

(Aus dem Zoologischen Institut Gießen.)

## DOPPELBRECHUNG UND FEINBAU DER MARKSCHEIDE DER NERVENFASERN.

Von

W. J. SCHMIDT.

Mit 17 Textabbildungen (23 Einzelbildern).

(Eingegangen am 26. Juni 1935.)

### Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung . . . . .	657
I. Die Wirkung von Alkohol auf die Markscheide . . . . .	661
II. Die Wirkung von Osmiumsäure auf die Markscheide . . . . .	667
III. Die Wirkung einiger anderer Reagenzien auf die Markscheide . . . . .	672
IV. Der Feinbau der Markscheide . . . . .	673
Zusammenfassung . . . . .	675

### Einleitung.

Seit langem weiß man, daß die *Markscheide* (Myelinscheide) der Nervenfasern — und zwar innerhalb der SCHMIDT-LANDTERMANSchen (zylindro-konischen) Segmente — *lipoid*e und *nichtlipoid*e Anteile enthält. Die letzten treten nach Behandlung mit gewissen Reagentien, z. B. Alkohol, als das sog. „*Neurokeratingerüst*“ hervor. Da aber die genannten Segmente im frischen Zustande vollkommen homogen erscheinen, so wird seine vitale Existenz von der neueren Histologie mit Recht verneint<sup>1</sup>.

Insbesondere J. NAGEOTTE<sup>2</sup> hat sich mit der Entstehung dieses Gerüstes beschäftigt. Er unterscheidet das „*LANTERMANSche Netz*“, das nach Osmiumsäurebehandlung und Herauslösen der von Osmium geschwärzten Bestandteile der Markscheide mit Terpentinöl auftritt, und das „*Neurokeratinnetz*“, das sich durch Alkohol- und Formolfixierung hervorrufen läßt.

In gut fixierten Fasern bildet nach NAGEOTTE die stark die Osmiumsäure reduzierende Substanz feine, dicht gestellte und schräg verlaufende, zum Teil sich überkreuzende *Stäbchen*. Solche Stäbchen konnte NAGEOTTE<sup>3</sup> auch mit Mitochondrienmethoden färberisch darstellen; daher und auch aus entwicklungsgeschichtlichen Gründen<sup>4</sup> spricht er sie als *Mitochondrien* an. Die osmiumreduzierende Substanz umgibt oder imprägniert die Stäbchen; aber selbst die bei *guter*

<sup>1</sup> Die ältere einschlägige Literatur ist zusammengestellt bei W. H. WYNN: The minute structure of the medullary sheath of nerve fibres. J. of Anat. **34**, 381 bis 397 (1900). — <sup>2</sup> NAGEOTTE, J.: Note sur le mécanisme de la formation des réseaux artificiels dans la gaine de myéline. C. r. Soc. Biol. Paris **62**, 628—631 (1910 II). — <sup>3</sup> NAGEOTTE, J.: Mitochondries et neurokératine de la gaine de myéline. C. r. Soc. Biol. Paris **61**, 472—475 (1909 II). — <sup>4</sup> NAGEOTTE, J.: Développement de la gaine de myéline dans les nerfs périphériques en voie de régénération. C. r. Soc. Biol. Paris **67**, 611—614 (1915).

Osmiumfixierung auftretenden Stäbchen sind vielleicht Artefakte, die in Abhängigkeit von der Form der Mitochondrien entstehen. NAGEOTTE hält es für wahrscheinlich, daß die osmiumreduzierende Substanz zunächst dem Chondriom anhaftet und sich von ihm unter dem Einfluß schlechter Fixierung trennt. Diese Substanz fließt nun leicht zu *Tropfen* zusammen, die nach ihrem Herauslösen die Maschen des LANTERMANSCHEN Netzes darstellen; das Netz selbst zeigt die Färbbarkeit der Mitochondrien.

Das nach gewisser *Formolbehandlung* auftretende „Neurokeratingerüst“ ist nach NAGEOTTE (1910 II, s. S. 630) stark lichtbrechend; die Untersuchung in polarisiertem Licht zeigte ihm, daß es *auch das Myelin* enthält (das Netz war also doppelbrechend! SCHMIDT). Die Maschen des Netzes dagegen erfüllte eine *wenig lichtbrechende* (isotrope? SCHMIDT) Substanz; sie schwärzt sich intensiv mit Osmium, absorbiert leicht Wasser und quillt, wodurch das LANTERMANSCHEN Netz entsteht. Der einzige Unterschied zwischen LANTERMANSCHEN und Neurokeratingerüst besteht nach NAGEOTTE darin, daß Osmiumsäure der die Maschen erfüllenden Substanz kaum zu quellen erlaubt, im Gegensatz zur Formolfixierung<sup>1</sup>.

Vor einigen Jahren hat R. CRISTINI<sup>2</sup> die einschlägigen Fragen in der Weise zu klären versucht, daß er die *Änderung der Doppelbrechung* verfolgte, welche die Markscheide bzw. die zylindro-konischen Segmente nach dem *Herauslösen des Lipoides* erfahren.

Wie seit E. KLEBS<sup>3</sup> und W. KÜHNE<sup>4</sup> bekannt und vor allem durch V. VON EBNER<sup>5</sup> gegenüber Einwänden von G. VALENTIN<sup>6</sup> nachdrücklich begründet wurde, ist die Markscheide *positiv einachsig doppelbrechend* mit *radial gelagerter optischer Achse*. Infolgedessen wirkt der Rand der Markscheide negativ in bezug auf die Länge der Faser, die Mitte aber neutral, während auf dem Querschnitt der Markscheide ein positives Kreuz erscheint. Diese charakteristische Doppelbrechung kommt nur den *lipoidhaltigen* Anteilen der Markscheide zu; sie fehlt, wie F. GÖTHLIN<sup>7</sup> als erster erkannte, später von verschiedenen Autoren, auch von CRISTINI (a. a. O.) bestätigt wurde, den Einkerbungen zwischen den zylindro-konischen Segmenten. Hier herrscht Isotropie oder es ist — nach GÖTHLIN (s. S. 19) — schwache *positive* Doppelbrechung in bezug auf die Länge der Faser wahrnehmbar.

<sup>1</sup> Der Darstellung NAGEOTTES (1910 II, 630) glaube ich also entnehmen zu sollen, daß in der Markscheide ein leicht quellbares, mit Osmiumsäure sich schwärzendes, *nicht-doppelbrechendes* Lipoid vorhanden sei. Nach meinen Befunden gehen Schwärzbarkeit mit Osmium und Doppelbrechung stets Hand in Hand. — <sup>2</sup> CRISTINI, R.: Sulla guaina mielinica e su presente struttura della fibra nervosa midollata, da riferirsi a condizioni chimico-fisiche dell neuroplasma. Riv. Neurol. 1, H. 4 (1928). — <sup>3</sup> KLEBS, E.: Die Nerven der organischen Muskelfasern. Virchows Arch. 32, 168—198 (1865). — <sup>4</sup> KÜHNE, W.: Lehrbuch der physiologischen Chemie, S. 339, 345. Leipzig 1868. — <sup>5</sup> EBNER, V. v.: Untersuchungen über die Ursachen der Anisotropie organisierter Substanzen. Leipzig 1882. — <sup>6</sup> VALENTIN, G.: Versuch einer pathologischen Physiologie des Blutes usw. II. Teil. I. Abtheilung. Die physikalische Untersuchung der Gewebe. Leipzig u. Heidelberg 1867 (s. S. 310—314, 317—320); Histologische und physiologische Studien. Fünfte Reihe XIV: Die Untersuchung der Polarisationsfiguren organischer Körper in convergentem Lichte. Z. rat. Med. III 29, 191—216 (1867); Desgl. XVI.: Zwei neue Bestimmungsarten der optischen Achsenrichtungen einachsiger Fasergewebe. Z. rat. Med. III 33, 68—90 (1868) (s. S. 71, 76). — Unterscheidung zweier Arten optischer Achsen in den verschiedenen doppelbrechenden organischen Gebilden. Pflügers Arch. 24, 424—440 (1881) (s. S. 429—430). — <sup>7</sup> GÖTHLIN, F.: Die doppelbrechenden Eigenschaften des Nervengewebes. Sv. Akad. Hdl. 51, Nr 1 (1913).

CRISTINI (a. a. O.) hat nun den Hüftnerven des Frosches 2 Tage in Kaliumbichromat fixiert, in Wasser gewaschen und 1 Tag mit absolutem Alkohol (der Firma MERCK) behandelt. Der filtrierte und dann im Thermostaten bei 37° C verdampfte Alkohol hinterließ einen Rückstand, der in Gummisirup nach APÁTHY untersucht, zwischen gekreuzten Nikols doppelbrechende Myelinformen in einer nicht weiter auflösbaren doppelbrechenden Masse darbot. Der Nerv selbst wurde in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft, die Fasern erwiesen sich CRISTINI als *vollkommen isotrop*. Im gewöhnlichen Lichte konnte man noch die zylindro-konischen Segmente wahrnehmen, wenn auch alteriert durch die Behandlung mit Alkohol. Gleiches beobachtete CRISTINI (s. S. 9) auch an Nerven, die 2 Tage mit *Silbernitrat* behandelt und dann extrahiert wurden.

CRISTINI (a. a. O.) schließt daraus, daß die „*flüssig-kristalline*“ *doppelbrechende Substanz* nicht der einzige Bestandteil der Markscheide ist: er ist vielmehr eingebettet in ein *anderes Kolloid*; dessen Anwesenheit bedingt die Erhaltung der Randstreifen im Bilde extrahierter Nervenfasern, welche dem optischen Durchschnitt der Markscheide entsprechen. Das zweite Kolloid *hindert das* extrahierbare *doppelbrechende Material in Myelinfiguren überzugehen*. Das Erscheinen des Neurokeratingerüstes nach bekannten Eingriffen ist verknüpft mit der Verdichtung der kolloiden Substanz, in welche das Lipoid eingelagert ist, die CRISTINI daher als „*neurokeratogenen*“ Teil der Markscheide bezeichnet.

CRISTINI'S Erklärung für die Entstehung des Neurokeratingerüstes, daß es sich nämlich um einen *Entmischungsvorgang* eines Systems handelt — wie ich es ausdrücken möchte —, dessen beide Anteile im natürlichen Zustand in *kolloiden* Dimensionen sich gegenseitig durchdringen, unter gewissen Eingriffen aber zur Trennung und damit zur mikroskopischen Sichtbarkeit kommen, halte ich für durchaus richtig. Widersprechen aber muß ich der Angabe von CRISTINI, daß das Material der Markscheide nach Auszug der Lipoide *isotrop* sei.

Hat doch schon H. AMBRONN<sup>1</sup> beobachtet (s. S. 421), daß mit *Äther* extrahierte markhaltige Nerven *positiv* in bezug auf die Länge wirken, ebenso beim *Erwärmen in verdünntem Glycerin* etwa bis zur Siedehitze des Wassers — was das Lipoid aus dem doppelbrechenden in den zeitweilig *isotropen* Zustand überführt — *positive* Doppelbrechung auftritt, während beim Erkalten die ursprüngliche negative sich wieder herstellt. AMBRONN (s. S. 428—429) hat aus diesen Beobachtungen geschlossen, daß allen Nerven eine *positive Grundsubstanz* zukommt, deren optische Wirkung durch das Myelin verdeckt werden kann.

Es fragt sich nun, welcher Bestandteil der Nerven*faser* im einzelnen der „*positiven Grundmasse*“ AMBRONN'S entspricht. Da die peripherischen

<sup>1</sup> AMBRONN, H.: Das optische Verhalten markhaltiger und markloser Nervenfasern. Ber. sächs. Akad. Wiss., Leipzig, mathem.-phys. Kl. 42, 419—429 (1890).

Nerven stets positiv *doppelbrechende kollagene Fasern* (Endoneurium) enthalten — der Hüftnerf des Frosches z. B. führt in beträchtlicher Menge längsverlaufende leimgebende Fibrillen —, da weiter das *Neurilemm* (SCHWANNsche Scheide) positiv *doppelbrechend* ist, wie anscheinend bereits G. VALENTIN<sup>1</sup> wußte und spätere Autoren gesichert haben (s. z. B. GÖTHLIN, S. 17), ja schließlich auch das *Axon* im frischen Zustand positive *Doppelbrechung* besitzt (GÖTHLIN s. S. 18), deren Stärke durch Behandlung mit *Alkohol* beträchtlich gesteigert wird (G. ETTISCH und J. JOCHIMS<sup>2</sup>), so läßt sich nur durch sorgfältige Untersuchung *isolierter* Fasern und *unter Beachtung der positiv doppelbrechenden Anteile* derselben entscheiden, ob auch die *lipoidfreie Markscheide* an der positiven Doppelbrechung beteiligt ist.

Den ersten entscheidenden Versuch hat L. MEZZINO<sup>3</sup> angestellt: *Querschnitte* des formolfixierten Hüftnerven, die mehrfach mit absolutem Alkohol, Toluol, Xylol und Petroläther behandelt waren, zeigten an Stelle der *positiven* schwache *negative* Kreuze, die der Autor auf die *Erweißgrundlage* der Markscheide bezieht.

Ich habe den *Erwärmungsversuch* AMBRONNS wiederholt und kann bestätigen, daß bei einer gewissen Temperatur die negative Doppelbrechung der *Markscheide erlischt* und beim Erkalten *wiederkehrt*. Dagegen gelang es mir nicht, sicherzustellen, ob nach dem Verschwinden der negativen Doppelbrechung *an ihrem Ort* positive Doppelbrechung hervortritt. Die zur Entscheidung dieser Frage erforderlichen hohen Vergrößerungen (Immersion) ließen sich angesichts der beträchtlich gesteigerten Temperatur (gegen 100° C) bei der mir zur Verfügung stehenden Heizapparatur nicht anwenden.

Es muß schon an sich als durchaus wahrscheinlich gelten, daß der nichtlipoiden Anteil der zylindro-konischen Segmente Doppelbrechung besitzt. Denn da, wo der Markscheide das eingelagerte Lipoid von Natur fehlt, nämlich an den Einkerbungen (die freilich durch besondere Strukturen ausgezeichnet sind), wurde von GÖTHLIN (s. hier S. 658) positive Doppelbrechung beobachtet.

Mein Bestreben war, die Wirkung *lipoidlösender* oder die *Doppelbrechung aufhebender* Reagentien auf *isolierte* markhaltige Nervenfasern *unmittelbar unter dem Polarisationsmikroskop* zu verfolgen und so das optische Verhalten der nichtlipoiden Bestandteile der Markscheide bzw. die Entstehung des Neurokeratingerüsts zu ermitteln.

Im einzelnen war das Verfahren folgendes: Einem geköpften Frosch wurde sogleich der Hüftnerf freigelegt. Zur Prüfung der Optik einzelner Fasern schnitt ich ein 3—4 mm langes Stück desselben heraus und zerteilte es mittels feiner

<sup>1</sup> VALENTIN, G.: Die Untersuchung der Pflanzen- und der Thiergewebe in polarisiertem Lichte. Leipzig 1861 (s. S. 294). — <sup>2</sup> ETTISCH, G. u. J. JOCHIMS: Dunkelfelduntersuchungen am überlebenden Nerven. I. Mitt. Die Wirkung von Elektrolyten. Pflügers Arch. 215, 519—524 (1927). — <sup>3</sup> MEZZINO, L.: Riflessione ed osservazioni istologiche sulle fibre norvose unidollate. Riv. Biol. 13 (1931).

Präpariernadeln auf einem Objektträger — ohne Zusatz von Flüssigkeit — unter dem Binokularmikroskop in feine Bündel. Schleift man ein solches, indem das eine Ende mit einer Präpariernadel gefaßt wird, über einen Objektträger, so streckt es sich ohne Zerrung schnurgerade und einzelne Fasern oder Gruppen von solchen lösen sich ab und haften dem Objektträger an. Jetzt wird ein Deckglas aufgelegt und eine geeignete Stelle unter dem Polarisationsmikroskop aufgesucht.

Dann wird die Flüssigkeit, deren Wirkung beobachtet werden soll, am Rande des Deckglases zugesetzt. Betont sei, daß ihr Einfluß anders ausfällt, wenn sie eine einzel liegende Faser sogleich allseits umspült, als wenn sie in ein Bündel mehrfach übereinander liegender Fasern allmählich eindringt. Im letzten Falle tritt bei den im Inneren gelegenen Fasern eine schwächere Wirkung ein, ähnlich als ob die angewandte Flüssigkeit verdünnt worden wäre.

Für die Untersuchung der schwachen Doppelbrechungserscheinungen, die nach dem Ausziehen der Lipoide wahrnehmbar sind, muß eine *starke Lichtquelle* und eine *drehbare  $\frac{1}{10}$   $\lambda$ -Glimmerplatte* benutzt werden. Die Gipsplatte Rot I reicht hier zum Bestimmen des optischen Charakters oft nicht mehr aus. Zur Beobachtung bediente ich mich meist der LEITZschen Fluoritölimmersionen 1/7a und 1/10a, gelegentlich auch 1/16a.

Eine gerade gestreckte und *unversehrte Faser* (Abb. 1) bietet, in physiologischer Kochsalzlösung zwischen gekreuzten Nikols untersucht, in Diagonallage die *Markscheide* als einen hell aufleuchtenden, außen und innen glatt begrenzten und von den SCHMIDT-LANTERMANschen Einkerbungen und RANVIERSchen Schnürringen durchbrochenen Randstreifen dar. Die Mitte der Faser ist dunkel oder läßt bei kräftiger Beleuchtung die schwache positive Doppelbrechung des *Achsenzylinders* hervortreten (Abb. 1). In Normallage löscht die Markscheide nur bei *völlig geradegestreckten* Fasern fast ganz aus; sonst bleiben größere und kleinere Abschnitte mehr oder minder hell.

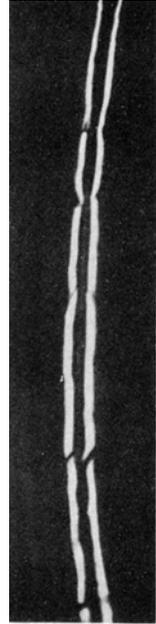


Abb. 1. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in physiologischer Kochsalzlösung zwischen gekreuzten Nikols, 330:1. *Markscheide*, in die zylindrokonischen Segmente gegliedert, und *Axon* (fokussiert) sichtbar.

## I. Die Wirkung von Alkohol auf die Markscheide.

(Die Entstehung des Neurokeratingerüstes.)

Seit langem weiß man, daß Alkohol, je nach seiner Konzentration, die Struktur des Nervenmarkes in verschiedener Art verändert. Ich verweise z. B. auf die Angaben von LEWY<sup>1</sup>.

Setzt man einer frischen Nervenfaser absoluten Alkohol zu — ich benutzte stets *Isopropylalkohol* —, so ändert sich plötzlich das homogene Aussehen des Markes; die Myelinscheide erscheint jetzt bei

<sup>1</sup> LEWY: Artikel „Nervengewebe“ in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, herausgeg. von R. KRAUSE, Bd. 3, S. 1636—1676 (s. S. 1653). Berlin u. Wien 1927.

Einstellung auf die Fläche wie *punktiert* (Abb. 2) und bei Fokussierung des Randes *quergestrichelt*.

Die „*Punkte*“ sind bei hoher Einstellung dunkler, bei tiefer heller als das trennende Netzwerk, besitzen also geringere Lichtbrechung als dieses. Ihre Feinheit und ihr Abstand wechselt von Faser zu Faser, ja an der gleichen von Ort zu Ort. Die Punktierung fällt um so dichter aus, je rascher der Alkohol gewirkt hat. Meist stehen die Punkte verworren, bisweilen auch in Schrägzeilen. Die „*Strichelung*“ am Rande ist der optische Querschnitt der Punktstruktur, und zwar entsprechen die Striche den Netzbalken. Wie NAGEOTTE (s. hier S. 657) angibt, ist die Strichelung *schräg* zur Kante der Faser.

Zugleich verliert die Markscheide unter der Wirkung des Alkohols ihren starken fettartigen Glanz und vielfach nimmt sie auch merklich an Dicke ab. Die Einkerbungen zwischen den zylindro-konischen Segmenten sind am optischen Schnitt schwer zu erkennen; jedoch bleiben ihre Grenzen auf der Fläche der Faser oft als gerade Querlinien deutlich sichtbar.

Das *Axon*, ehemals die Markröhre ganz erfüllend, ist durch beträchtliche Querschrumpfung zu einem deutlich sichtbaren oft längsgestreiften, ja manchmal unverkennbar fibrillär gebauten Gebilde geworden. Das *Neurilemm*, das der frischen Faser unmittelbar, optisch nicht trennbar aufliegt, hat sich leicht abgehoben.

Zwischen *gekreuzten Nikols* ergibt sich folgendes als Wirkung des Alkohols. Sobald die Flüssigkeit eine isolierte Faser umspült, *sinkt* die Doppelbrechung der Markscheide mit einem Schlage; die zuvor in Diagonallage der Faser stark aufleuchtenden *Ränder* verlieren beträchtlich an *Helligkeit* und *Breite*, während der verschmälerte *Achsenzylinder* kräftig aufleuchtet (Abb. 3). Ferner blitzen im Augenblick, in dem der Alkohol Zutritt, auf der Fläche der Faser zahlreiche *Fünkchen* auf, die *soleich wieder verlöschen*. Wenn sie etwas größer sind und länger verweilen, geben sie sich als winzige *Sphärüten* zu erkennen durch ihr dunkles, den Schwingungsrichtungen der Nikols entsprechendes Kreuz. Die Fläche der Faser bleibt im allgemeinen dunkel, nur gelegentlich erhalten sich hier aufleuchtende Teilchen. Die geschilderten Erscheinungen sind offenbar auf das *Herauslösen des Myelins* und das Schrumpfen des Achsenzylinders zu beziehen. Die Extraktion des Lipoides vollzieht sich also bei *isolierten* Fasern fast augenblicklich; bei sich berührenden Fasern freilich beansprucht sie viel mehr Zeit.

Der *optische Charakter* der Faser erweist sich jetzt für alle ihre Teile als *positiv* in bezug auf die Länge. Da die Fläche der Faser neutral wirkt, so muß — abgesehen vom Axon — wie im natürlichen Zustand die *optische Achse radial* liegen, so daß die Doppelbrechung der Röhrenwand als *negativ einachsigt* bezeichnet werden muß. (Vgl. auch S. 660 MEZZINOS negative Kreuze.)

Um sicher zu ermitteln, wie weit die am Rande der alkoholbehandelten Faser vorhandene, in bezug auf die Länge positive Doppelbrechung von der *Markscheide* herrührt, muß man starke Vergrößerung anwenden und sich an solche Fasern halten, bei denen *Neurilemm* und gestrichelte *Myelinscheide* sich *bestimmt voneinander abheben*, wie das z. B. in Abb. 4, vor allem am linken Rande, der Fall ist. Die Aufnahme ist in den beiden wirksamen Stellungen der eingeschalteten  $\frac{1}{10} \lambda$ -Glimmerplatte gemacht.

In Abb. 4a (Additionslage) sind *übereinstimmend* *Neurilemm*, *Markscheide* und *Achsenzylinder heller* als das *Sehfeld*, in Abb. 4b (Subtraktionslage) *dunkler*. Es hat

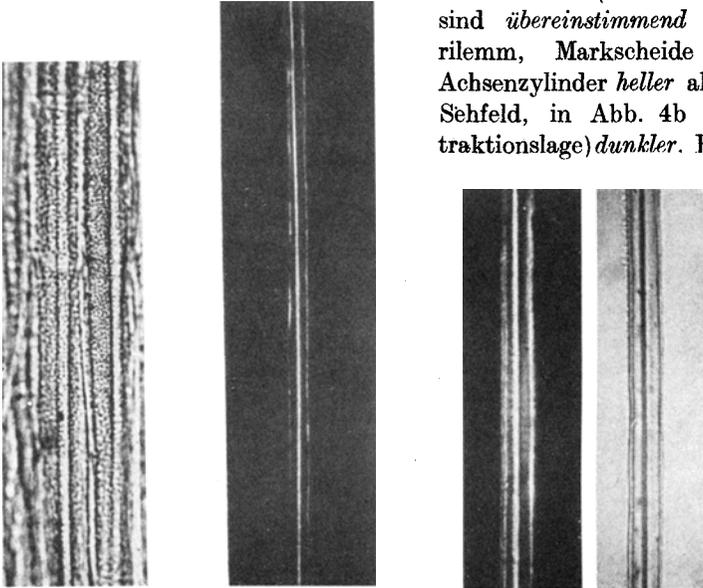


Abb. 2.

Abb. 3.

a  
b  
Abb. 4a und b.

Abb. 2. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches mit absolutem Alkohol behandelt, 450 : 1. „Punktierung“.

Abb. 3. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches mit absolutem Alkohol behandelt zwischen gekreuzten Nikols, 185 : 1. In der Mitte das geschrumpfte *Axon*, am Rande die lipoidfreie *Markscheide* + *Neurilemm* sichtbar.

Abb. 4a und b. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches mit absolutem Alkohol behandelt zwischen gekreuzten Nikols unter Wirkung der drehbaren  $\frac{1}{10} \lambda$ -Glimmerplatte, 330 : 1. a) In Additionslage, b) in Subtraktionslage: positive Doppelbrechung (in bezug auf die Länge) von *Neurilemm*, lipoidfreier *Markscheide* und *Axon*.

also die *lipoidfreie Markscheide*, bezogen auf die Faserlänge, gleiches Vorzeichen der Doppelbrechung wie *Neurilemm* und *Axon*, d. h. sie wirkt *positiv*. Bemerkte sei, daß die Schrägstellung der Stäbchen am Rande der Faser ohne Einfluß auf die Richtung der Auslöschung bleibt, die nach wie vor der Faserlänge parallel geht.

Einzelne Fasern halten hartnäckig Reste des Myelins zurück, ihre *Markscheide* bleibt schwach negativ in bezug auf die Länge. Stellt man aber einen solchen Objektträger mit den anhaftenden isolierten

Fasern für  $\frac{1}{2}$  bis 1 Tag in absoluten Alkohol, so wird auch hier die Faser in all ihren Teilen positiv in bezug auf die Länge.

Beim Überführen der Fasern in *Balsam* bleibt die Doppelbrechung des Neurilemms gut kenntlich, die der *Markscheide* aber ist nur mehr unsicher wahrzunehmen; offenbar ist ihre negativ-einachsige optische Anisotropie ganz oder zum Teil *Formdoppelbrechung*.

Welcher Art die Strukturveränderung (Punktierung)ist, welche die Markscheide unter dem Einfluß absoluten Alkohols erfährt, ergibt sich aus dem Verhalten der Markscheide gegenüber *schwächerem* Alkohol. 50—70%iger Alkohol erzeugt auch fast augenblicklich *Punktierung* und *Senkung der Doppelbrechung*.

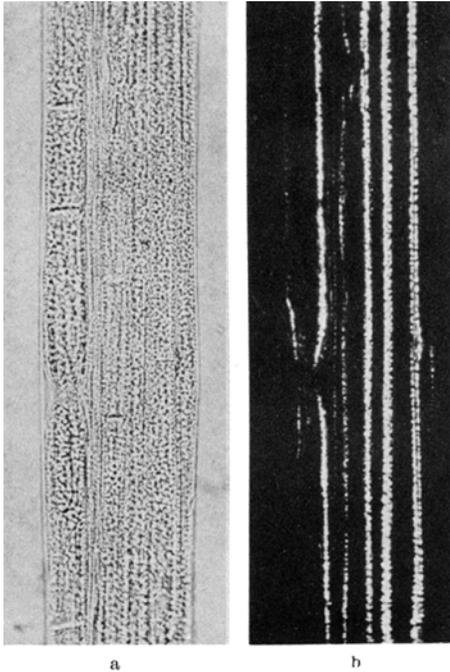


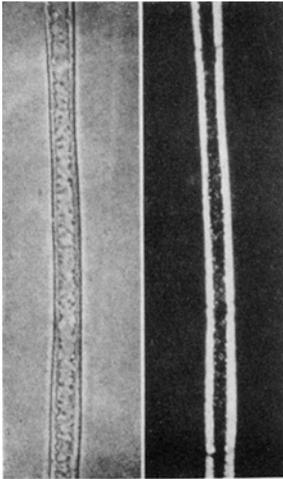
Abb. 5a und b. Faser aus dem Hüftnerven des Frosches mit 50%igem Alkohol behandelt, a) in gewöhnlichem Lichte, b) zwischen gekreuzten Nikols, 380:1. Ausbildung des *Neurokeratingerüstes*.

Zwischen gekreuzten Nikols (Abb. 5b) fällt auf, daß der Alkohol bei ungehindertem Zutritt (s. z. B. Abb. 5b, Außenrand der linken Faser) die starke Senkung der Doppelbrechung auslöst, wie wir sie bei absolutem Alkohol kennen lernten; wo aber der Alkohol schwerer Zugang hat, Faser neben Faser liegt, da erhält sich das Lipoid länger (Abb. 5b Mitte). Der Achsenzylinder bleibt meist unsichtbar, weil keine starke Schrumpfung eingetreten ist.

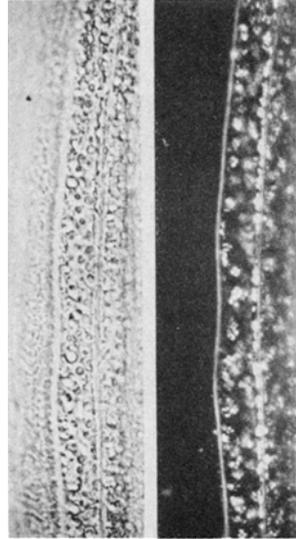
Bei noch geringerer Konzentration des Alkohols, etwa bis zu 30%, lassen sich die Veränderungen, welche an der Markscheide ablaufen, *schrittweise* verfolgen. Zunächst wird der Innenkontur der Myelin-

seide gegenüber *schwächerem* Alkohol. 50—70%iger Alkohol erzeugt auch fast augenblicklich *Punktierung* und *Senkung der Doppelbrechung*. Aber die *Punktierung* fällt viel größer aus (vgl. Abb. 5a mit Abb. 2, wobei noch zu beachten, daß Abb. 2 bei *stärkerer* Vergrößerung hergestellt ist). Die Markscheide besitzt jetzt deutlich eine *wabige Struktur*, deren Maschen bei hoher Einstellung dunkler sind als die Balken dazwischen; optisch verhält sich also das Wabenwerk so wie die *Punktierung*, die bei Einwirkung absoluten Alkohols eintritt; sie ist offenbar dieselbe Struktur in vergrößertem Maßstabe. Die Grenzen der zylindrischen Segmente treten wiederum als *Querstreifen* auf der Faser schön hervor (Abb. 5a, linke Faser).

scheide unregelmäßig, indem kleine *Vorwölbungen* halbkugelig gegen den Achsenraum vorspringen (Abb. 6a). Stark lichtbrechende Tröpfchen der gleichen Art sieht man auch in der Mitte der Faser; sie liegen aber, abgesehen von Ausnahmen, nicht etwa frei im Markraum, sondern stellen die Flächenansicht der vorher geschilderten Vorwölbungen dar. Prüfung in polarisiertem Licht (Abb. 6b) erweist die beschriebenen Auswüchse der Markscheide als *Sphärüten*; jeder derselben bietet ein winziges dunkles Kreuz dar, dessen Balken den Schwingungsrichtungen der Nikols



a b  
Abb. 6a und b.



a b  
Abb. 7a und b.

Abb. 6a und b. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches im Beginn der Wirkung 30 %igen Alkohols, 330 : 1, a) in gewöhnlichem Lichte, b) zwischen gekreuzten Nikols. Bildung der *Sphärüten*.

Abb. 7a und b. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches bei längerer Wirkung 30 %igen Alkohols, 450 : 1, a) in gewöhnlichem Lichte, b) zwischen gekreuzten Nikols. Die Faser am linken Rande der Abbildung a zeigt das *Neurokeratingerüst* bereits ausgebildet, die anschließende Faser noch die *Sphärüten* in seinen Maschen.

entsprechen; bei Einschalten einer Gipsplatte Rot I nehmen die Quadranten des Kreuzes unter  $+ 45^{\circ}$  steigende Farbe an („positives Kreuz“).

Allmählich werden die *Sphärüten* größer und zahlreicher; sie zehren die Masse der Markscheide gewissermaßen auf (Abb. 7a Mitte) und damit verschwinden im polarisierten Licht die bisher hell aufleuchtenden Randlinien (Abb. 7b). Der nicht in *Sphärüten* aufgegangene Teil der Markscheide stellt in seiner Gesamtheit ein wabiges, schwach doppelbrechendes Netzwerk dar, in dessen Maschen die stärker lichtbrechenden *Sphärüten* liegen (Abb. 7a Mitte). Unter der fortschreitenden Wirkung des Alkohols lösen sich nun die *Sphärüten* allmählich auf; sie werden — wie man im polarisierten Licht gut verfolgen kann (Abb. 7b) — kleiner und kleiner und schließlich hinterbleiben an ihrem Ort Lücken, welche

den jetzt leeren Maschen des Netzwerkes entsprechen; nun erscheinen bei hoher Einstellung die Balken des Gerüstwerkes hell, die Maschen dunkel. Zugleich vollzieht sich eine Schrumpfung der Balken und so nimmt das Wabenwerk endlich die Gestalt an, die, an der linken Faser der Abb. 7a sichtbar, als das „*Neurokeratingerüst*“ bekannt ist. Seine Entstehungsgeschichte kennzeichnet es klar als Kunstprodukt.

Im einzelnen ist zu diesen Vorgängen noch folgendes zu sagen; man kann die gleichen Erscheinungen auch bei der Einwirkung starken Alkohols an *Bündelchen* von Fasern verfolgen, in deren Inneren die Ausbildung des Neurokeratingerüsts ähnlich abläuft. Es liegt also

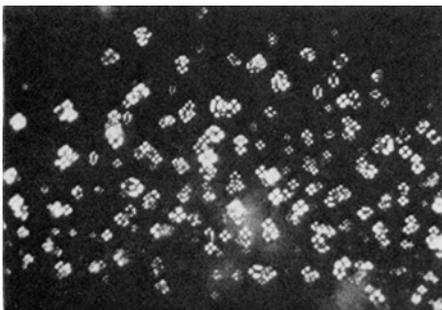


Abb. 8. *Sphärüten* aus dem Myelin von Fasern aus dem Hüftnerve des Frosches in 30 %igem Alkohol entstanden, zwischen gekreuzten Nikols, 450 : 1.

nicht etwa eine spezifische Wirkung des Wassers im verdünnten Alkohol vor, sondern nur die schwächere Wirkung des Alkohols selbst. Verläuft die Ausbildung des Neurokeratingerüsts zu langsam, oder bleibt sie gar stehen, so läßt sie sich durch Zusatz von starkem Alkohol beschleunigen. Die Wirkung *schwachen* und *starken* Alkohols unterscheidet sich dadurch, daß der letztere die unter seinem Einfluß entstehenden *Sphärüten* *sogleich*

*löst*; sie bleiben daher klein und deshalb erreichen auch die Maschen des Neurokeratingerüsts nur geringe Dimensionen; sie bieten sich bei der Einwirkung absoluten Alkohols als die beschriebenen „*Punkte*“ dar. Schwächerer Alkohol löst die Lipoide langsamer; die *Sphärüten* haben Zeit heranzuwachsen und erreichen manchmal fast den Querdurchmesser der Faser; das jetzt entstehende Neurokeratingerüst besitzt entsprechend große Maschen. Man hat häufig Gelegenheit, in demselben Präparat das Neurokeratingerüst benachbarter Fasern mit sehr verschiedener Maschenweite ausgebildet zu sehen, ein Verhalten, das — wie schon ältere Autoren betont haben — die vitale Existenz des Gerüsts von vornherein verdächtig macht.

Da die *Sphärüten* ohne Rückstand zu hinterlassen, sich in Alkohol lösen, während das Neurokeratingerüst darin unlöslich ist, muß man annehmen, daß die *Sphärüten* ganz oder überwiegend aus *Lipoid* bestehen, im Gegensatz zu der Substanz des Neurokeratingerüsts, die wesentlich nichtlipoider Art ist. Es tritt also, wie auch NAGEOTTE und CRISTINI (s. S. 657—659) vertreten, bei der Bildung der *Sphärüten* bzw. des Neurokeratingerüsts die lipoider Substanz aus dem kolloiden System der Markscheide heraus, unterliegt jetzt den formenden Kräften der Oberflächenspannung und bildet daher Tropfen. Der Rest der Markscheide

wird in dem Maße wie die Sphärüten wachsen, lipoidärmer; er enthält aber in seiner eiweißartigen Masse zunächst beträchtliche Mengen von Wasser, wie sich aus seiner fortschreitenden Schrumpfung (Entquellung) ergibt.

Die starke Neigung des Myelins der Nervenfasern des Frosches, Sphärüten zu bilden, ist bereits von CRISTINI (a. a. O.) betont worden. Im Extrakt dagegen treten weniger Sphärüten, sondern meist Myelinfiguren auf. In meinen Präparaten konnte ich gelegentlich außerhalb der Nervenfasern in Alkohol die Sphärüten beobachten, die sich also aus dem extrahierten Lipoid gebildet hatten (Abb. 8).

## II. Die Wirkung von Osmiumsäure auf die Markscheide.

Die Osmiumsäure genießt den Ruf, die Struktur der Markscheide am natürlichsten von allen Reagentien zu bewahren. Die Lipide entziehen dem Osmiumtetroxyd Sauerstoff, oxydieren sich und reduzieren dieses zu Osmiumdioxhydrat, das als kolloider Niederschlag sich im Gewebe absetzt und seine Schwärzung bedingt.

1%ige wässrige Osmiumtetroxydlösung, auf dem Objektträger isolierten Nervenfasern zugesetzt, löst sogleich die „Punktierung“ der Markscheide aus (Abb. 9), die uns von der Alkoholwirkung her bekannt ist (s. S. 662) und sich an der Kante der Faser als die „Strichelung“ darstellt. Besonders schön tritt die Schrägstellung der Stäbchen durchweg zutage (Abb. 10), wobei das einzelne Stäbchen noch eine

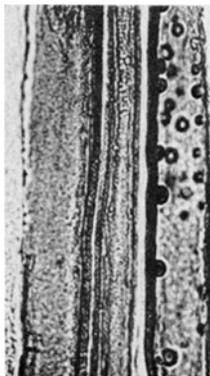


Abb. 9.

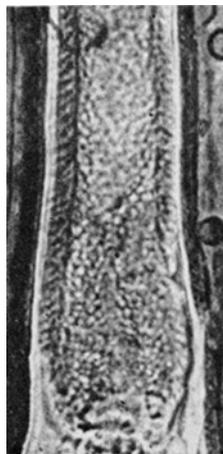


Abb. 10.

Abb. 9. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Osmiumsäure, 700:1. Stäbchenstruktur der Markscheide in Flächen- und Kantenansicht; rechts Bildung von Sphärüten.

Abb. 10. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Osmiumsäure, 1400:1. Stäbchenstruktur der Markscheide.

Quergliederung zeigen kann, gleich als ob die Markscheide auch eine Schichtung parallel ihrer Oberfläche besäße; eine Lamellierung der Markscheide haben ja auch frühere Beobachter gelegentlich wahrgenommen. Auch die von NAGEOTTE erwähnte Kreuzstreifung am Rande der Markscheide (s. hier S. 657) konnte ich oft feststellen (vgl. Abb. 9, rechte Seite der linken Faser). Bei schiefer Beleuchtung ist je nach dem gewählten Azimut bald das eine, bald das andere Streifensystem deutlicher wahrnehmbar. Die merkwürdige Tatsache, daß oft benachbarte Fasern, und zwar auf beiden Rändern der Markscheide, die Stäbchen nach der gleichen Richtung hin geneigt zeigen (vgl. z. B. Abb. 12), hängt wohl damit zusammen,

das beim Schleifen der Faser über den Objektträger (s. S. 661) eine gewisse gleichmäßige Beanspruchung der Markscheide erfolgt, welche die Stäbchen lockert.

Die Punktierung der Markscheide scheint auch hier ihre Ursache in der Bildung von Sphäriten aus dem Myelin (s. S. 662) zu haben. Zwar konnte ich das vorübergehende Funkeln auf der Fläche der Faser zwischen gekreuzten Nikols bei Beginn der Osmiumwirkung nicht beobachten. Aber gelegentlich werden die Punkte größer und stehen lockerer und geben sich dann deutlich als stärker geschwärzte Teile der Markscheide zu erkennen, sowohl in Flächenansicht (Abb. 11a) wie in Kantensicht (Abb. 11b). Es sondert sich also auch hier das lipoide Material, und den *ersten Beginn* der Bildung eines Neurokeratingerüstes scheint also, wie auch NAGEOTTE meint (s. hier S. 657), selbst Osmiumsäure nicht völlig hindern zu können; aber bei ihrer raschen fixierenden Wirkung kommt es nicht zur Entstehung eines Gerüstwerkes mit *groben Maschen*.

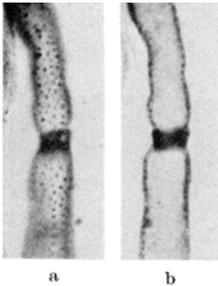


Abb. 11a und b. Osmierte Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Balsam eingeschlossen, 1000 : 1, a) Einstellung auf die Fläche, b) auf den optischen Schnitt. Anfang der Bildung des Neurokeratingerüstes.

Die Analyse des *polarisationsoptischen* Verhaltens der Markscheide osmierter Fasern birgt manche Schwierigkeiten, nicht nur weil die stark geschwärzte Markscheide wenig Licht hindurchläßt und die Schwärzung beim Gebrauch eines Kompensators zu Verwechslung mit kompensatorischer Verdunkelung führen kann, sondern auch weil sich verschiedene Wirkungen überlagern, nämlich die *Aufhebung der Doppelbrechung des Lipoides* und die *orientierte Einlagerung doppelbrechenden Osmiumdioxihydrates*. Wie ich jüngst festgestellt habe<sup>1</sup>, kann es als gesichert gelten, daß das schwarze Reaktionsprodukt der Osmiumsäure *gerichtet* der Markscheide eingelagert wird und ihr schwache *positiv einachsige* Doppelbrechung mit *radial* gelagerter optischer Achse verleiht; so bietet also die osmierte Markscheide ähnliche Polarisationsoptik wie im natürlichen Zustande dar, freilich mit stark verringertem Gangunterschied. Da nun die Osmiumwirkung zugleich die Doppelbrechung des Myelins aufhebt<sup>2</sup>, überlagern sich zwei gegensätzliche Faktoren, deren einer die Doppelbrechung des Lipoides beseitigt, deren anderer gleichsinnige Doppelbrechung erzeugt. Die negativ-einachsige Anisotropie der nicht-lipoiden Grundlage (s. S. 662) wird also bei Aufhebung der Doppelbrechung des Lipoides durch Osmiumsäure nur dann zutage treten, wenn zuerst

<sup>1</sup> SCHMIDT, W. J.: Die Doppelbrechung der Markscheide osmierter Nervenfasern. Z. wiss. Mikrosk. 52, 158—165 (1935). — <sup>2</sup> Vgl. DIAMARE, V.; Distrofie e degenerazioni istofisiologiche genitale. Arch. Ostet. II 9, 399—621 (1921). — SALVI, P.: Sull' istochemica e l'istofisiologia dei lipidi complessi. Boll. Soc. Nat. Napoli 48 (1931). Atti. — SCHMIDT, W. J.: Doppelbrechung, Dichroismus und Feinbau des Außenhüdes der Sehzellen. Z. Zellforsch. 22, 485—522 (s. S. 499) (1935).

die Doppelbrechung des Myelins beseitigt wird und dann erst allmählich mit steigender Einlagerung des Reduktionsproduktes dessen Wirkung sich bemerkbar macht. Mit diesen verwickelten Vorgängen<sup>1</sup> dürfte es zusammenhängen, daß die negativ einachsige Doppelbrechung der nicht-lipoiden Grundlage der Markscheide auf diesem Wege nur schwer faßbar ist.

Im einzelnen ist folgendes zu beobachten. Zusatz von Osmiumsäurelösung zu einer isolierten Faser senkt die Doppelbrechung alsbald beträchtlich; ihr Vorzeichen bleibt in manchen Fällen negativ in bezug auf die Länge, in anderen (Abb. 12) aber erweist es sich als positiv; die Mitte der Faser wirkt wie in natürlichem Zustande neutral, so daß also die optische Achse auch jetzt *radial* liegen muß. Die Doppelbrechung nach Umkehr des Vorzeichens muß also als negativ in bezug auf den Radius der Nervenfaser bezeichnet werden. Die schräge, manchmal kreuzstreifige Strichelung am Rande der Markscheide tritt auch zwischen gekreuzten Nikols gut hervor (Abb. 12); die Auslöschung erfolgt unabhängig von dieser Struktur nach wie vor parallel der Länge der Faser. Diese nur gelegentlich wahrnehmbare, schwache, negativ einachsige Doppelbrechung möchte ich auf die *nichtlipoiden Anteile* der Myelinscheide beziehen, gleich der entsprechenden Doppelbrechung, die nach *Herauslösen* der Lipoiden mit Alkohol zu beobachten ist (s. S. 662).

Bei *kräftig osmierten* Fasern ist die Doppelbrechung der Markscheide stets *negativ* in bezug auf die Länge, mag man sie nun in der Osmiumsäure selbst untersuchen oder in Balsam einschließen. Die Myelinscheide leuchtet zwischen gekreuzten Nikols am Rande der Faser in charakteristischer kupferroter Polarisationsfarbe auf, während sie in der Mitte dunkel bleibt (Abb. 13). Manchmal leuchten Außen- und Innenrand der osmierten Markscheide kräftiger auf als die mittlere Partie (Abb. 14). An solchen Fasern sind das doppelbrechende Neurilemm und begleitende kollagene Fasern meist gut durch ihre weißliche

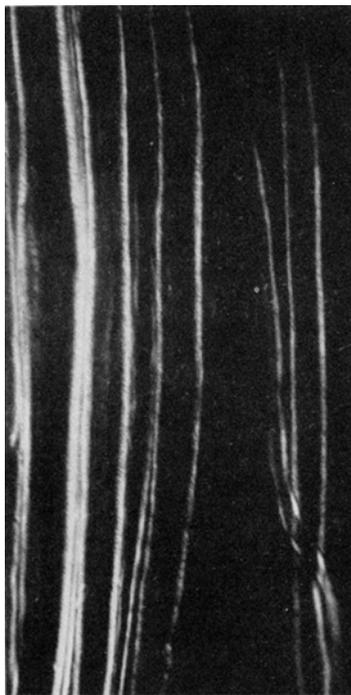


Abb. 12. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Osmiumsäure, 450 : 1. Markscheide mit Stäbchenstruktur, positiv doppelbrechend in bezug auf die Länge.

<sup>1</sup> Betr. noch weiterer Einzelheiten verweise ich auf meine in Anmerkung 1 S. 668 genannte Arbeit.

Interferenzfarbe von der Markscheide zu trennen. Diese Doppelbrechung ist auf gerichtete *Einlagerung des Reduktionsproduktes* der Osmiumsäure zu beziehen: positiv einachsige Teilchen von Osmiumdioxhydrat liegen mit der optischen Achse radial in der Markscheide, wie ich an anderer Stelle näher ausführen werde (s. Anm. I. S. 668).

Bekanntlich findet sich auf der Grenze benachbarter zylindronischer Segmente die als GOLGI- oder *Zwischentrichter* bezeichnete Struktur in der Markscheide. Es handelt sich um die Masse, welche in Form einer Manschette die Spalten zwischen den tütenartig ineinandergesteckten Segmenten, also die SCHMIDT-LANTERMANSCHEN Inzisuren, erfüllt; sie kann mit verschiedenen Verfahren färbereich herausgehoben werden und zeigt einen Aufbau aus zirkulär zur Faser verlaufenden Fibrillen (GOLGI-Ringe oder -Spiralen).

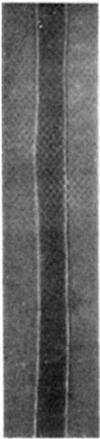


Abb. 13.

Abb. 13. Osmierte Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Balsam zwischen gekreuzten Nikols, 330 : 1. Negative Doppelbrechung der Markscheide in bezug auf die Länge infolge gerichteter Einlagerung von *Osmiumdioxhydrat*.



Abb. 14.

Abb. 14. Stark osmierte Faser aus dem Hüftnerve des Frosches in Balsam zwischen gekreuzten Nikols, 330 : 1. Doppelbrechung der Markscheide negativ in bezug auf die Länge.

Bei den Fasern aus den Hüftnerve des Frosches lassen sich die *Zwischentrichter* einfach und schön durch *lang dauernde* Einwirkung von Osmiumtetroxydlösung darstellen. Liegt der Nerv etwa eine Woche in 1%iger Lösung, so zeigen die isolierten Fasern *dunkle Querbinden* am Ort der GOLGI-Trichter. Diese geben unter genügender Vergrößerung bei Einstellung auf die Fläche den Aufbau aus zirkulären Fibrillen zu erkennen: bei Fokussierung des Faserrandes aber erscheint jederseits in der Inzisur eine viel dunkler als das Nervenmark geschwärzte Linie, der optische Querschnitt der Manschette (Abb. 15 oben links). So behandelte Fasern können natürlich auch in Balsam eingeschlossen werden.

Die GOLGI-Trichter machen sich aber auch durch ihre *Doppelbrechung* bemerkbar. Abb. 16a gibt eine nur kurz in Osmiumsäure befindliche Faser wieder; in gewöhnlichem Licht sind an den Einkerbungen die Trichter durch die Osmiumwirkung nur eben angedeutet. An derselben Faser aber heben sich zwischen gekreuzten Nikols bei Benutzung der drehbaren  $\frac{1}{10}$   $\lambda$ -Glimmerplatte die Manschetten schön heraus (Abb. 16b), und zwar verhalten sie sich optisch entgegengesetzt wie der Achsenzylinder; befindet sich dieser in Additionslage, hellt sich auf, dann verdunkelt sich die Markscheide (Abb. 16b) und umgekehrt. Die Trichter wirken also negativ in bezug auf die Länge der Nervenfasern, bzw. positiv

auf die Richtung der in ihnen verlaufenden Fibrillen. Bemerkenswert ist, daß zwischen gekreuzten Nikols am Rande der Faser in der Einkerbung oft ein helleuchtender Punkt oder Strich erscheint, dessen nähere Bedeutung ich nicht ermitteln konnte. Ohne Osmiumbehandlung war die optische Wirkung der Trichter nicht wahrnehmbar; es scheint so, als ob die Doppelbrechung ihrer Fibrillen durch die Osmiumwirkung verstärkt würde.

Die *Osmiumschwärzung* eines Gewebes läßt sich bekanntlich durch *Wasserstoffsuperoxyd*, *Kaliumpermanganat* und andere oxydierende Mittel *beseitigen*. Der Vorgang besteht darin, daß das wasserunlösliche Osmiumdioxihydrat durch Sauerstoffaufnahme in das wasserlösliche Osmiumtetroxyd rückverwandelt wird.

Setzt man einer isolierten, kräftig osmiereten, in Wasser befindlichen Nervenfaser am Rande des Deckglases einen kleinen Tropfen *Perhydrol* zu, so lehrt die Beobachtung unter dem Mikroskop folgendes. Die geschwärtzte

Markscheide blaßt allmählich ab, wird goldgelb und schließlich farblos. Zugleich nehmen die vorher starren und brüchigen Fasern weiche Beschaffenheit an. Ferner tritt die Stäbchenstruktur und die Gliederung der Markscheide in die zylindro-konischen Segmente schön hervor. Oft setzt die Wirkung des *Perhydrols* nicht gleichmäßig in der Länge der Fasern ein; die Grenzgebiete der zylindro-konischen Segmente eilen in der Bleichung voraus, so daß die Faser in der Mitte der Segmente zunächst dunkler bleibt; andererseits freilich bewahren starkgeschwärtzte *GOLGI-Trichter* sich länger vor der Wirkung des *Wasserstoffsuperoxyds*. Das Axon, das nach der Osmiumsäurebehandlung das Lumen der Markröhre noch ganz erfüllte, schrumpft.

Beobachtung dieser Vorgänge unter dem *Polarisationsmikroskop* ergibt zunächst den Schwund der charakteristischen braunroten Polarisationsfarbe der Markscheide, die von dem eingelagerten Osmiumdioxihydrat herrührt. Weiter beobachtet man gelegentlich an Fasern, die den goldgelben Ton im gewöhnlichen Licht erreicht haben (s. o.), *positive* Doppelbrechung in bezug auf die Länge. In der Regel aber läßt



Abb. 15.



a



b

Abb. 16a und b.

Abb. 15. Stark osmierte Faser aus dem Hüftnerve des Frosches, 1000:1: *GOLGI-Ringe*.

Abb. 16a und b. Faser aus dem Hüftnerve des Frosches kurz nach dem Einlegen in Osmiumsäure, 330:1, a) in gewöhnlichem Licht, *GOLGI-Ringe* eben angedeutet; b) zwischen gekreuzten Nikols, *GOLGI-Ringe* dunkel.

sich nur *immer kräftiger werdende* negative Doppelbrechung feststellen. so daß die Faser nach einiger Zeit dieselbe Optik erlangt wie vor der Osmierung (freilich mit geringerer Stärke der Doppelbrechung). Offenbar kommt mit dem Rückgange der Osmierung die ursprüngliche Optik der Markscheide hervor. Dabei scheint als vorübergehender Zustand auch die Doppelbrechung der nichtlipoiden Grundlage der Nervenfasern aufzutreten. Vielleicht darf man sich vorstellen, daß das Osmiumdihydroxyhydrat mit dem Lipoid irgendwie chemisch verankert ist und

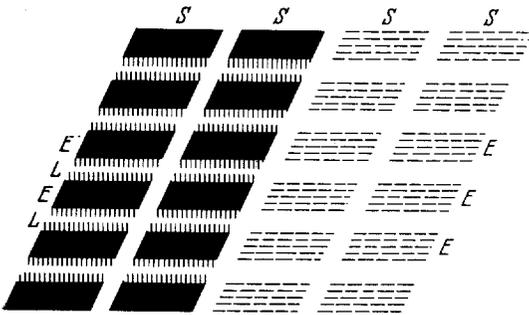


Abb. 17. Schema des Feinbaus der Markscheide: *S* die Stäbchen, *E* ihre eiweißartigen, *L* ihre lipoiden Anteile: in der rechten Hälfte der Abbildung ist die Markscheide in lipoidfreiem Zustande dargestellt und zugleich die Lage der Molekeln in den nichtlipoiden Schichten angedeutet.

diese Bindung durch die Rückverwandlung in Osmiumtetroxyd wieder gelöst wird. Daß jedenfalls die schließlich eintretende in bezug auf die Länge der Faser negative Doppelbrechung dem *Lipoid* zukommt, ergibt sich daraus, daß sie sogleich verschwindet, wenn Alkohol zugesetzt wird.

Versucht man die Schwärzung osmierter

Fasern durch *Kaliumpermanganatlösung* zu beseitigen, so tritt gleichzeitig mit der Bleichung *Einlagerung von Manganhydroxyd* ein, das die Faser *bräunt* und ihr *positive* Doppelbrechung in bezug auf die Länge verleiht<sup>1</sup>.

### III. Die Wirkung einiger anderer Reagenzien auf die Markscheide.

Den Versuch CRISTINIS (s. hier S. 659) wiederholend, habe ich Stücke des Hüftnerven vom Frosch einen bis mehrere Tage in 1%iger *Kaliumbichromatlösung* gelassen, dann daraus Fasern isoliert und unter dem Polarisationsmikroskop der Wirkung absoluten Alkohols ausgesetzt. Der optische Erfolg dieser Versuche war im wesentlichen derselbe wie bei Fasern, die sogleich mit absolutem Alkohol behandelt wurden. Die Markscheide verlor ihre in bezug auf die Länge negative Doppelbrechung und an deren Stelle trat eine schwache, aber noch deutlich mit der Gipsplatte Rot I nachweisbare positive. Übrigens ist die strukturelle Erhaltung der Markscheide durch Kaliumbichromat wesentlich schlechter als bei sofortiger Alkoholbehandlung isolierter Fasern.

Zu entsprechendem Ergebnis führte die Untersuchung *formfixierter* Fasern; bei Zusatz von absolutem Alkohol trat das Neurokeratingerüst hervor; aber trotzdem ließ seine Masse nach dem Verschwinden der

<sup>1</sup> Vgl. SCHMIDT, W. J.: Der Einfluß von Kaliumpermanganat auf die Doppelbrechung der Markscheide der Nervenfasern und der Außenglieder der Sehzellen. Z. Zellforsch. 23, 261—269 (1935).

negativen Doppelbrechung der Markscheide schwach positive in bezug auf die Länge wahrnehmen.

#### IV. Der Feinbau der Markscheide.

Das lipoidhaltige Material der Markscheide (der zylindrokonischen Segmente) erscheint in frischem Zustande völlig *homogen*; selbst die Untersuchung von Nervenfasern in ultraviolettem Lichte hat, nach den guten Abbildungen von A. MASSAZZA<sup>1</sup> zu schließen, in diesem Punkte nicht weiter geführt. Auch leuchtet die Myelinscheide zwischen gekreuzten Nikols selbst bei höchsten Vergrößerungen durchaus *einheitlich* auf, es lassen sich nicht etwa doppelbrechende Teilchen unterscheiden, die in ein andersartiges Material eingelassen wären.

Nun bringt die Einwirkung auch der bestfixierenden Mittel, wie Osmiumsäure und selbst bei isolierten Fasern, die von NAGEOTTE als Mitochondrien gedeuteten *Stäbchen*, wenn auch oft zu einem Netz verklebt, zum Vorschein. Damit erhebt sich die Frage, ob die genannten Reagentien nur die optischen Bedingungen für das *Sichtbarwerden* der Stäbchen schaffen, oder aber diese Stäbchen durch eine entsprechende Zerklüftung eines von Hause aus homogenen Materials (als Artefakt) neu entstehen. Daß diese Gebilde sich nach Art von Mitochondrien darstellen lassen, ist kein ausreichender Beweis für ihre vitale Existenz; wohl aber spricht in diesem Sinne ihre eigenartige *Anordnung*, die Schrägstellung bzw. Kreuzung, Strukturverhältnisse, die nach Behandlung mit absolutem Alkohol wie mit Osmiumsäure in gleicher Weise hervortreten und schwer als Wirkung von Fixierung verständlich sind. Entweder wird man mit vitaler Existenz der Stäbchen rechnen wollen, oder mit einer präformierten Spaltbarkeit der Markscheide in bestimmten Richtungen, die sich in dem leicht eintretenden Zerfall in Stäbchen äußert, zwei Auffassungen, die nicht sehr verschieden sind. Ich möchte mit NAGEOTTE glauben, daß die Stäbchen vital vorgebildet sind, aber im unversehrten Zustande der Markscheide so dicht stehen, daß sie vom Mikroskop nicht mehr aufgelöst werden können. Erst wenn eine gewisse Lockerung ihres Gefüges eingetreten ist, werden sie der Beobachtung zugänglich. Die *Stäbchen* nun sind, wie auch NAGEOTTE annimmt (s. hier S. 658) und bei ihrer Deutung als Mitochondrien als selbstverständlich gelten kann, mit dem *doppelbrechenden Lipoid imprägniert*. Dieses trennt sich unter dem Einfluß gewisser Reagentien von der eiweißartigen Grundlage und gerät in den Raum zwischen den Stäbchen; so kommt es zur Lockerung des Gefüges der Stäbchen und damit zu ihrem Sichtbarwerden.

Diese Auffassung von der mikroskopisch wahrnehmbaren Struktur der Markscheide als richtig vorausgesetzt, ergeben sich aus den beobachteten Erscheinungen der *Doppelbrechung* die folgenden Schlüsse

<sup>1</sup> MASSAZZA, A.: L'istologia del sistema nervoso alla luce ultravioletta. Nota I. La struttura della fibra nervosa a fresco. Arch. ital. Anat. 26, H. 1 (1929).

betreffend den *Feinbau*. Die frische Markscheide ist *positiv einachsig* doppelbrechend mit *radial* gelegener optischer Achse infolge der orientierten Einlagerung des doppelbrechenden Lipoides. Denn einerseits verschwindet nach dem Ausziehen des Lipoides die negative Doppelbrechung und andererseits scheiden sich aus dem extrahierten Lipoid durch Verdunsten des Lösungsmittels positiv doppelbrechende Sphäriten bzw. Myelinfiguren ab, welche der Oberflächenspannung unterliegen gleich einer Flüssigkeit. Wie zuerst von AMBRONN erkannt und von vielen späteren Autoren betont wurde, besitzt das Myelin der Markscheide offenbar die Eigenschaften „*flüssiger Kristalle*“ (Parakristalle), als deren feingebauliches Kennzeichen nach heutiger Einsicht *Parallelisierung langgestreckter Molekeln* gilt, wobei die *optische Achse* in die *Längsrichtung* der Molekeln fällt. Demnach nötigt die Optik der frischen Markscheide zur Annahme, daß die darin enthaltenen Lipoidmolekeln mit ihrer Länge *radial* stehen. Da nun weiter für fettartige Substanzen bekannt ist, daß ihre Molekeln paarweise zusammentreten, so z. B. in den orientierten Fett- und Wachsschichten, die sich durch Pressung und Erwärmung zwischen Metallplatten herstellen lassen, so wird man auch wohl bei den Lipoiden der Markscheide mit Doppelmolekeln rechnen dürfen<sup>1</sup>.

Nach *Ausziehen des Myelins* aus der Markscheide der Nervenfasern wird die Markscheide *negativ einachsig doppelbrechend* wiederum mit *radial* gelagerter optischer Achse. Diese Doppelbrechung ist ganz oder zum Teil *Formdoppelbrechung*; denn durch Überführen mit Alkohol extrahierter Nervenfasern in Balsam wird sie bedeutend geschwächt (s. S. 664). Negativ einachsige Formdoppelbrechung verlangt aber nach der WIENERSCHEN Theorie des Mischkörpers die Anwesenheit von Teilchen, die ihren *größten Durchmesser senkrecht zur optischen Achse*, also *parallel der Oberfläche der Markscheide*, haben und durch ein Medium abweichender Brechzahl getrennt sind. Ich möchte glauben, daß die Anwesenheit solcher Teilchen mikroskopisch angedeutet ist in dem gelegentlich zu beobachtenden Aufblättern der Markscheide, in der Neigung der Stäbchen, in plättchenartige Bestandteile zu zerfallen (s. S. 667). Dabei mag dahingestellt bleiben, ob die mikroskopisch eben noch wahrnehmbaren Plättchen selbst die *Elemente* des formdoppelbrechenden Systems sind, oder ob sie nur das Hervortreten einer Spaltbarkeit des nichtlipoiden Materiales parallel der Oberfläche der Markscheide ankünden, wie es die Lagerung des größten Teilchendurchmessers für diese Richtung erwarten läßt. Gliederung der Markscheide parallel der Oberfläche wurde von verschiedenen Autoren beobachtet<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Vgl. betr. dieses Absatzes SCHMIDT, W. J.: Polarisationsoptische Analyse des submikroskopischen Baues von Zellen und Geweben. ABDERHALDEN, Handbuch biologischer Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 10, S. 435—665. 1934. — Ferner G. BOEHM: Das Röntgendiagramm des Nerven. Kolloid-Z. **62**, 22—26 (1933).

<sup>2</sup> Vgl. z. B. NAGEOTTE, J.: Betrachtungen über den tatsächlichen Bau und die künstlich hervorgerufenen Deformationen der markhaltigen Nervenfasern. Arch. mikrosk. Anat. **77**, 245—279 (1911), s. S. 248—251.

Über die Lage der *Molekeln* in dem nichtlipoiden Material läßt sich ein gewisser Aufschluß erhalten aus dem *Dichroismus* der mit *Gold gefärbten Markscheide*. An Längsschnitten durch den Hüftnerve vom Frosch (Fixierung mit ZENKERS Lösung), die mit Goldchlorid und Hydrazinhydrat behandelt waren, bot die Markscheide ähnlichen Dichroismus wie der Achsenzylinder dar. Sie erschien nämlich in dem parallel ihrer Länge schwingenden Licht bläulich, in dem senkrecht dazu schwingenden rötlich. Daraus muß, im Hinblick auf den Dichroismus faseriger Gebilde geschlossen werden<sup>1</sup>, daß die Molekeln in der Markscheide mit ihrer Länge tangential verlaufen, wie im einzelnen bleibt freilich noch ungewiß.

So gelangt man insgesamt zu einer Vorstellung vom Feinbau der Markscheide, wie er in Abb. 17 S. 672 schematisch dargestellt ist; die Markscheide gliedert sich zunächst in die schrägstehenden Stäbchen (*S*), die, obwohl ihrer Größe nach der mikroskopischen Beobachtung noch zugänglich, in frischem Zustand so dicht stehen, daß ihr Gefüge nicht mehr aufgelöst werden kann. Jedes Stäbchen enthält lipoides und nichtlipoides Material. Gemäß der Spaltbarkeit (Plättchenaufbau der Stäbchen parallel der Oberfläche) wird man annehmen dürfen, daß abwechselnd lipoides und nichtlipoides Schichten miteinander abwechseln<sup>2</sup>; in den lipoiden Schichten (*L*) liegen gemäß der Optik die Molekeln mit der Länge senkrecht zur Oberfläche der Markscheide, in den nichtlipoiden (*E*) parallel dazu.

Damit ergeben sich beachtenswerte Übereinstimmungen im Bau von Markscheide und Außenglied der Sehzellen. In beiden Fällen überlagern sich negativ einachsige Formdoppelbrechung, hervorgerufen durch ein geschichtetes nichtlipoides Material, und positiv einachsige Doppelbrechung des gerichtet eingelagerten Lipoides, wobei die optische Achse für beide Arten der Doppelbrechung parallel geht. Strukturell entspricht also die Länge des Außengliedes der radialen Richtung der Markscheide. Jedoch ist zu beachten, daß die Formdoppelbrechung der Markscheide viel schwächer ist als die des Außengliedes.

### Zusammenfassung.

1. Behandlung frischer isolierter Nervenfasern (Nervus ischiadicus des Frosches) mit *absolutem Alkohol* extrahiert das Lipoid aus der Markscheide; dabei tritt an Stelle der positiv einachsigen Doppelbrechung mit radialer optischer Achse (die auf der orientierten Einlagerung des Lipoides beruhte) *schwache, negativ einachsige (Form-) Doppelbrechung* wieder mit *radial gelagerter optischer Achse*, die den *nichtlipoiden Anteilen* der Markscheide zukommt. Zugleich wird die Doppelbrechung des stark geschrumpften Axons beträchtlich gesteigert. Ähnliches gilt auch für

<sup>1</sup> Vgl. SCHMIDT, W. J.: Dichroitische Färbung tierischer und pflanzlicher Gewebe. Handbuch biologischer Arbeitsmethoden von E. ABDERHALDEN, Abt. V, Teil 2/2, S. 1835—1924. 1934. — <sup>2</sup> Vgl. NAGEOTTE, J.: Arch. mikrosk. Anat. 77, S. 249 (1911).

Nervenfasern, die erst nach Fixierung mit Kaliumbichromat oder Formol mit Alkohol behandelt werden.

2. Bei Alkohol- (und Osmium)behandlung tritt ein Aufbau der Markscheide aus *schräggestellten Stäbchen* hervor (Mitochondrien NAGEOTTES), die zu einem feinsten Netz verkleben. Das ursprüngliche Gefüge der Markscheide wird dadurch gelockert, daß die Lipoide durch die Wirkung der Reagentien aus den Stäbchen heraustreten, sich zwischen ihnen ansammeln und dort winzige positive *Sphärüten* bilden, die durch Lösung rasch verschwinden.

3. Bei der Behandlung mit *schwächerem Alkohol* erreichen die genannten Sphärüten beträchtliche Größe; sie formen das zwischen ihnen zusammengedrängte lipoidfreie Material zum „*Neurokeratingerüst*“. Die in dessen Maschen zunächst noch liegenden Sphärüten lösen sich allmählich in Alkohol und zugleich entquillt das Gerüst.

4. Durch die Behandlung mit *Osmiumsäure* wird (im wesentlichen) die Doppelbrechung der Lipoide aufgehoben; auch hier kommt es zu den Anfängen der Bildung eines Neurokeratingerüsts. Die negativ einachsige Doppelbrechung des nichtlipoiden Materials läßt sich aber schwer fassen, weil das in die Markscheide orientiert eingelagerte Osmiumdioxidhydrat schwache positiv einachsige Doppelbrechung mit radialer optischer Achse erzeugt.

5. Aus *osmierten* Nervenfasern löst *Wasserstoffsuperoxyd* das eingelagerte Osmiumdioxidhydrat heraus; zugleich nimmt die Markscheide wieder die *ursprüngliche* positive *Doppelbrechung* mit radialer optischer Achse an. Offenbar wird das Lipoid wieder in seinen ursprünglichen Zustand zurückversetzt.

6. Bei *Kaliumpermanganatbehandlung osmierter* Nerven wird das Osmiumdioxidhydrat ausgetauscht gegen orientiert eingelagerten *Braunstein*, wodurch die Markscheide negativ einachsige Doppelbrechung mit radialer optischer Achse erhält.

7. Die *GOLGI-Ringe* lassen sich durch langdauernde Osmierung geschwärzt darstellen; noch bevor sie so deutlich sichtbar werden, verraten sie sich durch die positive *Doppelbrechung* der sie aufbauenden Fibrillen.

8. Aus der polarisationsoptischen Analyse folgt, daß die *Molekeln* des *Lipoides* (in den Stäbchen) *normal zur Oberfläche* der Markscheide stehen. Im nichtlipoiden Material dagegen liegt der größte Durchmesser der Teilchen *parallel* der Oberfläche. Damit ergeben sich bemerkenswerte Analogien im Feinbau der Markscheide und des Außengliedes der Sehzellen.