Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Classe

der

k. b. Akademie der Wissenschaften

zu München.

Band XIX. Jahrgang 1889.

München.
Verlag der K. Akademie.
1890.

In Commission bei G. Franz.

Sitzung vom 4. Mai 1889.

1. Herr N. RÜDINGER legt in Verhinderung des Herrn C. KUPFFER eine von dem correspondirenden Mitgliede, Herrn J. v. GERLACH in Erlangen, eingesandte Abhandlung: „über die Einwirkung des Methylenblaus auf die Muskelnerven des lebenden Frosches" vor. (Mit Tafel I.)

2. Herr N. RÜDINGER spricht: „über die Bildung der primären und sekundären Augenblase bei Triton alpestris". (Mit Tafel II.)

3. Herr FRANZ HESSLER liest eine Studie: „generelle Uebersicht der Heilmittel in dem Áyurvéda des Súsrutas."

4. Herr E. LOMMEL legt vor und bespricht eine von dem correspondirenden Mitgliede, Herrn OSKAR EMIL MEYER in Breslau, übersandte Untersuchung: „über Gebirgsmagnetismus".

Ueber die Einwirkung des Methylenblaus auf die Muskelnerven des lebenden Frosches

von J. v. Gerlach.

(Mit Tafel I.)

(Eingelaufen 4. Mai.)

In dem Laufe des verflossenen Sommers hatten wir uns in Erlangen des Besuches von Herrn Professor Gustav Retzius zu erfreuen. Derselbe sprach sich ausserordentlich günstig über die Erfolge der Ehrlich'schen Methylenmethode[1]) für die Untersuchung des peripheren Verhaltens

1) P. Ehrlich, Ueber die Methylenblaureaction der lebenden Nervensubstanz. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 4. 1886.

der Nerven aus und hatte die Freundlichkeit, diese Methode an einem Frosche und einem Kaninchen zu zeigen. Ich muss bekennen, dass ich bei dem Bekanntwerden der Methylenmethode nicht sehr viel von derselben erwartete, um so mehr war ich darüber erstaunt über das, was Herr Retzius mit derselben erzielte. Besonders überraschten mich Präparate aus der Retina des mit Methylenblau injicirten Kaninchens, an welchen nicht nur die Nervenfaser- und Nervenzellenschichte ungemein deutlich hervortraten, sondern auch in der inneren granulirten Lage das hier schon lang supponirte aus den protoplasmatischen Fortsätzen der Nervenzellen hervorgehende Nervenfasernetz auf das Evidendeste zu sehen war, dessen vielfach versuchte Darstellung mir mit der Goldmethode früher nie gelingen wollte. Dadurch wurde bei mir der Wunsch rege, diese treffliche Methode auch für die Erforschung der terminalen Verhältnisse der motorischen Nerven in den willkürlichen Muskeln zu verwerthen. Dabei hatte ich mich der regen Beihülfe des Assistenten des anatomischen Institutes Privatdocenten Dr. Hermann zu erfreuen, dessen kunstfertiger Hand auch die beiliegenden Abbildungen zu danken sind.

Die Flüssigkeit, welche dem lebenden Thiere eingespritzt wurde, enthielt auf 1 Theil Methylenblau 400 Theile der physiologischen Kochsalzlösung (1 Theil Kochsalz auf 100 Theile destillirten Wassers.) Die Injection geschah theils von der grossen Bauchvene, theils von der Aorta des Frosches aus, und wurde entweder mit kleinen Spritzen oder unter constantem Druck vorgenommen. Dabei stellte es sich alsbald heraus, dass die verschiedenen Arten der Injection keinen Einfluss auf die bei den Nerven sichtlichen Färbungserscheinungen ausüben. Am einfachsten ist es, einen ätherisirten Frosch nach medialer Durchschneidung des Sternums von der Aorta aus zu injiciren. Nur muss die blaue Flüssigkeit in etwas reichlicher Menge eingespritzt werden und zwar so

lange, bis die Zunge anfängt, sich zu färben, was gewöhnlich nur stellenweise geschieht. Vier bis fünf Centimeter Flüssigkeit genügen für einen Frosch mittlerer Grösse. Nimmt man mehr, so erfolgt Transudation in die grossen subcutanen Lymphräume, wobei aber eine chemische Veränderung mit der Injectionsflüssigkeit vorgeht, in Folge deren die Flüssigkeit nicht mehr intensiv himmelblau, sondern viel heller und grünlich missfärbig erscheint.

Nicht alle Muskeln des Frosches sind gleich empfänglich für die auf die Nerven und deren terminale Ausläufer beschränkte Aufnahme von Methylenblau. Während die Muskeln der Extremitäten und der Bauchwand häufig entweder farblos oder diffus gefärbt nach der Injection gefunden werden, erhält man gute Bilder in der Regel an den Kopfmuskeln und besonders an jenen des Augapfels.

Die mikroskopische Untersuchung der Methylenpräparate wird dadurch erschwert, dass dieselben nicht mit Wasser oder sonstigen Flüssigkeiten befeuchtet werden dürfen, sondern nur in dem Gewebesaft selbst beobachtet werden können, wodurch die Isolirung der einzelnen Muskelfäden nur ausnahmsweise gelingt. Es ist zwar möglich, Dauerpräparate mit pikrinsaurem Ammoniak, welches nach der Methode von Cuccati bereitet ist, und Glycerinleim herzustellen; doch verlieren dieselben durch die Farbenveränderung, welche sie erleiden, und die minder scharfe Zeichnung gegenüber jenen, welche ohne Verwendung einer Zusatzflüssigkeit untersucht werden.

Schon die Injection des ersten Frosches mit Methylenblau ergab ganz das gleiche Bild rücksichtlich der Verhältnisse der terminalen Nerven zu der quergestreiften Substanz der Muskelfäden, welches ich früher[1]) in den Fällen

1) Verhältniss der Nerven zu den willkürlichen Muskeln der Wirbelthiere. Leipzig. Verlag von F. C. W. Vogel 1874.

erhalten hatte, in welchen die Goldmethode von günstigem Erfolge begleitet war. Der einzige Unterschied bestand darin, dass bei der Methylenmethode die Farbennuance schön himmelblau, bei der Goldmethode dagegen tief carmoisinroth war. Die nach beiden Methoden hergestellten Präparate liessen mit gleicher Deutlichkeit die innerhalb des Sarkolemmas befindlichen, von mir intravaginale Nervenplexus genannte netzförmige Verbreitung der zu einem Muskelfaden tretenden Achsenfaser und deren Zusammenhang mit jener den ganzen Muskelfaden durchziehenden Granularformation, die ich früher als Sprenkelung des Muskelfadens bezeichnet hatte, auf das Evidenteste erkennen. Es scheint mir durch die genaue Uebereinstimmung der durch beide Methoden gewonnenen Präparate der sichere Beweis geliefert, dass die Ansicht, welche ich bereits in meiner ersten Veröffentlichung [1]) über das Verhalten der Nerven zu den quergestreiften Muskelfäden der Wirbelthiere ausgesprochen habe, die einzig richtige ist. Die Beziehungen der Achsenfasern der Nerven zu der quergestreiften Muskelsubstanz lassen sich an ganz frischen Muskeln ohne Behandlung mit färbenden Substanzen nicht erfassen. Die feinsten Ausläufer der Achsenfasern und die mit denselben in Verbindung stehenden Sprenkelungen der quergestreiften contractilen Substanz sind eben auch unter Zuhülfenahme der besten optischen Hülfsmittel, welche die Gegenwart bietet, für das menschliche Auge unerkennbar. Hier kann unsere Kenntniss nur fortschreiten durch Verwerthung chemischer Anziehungen, welche gewisse feinste Bestandtheile des thierischen Körpers zu anorganischen oder organischen Substanzen haben, die sich durch Farbendifferenzen kund geben. Darin liegt die hohe Bedeutung der färbenden Methode, welche die massgebende der modernen Histologie

1) Ueber das Verhalten der Nerven zu den quergestreiften Muskelfäden der Wirbelthiere in den Sitzungsberichten der physicalisch-medicinischen Societät zu Erlangen. Jahrgang 1873.

geworden ist. Während aber bei der Goldmethode, deren färbende Wirkung darin beruht, dass in einer gewissen und wie es scheint kurz andauernden Periode des Absterbens die nervösen Gebilde die Fähigkeit haben, die in sehr verdünnter Lösung angewandten Goldsalze zu reduciren und dadurch die Färbung der nervösen Substanz bedingen, der Erfolg der Färbung nicht immer der gleiche ist, besteht der grosse Vorzug der Methylenmethode darin, dass die Färbung während des Lebens erfolgt, womit der Vorwurf, den man der Goldmethode machen könnte, dass ihre Ergebnisse als postmortale Kunstproducte anzusehen seien, vollkommen ausgeschlossen ist.

Die übereinstimmenden Resultate beider Methoden werden daher auch die Entscheidung über die Frage bringen, ob es in den Muskelfäden eigene Endorgane giebt, die sogenannten motorischen Endplatten, oder ob das, was man als solche bezeichnet, nur durch Theilungen der das Sarkolemma durchsetzenden Achsenfasern entstandene intravaginale Nervenplexus sind, deren feinste Endverzweigungen in nähere Beziehungen zu der quergestreiften contractilen Substanz treten. Die erstere Ansicht, welche von Kühne[1]) begründet und bis in die neueste Zeit gegen alle Einwände vertheidigt wurde, ist in den letzten zehn Jahren die allgemein herrschende geworden und sowohl in die anatomischen, wie histologischen Lehrbücher übergegangen. Die zweite Ansicht wurde zuerst von Margo[2]) aufgestellt, dessen Arbeit kurz vor der bereits citirten Hauptschrift von Kühne erschien. Margo lässt die Achsencylinder der motorischen Nervenfasern innerhalb des Sarkolemmas sich vielfach theilen und aus deren Endverästelungen schliesslich sehr feine blasse Fäden hervorgehen, die in kurzen Entfernungen zu kleinen Körnern an-

1) Ueber die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig 1862.

2) Ueber die Endigung der Nerven in der quergestreiften Muskelsubstanz. Pest 1862.

schwellen (Margo's Kornfasern) und mit einem grossen Theile der Muskelkörperchen in Verbindung treten. Die Kornfasern bilden ein den ganzen Muskelfaden durchziehendes Netzwerk, dessen Lücken durch die quergestreifte Muskelsubstanz ausgefüllt werden. Die Darstellung Margo's rücksichtlich des Verhältnisses der motorischen Nervenfasern zu den quergestreiften Muskelfäden wurde jedoch wenig beachtet und fand in einer Periode, in der die motorischen Endplatten die Muskel-Nervenfrage gänzlich beherrschten, keine besonders günstige Beurtheilung. Und doch sind die Angaben Margo's in ihren wesentlichen Puncten richtig und erhalten durch die Methylenmethode eine glänzende Bestätigung.

Das was Margo als Verästelung der in die Sarkolemmahülle eintretenden Achsenfaser beschreibt, ist nichts anderes, als jenes Nervennetz, welches ich als intravaginales bezeichnet habe. Die kleinen Körner Margo's entsprechen dem, was ich Sprenkelung der quergestreiften Muskelsubstanz nannte und dass diese Körner unter der Einwirkung verdünnter Säuren, namentlich der Salzsäure zu Fasern zusammentreten, mit welcher die feinsten Ausläufer des intravaginalen Nervennetzes in continuirlicher Verbindung stehen, habe ich bereits 1877 nachgewiesen.[1]) Auch für die Angabe Margo's, dass feine Ausläufer der Achsenfasern mit den zelligen Bestandtheilen der contractilen Substanz mit den Muskelkörperchen zusammenhängen, sprechen die Ergebnisse der auch in diesem Punkte übereinstimmenden Gold- und Methylenmethode, wozu Fig. 1 und 5 der zuletzt citirten (Goldmethode) und Figur 2 der vorliegenden Abhandlung (Methylenmethode) die überzeugenden Belege liefern.

Wie haben wir uns nun die Beziehungen der nervösen

1) Archiv für mikroskopische Anatomie Band XIII. Pag. 399. Taf. XXVII in Fig. 5 für den Frosch und in Fig. 6 für die Eidechse.

zu der contractilen Substanz in den Muskelfäden vorzustellen. Hier möchte ich zuerst an das Sarkoplasma erinnern, ein Name, der zuerst von Rollet in die Histologie eingeführt wurde, um damit das, was man früher Muskelkerne, später (M. Schultze) Muskelzellen oder Muskelkörperchen und deren Fortsetzungen nannte, zu bezeichnen. Schon ohne Anwendung von färbenden Methoden sieht man an den beiden Polen der ovalen Muskelkörperchen, die aus einem von einer geringen Menge von Protoplasma umgebenen Kerne bestehen, feinkörnige protoplasmatische Fortsätze abgehen, welche sich verschieden weit in die contractile Muskelsubstanz erstrecken. Durch die Gold- wie die Methylenmethode gelingt es nun, das Sarkoplasma weiter zu verfolgen und zwar erscheint dasselbe zunächst unter der Form von punktförmigen kurzen Strichen, welche Margo als Körner, ich als Sprenkelung bezeichnete. Diese verbinden sich linienartig, was an Methylenpräparaten alsbald, an Goldpräparaten aber erst nach längerer Behandlung mit verdünnter Salzsäure eintritt. An dem Muskelfaden werden dann äusserst feine blaue (Methylen) oder carmoisinrothe (Gold) Streifen sichtbar, welche durchschnittlich 3 μ von einander entfernt liegen. Aus der Untersuchung des Querschnittes vergoldeter und mit verdünnter Salzsäure behandelter Muskelfäden ergiebt sich,[1]) dass diese Längsstreifen keine einfachen Linien, sondern Hülsen sind, da an dem Querschnitt jene eigenthümliche netzförmige Zeichnung auftritt, deren von dem carmoisinrothen vergoldeten Netze umgebenen polygonalen gegen 3 μ breiten lichten Stellen schon lange unter dem Namen der Cohnheim'schen Felder der Muskelfäden bekannt sind. Diese lichten Stellen können kaum etwas anderes sein, als die contractile quergestreifte Substanz des Muskels, welche von einem sarkoplasmatischen Mantel um-

1) Vergl. Fig. 2 meiner zuletzt citirten Abhandlung.

geben ist. In diese Mantelröhren sind stellenweise Zellenkerne eingefügt, deren Protoplasma in den Mantelröhren selbst gegeben ist.

Da nun das sarkoplasmatische Gerüste des Muskelfadens, wenn ich es so nennen darf, mit den Endverzweigungen des intravaginalen Nervennetzes in directer Verbindung steht, was sich sowohl aus unmittelbarer Beobachtung, wie auch daraus ergiebt, dass sich dasselbe gegen Gold wie Methylen ganz so verhält, wie gegen Nervensubstanz, d. h. gegen Achsenfasern, so haben wir in demselben eine ganz eigenthümlich gestaltete nervöse Formation zu sehen, die eine entfernte Analogie in dem nervösen centralen Fasernetze findet, das ja auch aus einem Netzwerk protoplasmatischer Fortsätze unterbrochen durch grössere oder kleinere Nervenzellen besteht. Eine ganz entfernte Aehnlichkeit mit den geschilderten Verhältnissen bietet in dem peripheren Nervensystem vielleicht die Retina dar. Das intravaginale Nervennetz entspräche bei diesem Vergleiche der Nervenfaserschichte der Retina und das sarkoplasmatische Gerüste mit den interponirten Zellen fände seine Analogie in den Nervenzellen — der und inneren granulirten Lage der Netzhaut.

Wie in dem Bereiche der sensiblen und secretorischen Nerven es von jeher als ein nothwendiges Postulat der Physiologie gefühlt wurde, dass die terminalen Verästelungen dieser Nerven in einem Continuitätsverband mit den percipirenden oder secretorischen Endorganen stehen und die schönsten Leistungen der modernen Histologie darin gipfeln, diesen Zusammenhang bei dem grössten Theile der hier in Betracht kommenden Nerven nachgewiesen zu haben, so ist in ähnlicher Weise auch der Zusammenhang zwischen Nerv und contractiler Muskelsubsanz ein physiologisches Desiderat. Ich habe daher schon in meiner grösseren Arbeit über die Muskel-Nervenfrage die Hypothese aufgestellt, dass ein Zusammenhang zwischen dem nervösen und contractilen

Theil der quergestreiften Muskelsubstanz vorhanden sein möge und zwar dachte ich zunächst an eine Verbindung der letzten Nervenendigungen mit dem einfach brechenden Theile des Sarkolemmainhaltes, wozu mich hauptsächlich das gleichartige Verhalten beider in physicalisch optischem Sinne veranlasste. Die uns bis jetzt zugänglichen histologischen Methoden, sowie die grosse Vervollkommnung der neuen Mikroskope von Zeiss erlauben jedoch noch nicht für diese Hypothese eine positive Grundlage zu finden. Allein soviel kann als sichergestellt betrachtet werden, dass die sogenannten motorischen Endplatten nicht das letzte Ende der Muskelnerven darstellen und dass in Folge der positiven Ergebnisse der histologischen Forschung die Physiologie mit dem Gedanken sich befreunden muss, dass überall da, wo in dem Muskelfaden contractile Substanz vorhanden ist, auch nervöse Bestandtheile sich vorfinden.

Wenn auch dem von mir geschilderten Verhalten der Nerven in den quergestreiften Muskelfäden hauptsächlich Beobachtungen am Frosche zu Grunde liegen, so ist doch kaum zu bezweifeln, dass von kleinen Modificationen abgesehen, in dem Wesentlichen die gleichen Verhältnisse sich in allen Klassen der Wirbelthiere wiederholen. Bei den den Amphibien nahe stehenden Reptilien besitzen die intravaginalen Nervenplexus eine viel geringere Ausdehnung, sind mehr kreis- oder eigentlich kugelförmig, an die Malpighi'schen Gefässkörper der Niere erinnernd, und aus diesem Grunde werden die Muskeln der Reptilien als besonders beweisend für die Existenz der motorischen Endplatten aufgeführt; allein auch hier zeigen mit günstigem Erfolge vergoldete Präparate, dass von den kugelförmig gestalteten Nervenplexus nach allen Richtungen feine Fädchen abgehen [1]), welche mit den sarkoplasmatischen Längsstreifen in directem Zu-

1) Vergl. Fig. 6. Taf. XXVII meiner Abhandlung in dem Archiv für mikroskop. Anatomie.

sammenhang stehen. Bei den Säugern (Fig. 4) sind die Theilungen der durch das Sarkolemma tretenden Achsenfaser in den intravaginalen Nervenplexus weniger zahlreich und die letzten Ausläufer länger als bei dem Frosch, zeigen aber sonst ganz das gleiche Verhalten zu den sarkoplasmatischen Längsstreifen. Bei den Wirbellosen ergab die Methylenmethode ziemlich die gleichen Resultate, wie bei den Wirbelthieren; wenigstens stimmt die Fig. 12 von Biedermann[1]), welche seiner Abhandlung über die feineren Verhältnisse der motorischen Nerven unter Anwendung der Methylenmethode beigegeben ist, fast ganz mit dem überein, was ich bei dem Frosche beobachtet habe. Etwas anderes scheinen die Verhältnisse bei den Insekten zu liegen. Hier finden sich die schon 1840 von Doyère aufgefundenen Nervenhügel, welche aber von dem, was man später motorische Endplatten nannte, durchaus verschieden sind. Da für die Muskeln der Insekten die Gold- wie die Methylenmethode, durch welche allein die terminalen Beziehungen der motorischen Nerven der directen Beobachtung zugänglich gemacht werden können, weniger verwendbar ist, so sind dieselben nicht als geeignete Objecte anzusehen, welche bei Untersuchungen über das Verhältniss der Nerven zu der contractilen Muskel-Substanz besondere Vortheile versprechen.

1) W. Biedermann, Zur Kenntniss der Nerven und Nervenendigungen in den quergestreiften Muskeln der Wirbellosen (Flusskrebs) Taf. II, Fig. 12 in den Sitzungsberichten der Wiener Akad. der Wissensch. Math. naturw. Classe Bd. XCVI. 3. Abtheil. Pag. 9.

Figurenerklärung (Tafel I.)

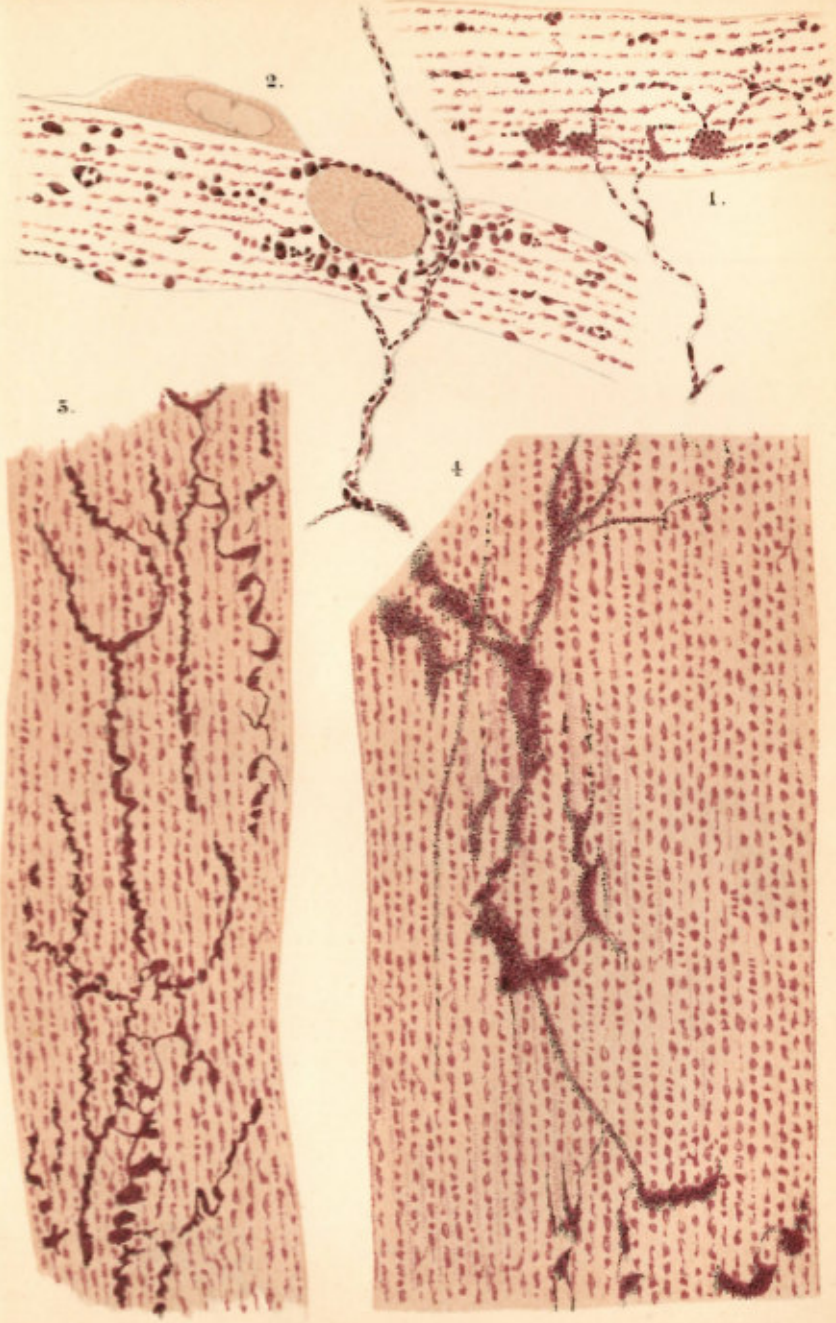
Fig. 1. Muskelfaden aus den Augenmuskeln des Frosches nach Methylenblauinjection fixirt durch zweistündige Behandlung mit picrinsaurem Ammoniak, dargestellt nach der Vorschrift von Cuccati, conservirt in Glycerinleim. Durch die Einwirkung des picrinsauren Ammoniaks ist die Nervensubstanz bereits röthlich, die sarkoplasmatischen Längsstreifen sind dagegen theilweise noch bläulich gefärbt.

Fig. 2. Das gleiche Präparat etwas länger mit picrinsaurem Ammoniak behandelt. Es sind hier sowohl die Nervenfasern, wie die sarkoplasmatischen Längsstreifen röthlich gefärbt. Besonders scharf tritt hier die Verbindung einer feinsten Nervenfaser mit einer Muskelzelle in Sicht.

Fig. 3. Muskelfaden des Frosches nach besonders günstiger Einwirkung von Goldchloridkalium. Der intravaginale Nervenplexus erscheint tief carmoisinroth gefärbt und die feinsten Ausläufer desselben stehen in Verbindung mit den minder intensiv carmoisinroth gefärbten sarkoplasmatischen Längsstreifen.

Fig. 4. Muskelfaden des Hundes durch Goldchloridkalium mit günstigem Erfolge gefärbt. Der intravaginale Nervenplexus ist nicht in seiner Totalität, sondern nur theilweise sichtbar. Die Verbindung seiner feinsten Ausläufer mit den lichter gefärbten sarkoplasmatischen tüpfelförmigen Längsstreifen ist hier besonders deutlich.

Sämmtlich Figuren sind absolut naturgetreu mit dem Zeichenapparat von Zeiss von Dr. Hermann aufgenommen vermittelst des Zeiss'schen Apochromat. 3,0 . 1,3 und Ocul. 8, was einer Vergrösserung von 667 entspricht.



Dr. F. Hermann, del. Carl Leykum, fecit. G. Kropf, lith.