervenmaterial kleine Stückchen von Fascien und Bindegewebe. Diese Versuche führten in jedem Falle zu einem negativen Ergebnis. Das Bindegewebe zeigte bloß eine homogene, schwachgelbe Färbung.

Es darf also als erwiesen gelten, daß die RANSON-sche Methode für die Darstellung der Axonen specifisch ist. Die Bindegewebsfasern — auch die zwischen den Nervenfasern eingelagerten —, werden dabei nicht gefärbt.

2. Wir untersuchten nun weiter, ob diese Methode etwa auch für die marklosen Fasern specifisch sei, d. h. ob sich diese braun färben, während die Axonen der markhaltigen Fasern hell bleiben. Zur Kontrolle untersuchten wir entweder einen Teil aus der nächsten Nähe des nach RANSON behandelten Materials, oder die entsprechende Gegend der anderen Seite des Tieres nach dem KISS-schen prolongierten Osmiumverfahren.

Sowohl das Osmiumverfahren, wie die Silberbehandlung wurden zu gleicher Zeit an mehreren Nerven desselben Tieres ausgeführt. Dadurch erreichten wir, daß uns eine größere Anzahl von Präparaten zum einwandfreien Vergleich der Ergebnisse zur Verfügung stand.

Wie aus dem Folgenden zu ersehen ist, sind die Ergebnisse recht verschieden:

a) Es fanden sich Präparate, allerdings nur in geringer Zahl, die sekundäre Nervenbündel enthalten, in denen sich in Übereinstimmung mit den Kontrollen tatsächlich nur die marklosen Fasern dunkel färbten. Wir müssen aber betonen, daß nur einzelne Teile der Präparate als gut gelungen zu bezeichnen sind.

b) In einer großen Anzahl von Präparaten färbten sich auch die Axonen mit dünner Markscheide dunkelbraun. Dies war die häufigste Erscheinung. Daß diese Färbung tatsächlich zustande gekommen war, konnte aus den Kontrollpräparaten und den oft deutlich sichtbaren Markscheidenhöfen (halo) nachgewiesen werden.

c) Einzelne Präparate zeigten dieselbe Braunfärbung der marklosen Fasern und auch der Axonen der markhaltigen Fasern.

d) Endlich fanden wir auch Präparate, in denen sämtliche Axonen nur eine schwach gelbe Färbung aufwiesen, obwohl in den untersuchten Nerven (z. B. Trunc. Symp.) zweifellos marklose Fasern vorhanden waren.

Auf Grund dieser Ergebnisse konnten wir die RANSON'sche Methode schon wegen ihrer Labilität und Unsicherheit nicht als spezifisch für die marklosen Fasern ansprechen. Die Labilität seiner Methode gibt auch RANSON selbst zu, indem er schreibt, daß sich manche Axonen mit dünner Markscheide aus irgendeinem unbekanntem Grunde dunkel färben. WINDLE (1926) untersuchte den N. trigeminus der Katze und schreibt, daß seine Präparate nicht alle einwandfrei waren, weshalb er gezwungen war, zur Vervollkommung seiner Präparatenreihe, mehrere Tiere zu verwenden.

Wir wollen auch an dieser Stelle Herrn Professor RANSON für die Präparate, die er uns aus seinem Institute freundlichst zusandte, unseren Dank aussprechen. In diesen Präparaten (N.

saphenus der Katze) sind tatsächlich dunkel gefärbte Axonengruppen zu sehen, in deren Umgebung keine Spur von Markscheiden zu finden ist.

3. Wenn wir uns die Frage vorlegen, was RANSON dazu bewog, zu behaupten, daß die Markscheidenfärbungsmethoden zur Untersuchung von marklosen Fasern nicht brauchbar sind, so müssen wir den Grund dafür zum großen Teil in der falschen Technik suchen. Während der gebräuchlichen kurzen Osmiumbehandlung (1—3 Tage) färben sich die dünnsten Markscheiden entweder überhaupt nicht, oder nur so schwach, daß sich ihr Gehalt an metallischem Osmium schon während der Einbettung herauslöst. Dies kann der Grund dafür sein, daß RANSON und DAVENPORT in einzelnen Nerven bedeutend mehr marklose Fasern nachgewiesen haben, als zu erwarten war. Sie zählten wahrscheinlich eine große Anzahl von Fasern mit dünner Markscheide mit, da diese auf den schwachen Osmiumpräparaten nicht zu sehen waren. Dies war umso leichter, da bekannt ist, daß der den Markscheiden entsprechende helle Hof (halo) in vielen Fällen aus den nach RANSON angefertigten Präparaten verschwindet. Der Grund dafür ist die Schrumpfung, die einerseits durch die Silberimprägnation und andererseits durch die Paraffineinbettung verursacht wird.

Bei unserer prolongierten Osmiummethode, bei der das Osmium 6—8 Tage lang einwirkt, färben sich auch die Markscheiden der feinsten Fasern so intensiv, daß das metallische Osmium während der Einbettung nicht herausgelöst werden kann. In diesen Präparaten sind auch die feinsten Markscheiden sehr deutlich zu erkennen.

Zweifellos sind die von RANSON und seinen Schülern zur Kontrolle gebrauchten primär osmierten Präparate infolge ihrer durch das Paraffin hervorgerufenen Schrumpfung nicht mit den Präparaten zu vergleichen, die wir mit der prolongierten Osmiummethode und nach Doppeleinbettung, durch Überfärben mit Essigsäure-Eosin erhielten. In unseren Präparaten sind nämlich neben den schwarz gefärbten Markscheiden, in dem dunkel-rosafarbenen Bindegewebe auch die marklosen Fasern in Form heller Felder einwandfrei zu sehen.

Auf Grund dieser Erwägungen müssen wir die RANSON-

sche Methode einesteils wegen ihrer Umständlichkeit und Unverläßlichkeit, andernteils weil die Frage durch eine richtige Osmium (KISS 1932) und Weigert-sche (GELLÉRT-BACSICH 1932) Technik vollständig gelöst werden kann, für unsere Zwecke als nicht entsprechend betrachten.

Unseres Er. steht die RANSON-sche Methode nicht über den anderen Methoden mit denen wir die Axonenfärbung vornehmen. Sie steht mit ihnen auf vollkommen gleicher Stufe. Ihre Anwendung erleichtert, wie jede andere Axonenfärbungsmethode, die Feststellung der genauen Zahl von marklosen Fasern. Die von RANSON und DAVENPORT (1931) erwähnte Fasernzählung ist richtig so zu verstehen, daß aus der Zahl der gefärbten Axonen jene Zahl der Markscheiden zu subtrahieren ist, die sich im prolongierten Osmiumpräparat des gleichen Nerven ergab. Die Differenz zwischen den beiden Zahlen ergibt einwandfrei die genaue Anzahl der marklosen Fasern.

Zusammenfassung.

1. Die RANSON-sche Pyridin-Silbermethode färbt die Axonen.
2. Die RANSON-sche Methode ist für die marklosen Fasern nicht spezifisch, da meist auch die Fasern mit dünner Markscheide dunkel gefärbt werden.
3. Die RANSON-sche Methode steht nicht über den anderen Axon-Färbungsverfahren, sondern ist diesen gleichwertig.

Literatur.

- Bacsich, P.:* 1932. Theoretische und praktische Beiträge zur Untersuchung der Zellen der peripherischen Ganglien. Siehe dieser Bd. S. 27.
- Davenport, H. A.—Ranson, S. W.:* 1931. Rations of cells to fibers and of myelinated to unmyelinated fibers in spinal nerve-roots. *Am. Jour. Anat.*, vol. 49. No. 2. S. 193.
- Gellért, A.—Bacsich, P.:* 1932. Neuere Ergebnisse und Erwägungen zur Theorie und Technik der Weigert-schen Markscheidenfärbung. Siehe dieser Bd. S. 243.
- Kiss, F.:* 1932. The sympathetic elements of the cranial and spinal ganglia. *Journ. of Anatomy.*
- 1932. Die sympatischen Elemente der Kränialen und Spinalen Ganglien. Siehe dieser Bd. S. 13.

Krause, R.: 1927. Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. Bd. III. S. 1619. und S. 2090.

Ranson, S. W.: 1909. Alterations in the spinal ganglion cells following neurotomy. *J. Comp. Neurol and Psychol.*, vol. 19. S. 125.

— 1909. A preliminary note on the non-medullated nerve-fibers in the spinal nerves. *Anat. Rec.* vol. 3. No. 5. S. 291.

— 1911. Non-medullated nerve fibers in the spinal nerves. *Am. Jour. Anat.*, vol. 12. S. 67.

Ranson, S. W.—Davenport, H. K.: 1931. Sensory unmyelinated fibers in the spinal nerves. *Am. Jour. Anat.*, vol. 48. No. 2. S. 331.

Romeis, B.: 1928. Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 12. Auflage.

Windle, W. F.: 1926. The distribution and probable significance of unmyelinated nerve-fibers in the trigeminal nerve of the cat. *Jour. Comp. Neur.*, vol. 41. S. 453.
