Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 8 (1952)

Heft: 5-6

Artikel: Neue Methoden zur morphologischen Erforschung des Nervensystems

Autor: Vonwiller, P.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307110

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D. K. 611.8-018

Neue Methoden zur morphologischen Erforschung des Nervensystems

Von **P. Vonwiller**, Rheinau

Unsere neuen Methoden zur morphologischen Erforschung des Nervensystems stellen nur einen Auschnitt dar aus einem viel umfassenderen Programm unserer Untersuchungen. Tatsächlich erstrecken sie sich auf das Gesamtgebiet der mit dem Mikroskop arbeitenden Biologie und Medizin. Die während 25 Jahren zusammengetragenen Ergebnisse wurden 1945 in unserem Werke «Lebendige Gewebelehre» (erschienen bei Zollikofer, St. Gallen) in übersichtlicher Weise zusammengestellt. Seither ist 1950 auch eine Ausgabe in spanischer Sprache (Verlag Nova, Buenos Aires) erschienen mit dem Titel «Los tejidos vivos». Was im folgenden besonders dargestellt werden soll, ist die Fortsetzung dieser Untersuchungen mit spezieller Anwendung auf das Nervensystem.

Im wesentlichen handelt es sich um zwei Methoden: 1. die Erforschung der lebenden Strukturen im Sinne einer früher kaum möglichen Untersuchungsweise, nämlich nach dem Grundsatz der Beobachtung «in vivo et in situ», d. h. also der verschiedenen Organe, Gewebe und Zellen an ihrem natürlichen Standort im lebenden Organismus und mit Hilfe aller, auch der stärksten mikroskopischen Vergrößerungen. Dazu war die Schaffung einer ganz neuen Methodik und einer vorher nicht existierenden Apparatur nötig, wobei das Mikroskop völlig umgebaut werden mußte und sowohl dessen optische als auch seine mechanischen Teile eine grundsätzliche Änderung erfuhren. Optisch wurde fast ausschließlich mit der sogenannten Auflichtmikroskopie gearbeitet, ausgehend von den klinischen Methoden der Kapillaroskopie und Spaltlampenmikroskopie, und ein Verfahren entwickelt, welches, im Gegensatz zu diesen Methoden, die auf schwache Vergrößerungen beschränkt bleiben, auch die Anwendung starker und stärkster Vergrößerungen ermöglicht. Da man es oft mit sehr großen Objekten zu tun hat, z. B. mit einem lebenden Menschen, so mußte auch der mechanische Teil des Mikroskops den neuen Bedingungen angepaßt werden, was durch Säulenstative, Kreuzschlitten, großen Kreuztisch, besondere Halteapparate usw. erreicht wurde. Um nicht nur oberflächlich gelagerte, sondern auch in der

Tiefe des Organismus gelegene Teile der Untersuchung zugänglich machen zu können – um z. B. am lebenden Herzen mikroskopische Untersuchungen anzustellen –, war ferner die Entwicklung einer besonders gestalteten, den Organismus und das zu untersuchende Organ ganz besonders schonenden chirurgischen Technik nötig, wie dies am Beispiel der Kapillaroskopie mit den stärksten Vergrößerungen an der Membrana hyaloidea des lebenden Frosches durchgeführt wurde. In besonderen Fällen wurde auch die Mikromanipulation mit unseren optischen und mechanischen Neuerungen kombiniert, z. B. zu Injektionen von Farbstoffgemisch in kleinste Arterien der Gehirnoberfläche am lebenden Tier.

Es ist klar, daß ein so umfassendes Programm nicht von einem einzelnen allein in allen Teilen realisiert werden konnte, sondern eine große Anzahl von Mitarbeitern und ungewöhnliche Mittel vonnöten waren, und daß eine gewisse Arbeitsteilung erfolgen mußte. Währenddem wir in Zusammenarbeit mit Kollege Prof. *Kaiser* in Wien den Nachweis der Anwendung unserer Methoden im Gebiete der Virusforschung (spez. Vaccine) durchführten (1950), erfolgten, nachdem schon früher durch Zusammenarbeit mit *Vannotti* die Ausbildung einer Kapillaroskopie mit starken Vergrößerungen und durch *Vannotti* deren Anwendung auf klinische Fälle von Hypertonie (1932) durchgeführt worden war, in neuester Zeit die Arbeiten von Antoine und Grünberger über Frühstadien des Karzinoms an der Portio vaginalis des Uterus mit Hilfe des von *Antoine* geschaffenen Kolpomikroskops (*Reichert*), das eben jetzt in endgültiger Form herausgekommen ist. Es kann wohl mit Bestimmtheit vorausgesehen werden, daß eine ganze Reihe von anderen klinischen Disziplinen diesem Beispiel folgen werden – wir meinen vor allem auch die Dermatologie –, und es wäre wohl überaus fruchtbar, wenn auch die Physiologie sich aktiver mit diesem neuen Gebiet befassen wollte, und zwar sowohl im normalen als ganz besonders auch auf pathologisch-physiologischem Felde.

2. Wir selber haben uns in Anpassung an die Kriegs- und Nachkriegsverhältnisse darauf verlegt, auf histologischem Gebiete neue Fortschritte zu erzielen, die sich vor allem auf das Gebiet des Nervensystems beziehen, und also nach den oben genannten Grundsätzen einerseits das lebende Nervensystem mikroskopisch weiter untersucht und anderseits aus diesen Lebendbeobachtungen erwachsende neue histologische Methoden ausgebildet.

Aus unseren neueren Vitaluntersuchungen über die morphologische Erforschung des Nervensystems erwähnen wir die Sichtbarmachung eines großen markhaltigen Nerven am lebenden Organismus durch die lebende, unverletzte Haut hindurch, also in vivo et in situ, und dessen mikro-

photographische Aufnahme. Wenn man bedenkt, daß es bis in neuere Zeit unmöglich war, lebende markhaltige Nerven in unverändertem Zustande längere Zeit hindurch mikroskopisch zu beobachten, indem nach den gewöhnlichen histologischen Methoden der Frischbeobachtung an aus dem Körper entnommenen Nervenfragmenten alsbald die sogenannten Myelinfiguren auftreten und die weitere Beobachtung verunmöglichen, so bietet unser neues Verfahren offenbar größeres Interesse. Seinen Vorläufer hatte es in den schon vor 20 Jahren durchgeführten Untersuchungen unseres Mitarbeiters *Vogt*, welcher am lebenden Meerschweinchen den Nervus peroneus unterhalb des Fibulaköpfchens durch einen Hautschnitt freilegte und so den wirklich lebenden Nerven, worin noch das Blut zirkulierte, mit den stärksten Vergrößerungen beobachten und auch photographisch aufnehmen konnte. Unser neues Verfahren bedient sich als Objekt kleiner Forellen, bei welchen einer der größten Nerven des Organismus, der Nervus lateralis, so dicht unter der ungewöhnlich durchsichtigen Körperhaut verläuft, daß man ihn mit unserem Verfahren in vivo et in situ, und zwar ganz ohne jede Verletzung der Haut, sowohl mit stärksten Vergrößerungen beliebig lang beobachten und ihn auch mikrophotographisch aufnehmen kann. Außerdem kann man auf gleiche Weise auch die Pigment- und übrigen Farbzellen der lebenden Haut sowie auch die Blutzirkulation in der lebenden Iris am völlig unverletzten Tier mit allen beliebigen Vergrößerungen aufs genaueste beobachten.

Aus den uns in den letzten Jahren beschäftigenden histologischen Untersuchungen am Nervensystem erwähnen wir vor allem die Netzhautuntersuchungen sowie solche am Gehirn, Rückenmark und peripheren Nervensystem. Im Gegensatz zu *Goldmann* und *Spatz* verwendeten wir Trypanblau und ähnlich wirkende Farbstoffe nicht in ungemischter Lösung, sondern mit Beigabe kleiner Dosen von Alkohol und Essigsäure. Diese scheinbar unwesentliche Änderung hat aber grundsätzliche Bedeutung. Während nämlich den früheren Beobachtern immer auffiel, daß bei Injektion von Trypanblau in den lebenden Organismus sich wohl fast alle Organe färbten, mit einziger Ausnahme des Nervensystems, erreicht man durch unser Verfahren eine geradezu elektive Färbung des Nervensystems. Am elektivsten erwies sich dabei das Nigrosin. Aber die Schwierigkeit besteht darin, daß unter den zahlreichen im Handel sich befindenden Nigrosinen es schwer ist, ein wirklich neurotropes Nigrosin herauszufinden. Mit einem solchen aber erzeugt man Bilder, welche den Silberimprägnationsbildern sehr ähnlich sind, aber eben auf eine methodisch grundsätzlich ganz verschiedene Weise zustande kommen, so z. B. die großen Ganglienzellen der Netzhaut mit allen Dendriten und dem Axon tief schwarz in sonst farbloser Umgebung.

Unsere Methoden liefern, im Gegensatz zur vitalen Methylenblaufärbung, die oft nachträglich abblaßt, sicher haltbare Präparate und erzeugen im Gegensatz zu den Silberimprägnationen, welche oft aus unbekannten Gründen versagen, bei gleicher Anwendung auch immer das gleiche Ergebnis.

In ihrer Anwendung am frischen Gewebe ist von Bedeutung, daß unsere Farbstoffgemische nur langsam ins Gewebe eindringen. An streng nach Schichten geordneten, dünnen Organen, wie der Netzhaut, ergibt sich damit der Vorteil, daß man nach Belieben entweder nur die oberflächlichsten Schichten oder, bei längerer Einwirkung, auch die tieferen anfärben und außerdem hier entweder von der Glaskörperseite oder von der Aderhautseite her das Gemisch einwirken lassen kann oder auch gleichzeitig zwei verschiedene Farbstoffgemische, das eine von außen, das andere von innen her eindringen lassen kann. Zu diesem Zwecke haben wir ein besonderes Instrument, einen Mikrokompressor herstellen lassen. Dieser ermöglicht es, mit bloßen zwei Farbstoffgemischtropfen, z. B. mit Trypanblau von außen, Pirotroprot von innen her zu färben, so daß dadurch eine blaue Außen- und eine rote Innenzone und eine ungefärbt bleibende Mittelschicht entsteht, welche nachträglich noch am Schnitt mit Hämalaun nachgefärbt werden kann. Mit unseren Methoden gelang es, elektive Färbungen der Nervenfaserschicht und der Ganglienzellenschicht, ferner elektive Färbungen der Sinneszellen, vor allem auch der Zäpfchenelemente mit ihren charakteristischen peripheren und zentralen Fortsätzen, zu erzeugen sowie elektive Färbungen der beiden Limitantes. Für mikrophotographische Aufnahmen von über mehrere Ebenen sich erstreckende Gebilde, wie z. B. Ganglienzellen mit ihren Axonen und Dendriten, wurde eine besondere Art der Mikrophotographie von uns ausgearbeitet, die wir als «Stufenmikrophotographie» bezeichnet haben und welche die Aufnahme verschiedener Präparatebenen auf der gleichen photographischen Platte ermöglicht, wodurch diese verschiedenen Expositionen sich zu einem Gesamtbild ergänzen.

Ähnliche elektive Färbungen wie an der Netzhaut gelangen auch am Gehirn an Schlachthausmaterial durch Injektion in die Blutgefäße. Dabei zeigt sich die elektive Färbung zunächst in der Umgebung der injizierten Blutgefäße und breitet sich erst nach und nach in größeren Gebieten aus.

Wesentlich ist nun ferner, daß die gleichen Farbstoffgemische sich auch am konservierten Material verwenden lassen, wodurch also die Möglichkeit entsteht, das gleiche Objekt, z. B. die Netzhaut, das eine Mal vital bzw. supravital und elektiv und das andere Mal konserviert zu färben, wodurch sich natürlich wertvolle Vergleichspunkte ergeben.

Die Färbung am konservierten Material ist nicht so elektiv wie am frischen Material, aber es gelingt dennoch, z. B. die motorischen Vorderhornzellen mit all ihren Fortsätzen äußerst intensiv schwarz zu färben, also viel weitgehender als mit den gewöhnlichen histologischen Methoden.

In neuester Zeit haben wir unseren bisher üblichen Farbstoffen ein neues Glied hinzugefügt, nämlich das Wasserblau. Damit gelangen am konservierten Material des Froschischiadicus ausgesprochene Neurofibrillenfärbungen. Also auch diese feinsten Einzelheiten des Baues der Nerven sind unseren Verfahren zugänglich.

Ein Nebenprodukt unserer Untersuchungen stellen diejenigen über den färberischen Nachweis der Erythrocytenmembran dar. Im Anschluß an eine 1949 gemeinsam mit unserem Mitarbeiter *Bruman* mittels Trypanblau, Nigrosin und Alizarin erzeugte solche Färbung konnten wir neuerdings mit unserem Wasserblau-Essigsäure-Gemisch einen weiteren Fortschritt auf diesem Gebiete erzielen (Clermond-Ferrand 1952).

Zu den subtilsten Einzelheiten der Nervensystemstruktur gehören die Fortsätze der Sinneszellen, speziell der Stäbchen- und Zäpfchenzellen der Netzhaut. Man kennt sie grosso modo aus den Ergebnissen der früheren Methoden, also besonders der Silberimprägnationen von *Ramon y Cajal*, dessen klassisches Werk über die Netzhaut (in deutscher Übersetzung Wiesbaden 1894) einen Höhepunkt der Netzhautforschung darstellt. Mit den gleichen Methoden hat in neuerer Zeit *Polyack* (Chicago 1941) dieses Thema in einem umfangreichen und reich illustrierten Werke weitergeführt. Aber trotzdem bleiben zahlreiche Probleme noch ungelöst. So pflegen die Silbermethoden jeweils einzelne Zäpfchen- und Stäbchenelemente mit ihren Fortsätzen darzustellen, währenddem sie doch, vor allem die Stäbchen, in ungeheurer Menge vorhanden sind. Methoden, welche nun alle diese Elemente, ebenfalls mit deren so charakteristischen Fortsätzen, gleichzeitig darstellen würden, könnten also eine willkommene Ergänzung zu den die Verhältnisse leicht als zu einfach erscheinen lassenden Silberimprägnationsmethoden bilden. Eine solche Methode sind wir nun im Begriffe zu entwickeln.

Da nun diese Elemente, vor allem ihre Achsenzylinder und deren Endigungen, zu den allerverletzlichsten Formelementen des Organismus gehören und schon gleich nach dem Tode sich verändern und zerfallen, so ist absolut frisches Material dazu unerläßlich, ferner allerbeste Fixierung, vor allem mit Flemmingscher Lösung, sodann Färbung mit Wasserblau-Essigsäure-Gemisch, nach Vorfärbung der Kerne mit Eosin-Alizarin, sorgfältigste Einbettung und dünnste Schnitte. Auf diese Weise gelingt es, diese zartesten Gebilde im Schnitt auf eine vorher unbekannte Weise darzustellen.

Durch die von uns angewendeten neuen Methoden gelingt es also, viele und zarteste Formgebilde des Nervensystems in vivo et in situ zu beobachten und sie in möglichst lebenswahrer Form im Präparat darzustellen.

Zusammenfassung

1. Es wird die Beobachtungsmethode des Nervensystems «in vivo et in situ» beschrieben und an einem neuen Beispiel, der Beobachtung eines großen markhaltigen Nerven, des Nervus lateralis, im unverletzten lebenden Fischorganismus, mit Einschluß auch der stärksten Vergrößerungen, durchgeführt und außerdem auch noch durch mikrophotographische Aufnahme des Befundes erweitert.

2. Die mit neuartigen Farbstoffgemischen am frischen und am konservierten Material durchgeführten Färbungen des Nervensystems wurden durch Verwendung eines Wasserblau-Essigsäure-Gemisches weiter entwickelt, womit Färbungen der Sinneszellen der Netzhaut mit ihren sonst so besonders schwer darstellbaren Fortsätzen an Rindernetzhäuten und Neurofibrillenfärbungen am Froschischiadicus erhalten wurden.

3. Ein Nebenprodukt unserer Untersuchungen stellt die färberische Darstellung der Erythrocytenmembran in unseren Netzhautschnitten dar.

Résumé

1. L'auteur décrit une méthode d'examen du système nerveux «in vivo et in situ», en particulier d'un grand nerf à myéline, le nervus lateralis, que l'on peut observer sur le poisson vivant et intact, à l'aide des grossissements les plus forts, et il montre des prises de vue microphotographiques.

2. En appliquant des colorants nouveaux sur du matériel frais ou conservé, l'auteur a pu, à l'aide d'un mélange de bleu-acide acétique, colorer le système nerveux et mettre en évidence les cellules sensitives de la rétine avec leurs prolongements d'ordinaire si difficiles à colorer (sur des rétines de bœuf) et les neurofibrilles du nerf sciatique de la grenouille.

3. Un résultat intéressant et accessoire de ses recherches est la coloration des membranes des érythrocytes dans les coupes de rétine.

Riassunto

1. L'A. descrive un nuovo metodo di ricerca sul sistema nervoso «in vivo et in situ» eseguito su un grosso nervo mielinico, il nervo laterale del pesce vivo e illeso. Le ricerche furono pure eseguite con i massimi ingrandimenti e le microfotografie.

2. Le colorazioni di materiale fresco e conservato ottenute con nuove miscele di sostanze coloranti furono sviluppate oltre usando una miscela di blu acqueo e acido acetico. Fu così possibile ottenere colorazioni delle cellule sensitive del retina del vitello e specialmente dei loro tentacoli di solito difficilmente rappresentabili e delle neurofibre del nervo ischiadico della rana.

3. Fu pure possibile impregnare con i dati coloranti la membrana degli eritrociti.

Summary

1. The methods for the observation of the nervous system *in vivo et in situ* are described and demonstrated with a new example: the observation of a large medulated nerve, the N. lateralis, in the undamaged living fish, including the highest magnifications. Microphotographs of the findings are given.

2. Staining of the nervous system with new dye mixtures, on fresh and preserved material, has been extended by the use of an aqueous blue acetic acid mixture. Staining of the sensory cells of the retina, with their processes which are otherwise so hard to demonstrate, was obtained in the ox retina by this method and also stains of neuro-fibrilli in the frog ischiadicus.

3. As a bye-product of these investigations, we obtained a stain-demonstration of the erythrocyte membrane in our retina sections.

Vonwiller, P.: Lebendige Gewebelehre. Eine Histophysiologie auf neuer Grundlage. Kommissionsverlag Zollikofer & Co., St. Gallen 1945. Ausgabe in spanischer Sprache unter dem Titel: Los Tejidos Vivos. Verlag Nova, Buenos Aires 1950. – *Kaiser, M.,* und *Vonwiller, P.:* Hdb. Virusforsch. II. Ergänz.band S. 23. Springer, Wien 1950. – *Vonwiller, P.,* und *Bruman, F.:* Mikroskopie **4,** 22 (1949). – *Vonwiller, P.,* und *Hufschmidt, H.:* Mschr. Psychiatr. **120,** 411 (1950). – *Vonwiller, P.:* Mikroskopie **3,** 65 (1948); Acta Anat. **1,** 191 (1945). – *Vannotti, A.:* Z. klin. Med. **122,** 362 (1932). – *Antoine, T.,* und *Grünberger, V.:* Klin. Med. **4,** 575 (1949).

Weitere Mitteilungen erfolgten an den Kongressen der Association des Anatomistes in Paris 1947, Straßburg 1948, Lyon 1949, Nancy 1951 und Clermond-Ferrand 1952 sowie am internationalen Anatomenkongreß in Oxford 1950 und am Neurovegetativen Symposion in Überlingen 1951 sowie auch an mehreren Versammlungen der freien Vereinigung der Anatomen an schweizerischen Hochschulen und Versammlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft.