

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Geh.-Rat
Lubarsch.])

Eosin als Kernfarbstoff.

Von

Dr. H. Lubowski,
Berlin.

(Eingegangen am 15. Mai 1922.)

Bei dem großen Interesse der Eosinophilie oder besser Oxyphilie als normaler und pathologischer Erscheinung ist es ganz unmöglich, das Studium desjenigen Farbstoffes schon heute als abgeschlossen zu betrachten, der uns mit ihr zuerst bekanntgemacht hat. Erst wenn wir uns nicht mehr mit der Hervorhebung derjenigen Elemente begnügen, die bisher als eosinophil galten, sondern je nach den absichtlich veränderten Versuchsbedingungen bald den einen, bald den anderen Zellbestandteil vorzugsweise mit Eosin färben können, erst dann kennen wir es wirklich ganz. Und erst dann lassen sich aus der Färbung auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften, auf Wesen und Bedeutung der eosinophilen Zellgranulationen und Zellen Rückschlüsse ziehen, die zum Vergleich mit den Resultaten anderer Methoden dienen können.

In diesem Zusammenhang ist es nicht uninteressant, daß sich mit Eosin auch die Zellkerne färben lassen — eine Tatsache, die durchaus nicht neu, aber sehr wenig bekannt ist. Der bloße Begriff des sauren Farbstoffes, nicht die individuellen Eigenschaften des Eosins, scheint für die meisten mit kernfärbenden Eigenschaften ganz unvereinbar zu sein. Obwohl Pappenheim¹⁾ in seiner Farbochemie (1901) die kernfärbenden Eigenschaften des Eosins neben der anderer saurer Farbstoffe (z. B. des Bordeaux, Benzoazurin, Indulin) häufig erwähnt, findet man in Ehrlich-Krauses Enzyklopädie der mikroskopischen Technik²⁾ (1910) den Satz, daß der Zellkern „sich mit Eosin nur äußerst schwach und homogen bei längerer Anwendung stärkerer Lösungen färbt und beim Auswaschen die Farbe sehr leicht wieder abgibt“.

Der Diskussion dieses Satzes an der Hand eigener Beobachtungen ist die nachstehende Arbeit zum großen Teil gewidmet. Zunächst sei jedoch auf die Experimente von A. Fischer³⁾ hingewiesen, der, soweit ich sehen kann, am ausführlichsten über Kernfärbung mit Eosin (unter Alaunzusatz) berichtet hat.

Fischer versuchte unter anderem künstlich gefällte Granula aus reiner Nucleinsäure mit Eosin und anderen sauren Farbstoffen zu färben, und fand, daß sie ausgesprochen oxyphob waren. Die Oxyphobie der Nucleinsäuregranula war aber nicht unüberwindlich: wenn sie eine $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit 5 proz. Albumoselösung imprägniert und dann in Wasser abgespült wurden, so waren sie nicht mehr acidophob. Da nun das Chromatin der Zellkerne nach *Fischer* weniger streng oxyphob ist wie reine Nucleinsäure, so schloß er aus diesem Versuch, daß auch das Chromatin eine Verbindung von Nucleinsäure und Eiweiß darstellt, was auch den üblichen Anschauungen entspricht.

Fischer konnte die Oxyphobie der Nucleinsäuregranula auch dadurch überwinden, daß er die Eosinlösung nach dem Beispiel der technischen Wolffärberei durch Zusatz von Alaun oder von Schwefelsäure farbkräftiger machte. Durch die entstandenen Mischungen wurden nicht bloß die Nucleinsäuregranula, sondern auch die Zellkerne in Gewebsschnitten gefärbt. Nach kurzer Differenzierung in Alkohol mit 0,1% Kalilauge war sogar Nachfärbung des Plasmas mit einem Kernfarbstoff möglich (Inversionsfärbung).

Um den eingangs erwähnten Satz der Enzyklopädie diskutieren zu können, habe ich nicht bloß die Resultate *Fischers* in bezug auf das Verhalten der Zellkerne gegen Eosin-Alaunmischung nachgeprüft, sondern vor allem die Kernfärbung mit reinem Eosin ohne jeden Zusatz und ohne besondere Vorbehandlung der Schnitte studiert, da weder bei *Fischer* noch bei *Pappenheim* über die Kernfärbung mit reinem Eosin Näheres mitgeteilt wird.

Als Material dienten Schnittpräparate von menschlichen Organen, wie sie in der histologischen Abteilung des Pathologischen Instituts für die mikroskopisch-pathologische Diagnostik verwendet werden (Fixierung in Müller-Formol 24 Stunden, zunächst Gefrierschnitte, später Paraffinschnitte). Da die verschiedenen Organe, wie Leber, Niere, Gehirn usw., ja selbst gleiche Organe verschiedener Herkunft kein gleichartiges Verhalten zeigten, wurden sämtliche Versuche zunächst an den Schnitten ein und desselben individuellen Organs, und zwar wegen der großen, gleichmäßig verteilten Zellkerne an der Leber ausgeführt. Das betreffende Organ (Sektion Nr. 643, 1921) stammte von einem 64jährigen Manne, der an Paralysis agitans gelitten hatte und in der Nervenklinik der Charité verstorben war. Außer einer mäßigen Stauung war nichts Pathologisches an dieser Leber nachzuweisen.

Der verwendete Farbstoff war das gewöhnliche wasserlösliche Eosin, in Substanz bezogen von *Grübler* und in Aqua dest. gelöst. Da keine anderen Farbstoffe gleichzeitig oder nachträglich verwendet wurden, kann die Methode als *singuläre Eosinfärbung* bezeichnet werden.

I. Kernfärbung mit reinem Eosin.

Es soll zunächst die Frage behandelt werden, wie sich die Zellkerne gegen reines Eosin verhalten.

Daß das Chromatin nicht streng acidophob ist, war nach den Versuchen von *Fischer* zu erwarten. Sonst müßte ein in mittelstarker Eosinlösung gefärbter Schnitt statt der Kerne helle Lücken aufweisen, wenn man ihn nach der Färbung kurz in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Xylol und Canadabalsam bringt. Es sei gleich vorausgeschickt, daß dieses Bild — von einer Ausnahme, der Herzmusku-

latur, abgesehen — nicht an Gewebsschnitten, sondern nur an Blutausstrichen vorkommt, die mit Eosin allein behandelt sind. Und da das Eosin wohl am häufigsten zur Färbung von Blutpräparaten verwendet wurde, mag gerade das Verhalten der weißen Blutzellen viel zu dem Urteil über das Eosin beigetragen haben.

Die Sonderstellung der Blutzellen im Sinne schwererer Färbarkeit ist nichts Neues. *Pappenheim* und seine Schüler haben bei Gelegenheit öfter darauf aufmerksam gemacht, daß z. B. ein und dieselbe Zellart, wenn sie in einem lufttrockenen Gewebsausstrich (Milz- oder Knochenmarksausstrich) vorkam, sich bei gleicher Behandlung dort viel leichter färbte, als wenn sie im lufttrockenen Blutausstrich vorkam.

Meine ersten Versuche an Gewebsschnitten scheiterten zunächst an der Unechtheit der singulären Eosinfärbung überhaupt. Man muß einmal Schnitte ohne Vorbehandlung mit einem Kernfarbstoff aus dest. Wasser direkt in reines Eosin gebracht haben, um zu sehen, wie unecht bei kurzer Färbungsdauer *nicht bloß der Zellkern, sondern auch das Plasma* gefärbt wird, d. h. wie rasch die fast vollständige Entfärbung des Schnittes im Wasser und Alkohol eintritt. Das ist bei der leichten Löslichkeit des Eosins in diesen Medien auch nicht zu verwundern. Infolgedessen machte ich es mir zur Regel, mich beim Abspülen und Entwässern der Schnitte mit wenigen Sekunden zu begnügen.

*E. Fischer*⁴), der im Jahre 1875 als erster die Eosinfärbung für Schnittpräparate empfahl, schrieb — wahrscheinlich aus demselben Grunde — die lange Färbungsdauer von 10—12 Stunden vor. Bei Doppelfärbungen, z. B. bei der üblichen Hämalaun-Eosinfärbung, fällt die Unechtheit der Eosinplasmafärbung weniger auf, weil das vor dem Eosin angewendete Hämalaun (zum Teil durch seinen Alaungehalt) die nachfolgende Eosinfärbung günstig beeinflußt.

Erst von ungefähr 40 Minuten Färbungsdauer an wurde die Färbung mit reinem Eosin etwas echter und kräftiger, und man konnte nun beobachten, daß Plasma und Kerne etwa im gleichen Tone gefärbt waren. Es handelte sich aber nicht bloß um ein Überdecktsein der Kerne durch das gefärbte Plasma, durch das sie dann in derselben Farbe hindurchschimmerten. Denn an den dünnsten Stellen des Präparates, am Rande des Schnittes und in der Nähe der Zentralvenen, sah man deutlich, daß der Kern an sich sogar etwas dunkler gefärbt sein konnte als das ihn umgebende Plasma. Trotzdem machte diese Art der Kernfärbung keinen plastischen Eindruck — nicht weil das Eosin als saurer Farbstoff die Kerne, eben weil sie *Kerne* sind, nicht zu färben vermochte, sondern weil selbst im Falle optimaler Kernfärbung die *Nuance des Eosins an sich zu hell* ist. Erreicht es doch selbst in 10% wäßriger Lösung noch nicht die Undurchsichtigkeit etwa von *Mayers Carmin* oder gar die des Hämalauns. Wie wichtig dieser Umstand bei der mikroskopischen Be trachtung im durchfallenden Lichte sein muß, ist klar. Hierzu kommt noch, daß die von dem gelbroten Eosin hindurchgelassenen Strahlen viel weniger mit dem zusammengesetzten Tageslicht kontrastieren als

die von blauen Farben durchgelassenen Strahlen. Aus diesem Grunde sind Versuche über Kernfärbung auch mit dem *Phloxin*, dem Natrium- oder Kaliumsalz des Tetrabromtetrachlorfluoresceins, also einem nahen Verwandten des Eosins, angestellt worden, dessen Lösungen einen mehr *bläulichroten* Ton besitzen. Die Annahme, daß dementsprechend auch die Kernfärbung schöner ausfallen müßte, hat sich vollkommen bestätigt (siehe unten). Versuche mit anderen blaustichigen Verwandten des Eosins, z. B. dem Jodeosin, dem Spriteosin, dem Cyanosin, dem Rosebengale, stehen noch aus.

Am allerstörendsten aber ist beim Eosin die Mitfärbung des Plasmas, die ein deutliches Hervortreten selbst kräftig gefärbter Kerne verhindert. Es ist also nicht das eigentliche *Färben* der Kerne mit dem sauren Eosin unmöglich; wohl aber bereitet das *Herausdifferenzieren* der eosingefärbten Kerne aus dem mitgefärbten Plasma die Hauptschwierigkeiten. Es handelt sich somit um ein rein technisches, wahrscheinlich in vollkommenster Weise lösbares Problem weniger der Färbung als der Differenzierung.

Durch Zufall wurde ich auf den günstigen Einfluß erwärmten Leitungswassers und auf die Wirkung des Carbolxyols nach der Eosinfärbung aufmerksam und machte mir diese Erfahrungen für die Differenzierung meiner Leberschnitte in folgender Weise zunutze: Je nach der Färbungsdauer (40 Minuten bis 24 Stunden) wurden sie einige Sekunden bis 3 Minuten in Leitungswasser von 30—40° abgespült, rasch durch die Alkoholreihe gezogen, in reinem Xylol abgespült und vorsichtig in Carbolxyol übertragen. Wurden sie darin nicht sofort blasser (was bei sehr dünnen Schnitten und bei allzu heißem Wasser bisweilen vorkam), so konnten sie $\frac{1}{2}$ —3 Minuten im Carbolxyol liegen bleiben. Das erwärmte Wasser schien die Schnitte der Wirkung des Carbolxyols zugänglicher zu machen; denn ohne dasselbe habe ich nie das eben erwähnte rasche Ablassen im Carbolxyol nach der Färbung mit wäßrigem Eosin beobachten können. Für die Heißwasserdifferenzierung eigneten sich besonders Schnitte, die in konzentrierteren Farblösungen gefärbt waren; doch war 0,5% Eosin auch schon ausreichend. Versuche an Schnitten anderer Organe, die leichter färbbar waren als die Leber 643, lehrten, daß Zimmertemperatur für die Differenzierung unter Umständen schon genügen konnte.

Um bei meinen Leberschnitten die Resultate noch günstiger zu gestalten, versuchte ich die Wirkung der Wärme noch intensiver auszunutzen. Zu diesem Zweck wurde die Färbung nicht bei Zimmertemperatur, sondern im Paraffinschrank bei 36° und auch bei höheren Temperaturen vorgenommen.

Wenn vorher noch ein Zweifel an den kernfärbenden Eigenschaften des Eosins bestand, so wurde er durch diese Präparate vollständig be-

hoben. Es genügte, die Schnitte 30 Minuten lang in 0,5% wäßrigem Eosin bei 36° zu färben, sie dann, ohne abzuspülen, kurz durch die Alkoholreihe zu ziehen und einige Sekunden in Carbolxylol zu tauchen, um die Kerne deutlich dunkler gefärbt als das Plasma zur Darstellung zu bringen. An günstigen Stellen wurde das Plasma beinahe farblos, so daß eine noch schärfere Differenzierung nicht mehr denkbar war. Jeder, der unbefangen ein solches Bild betrachtet, müßte zu dem Schluß kommen, daß Zellkerne eosinophil sind. Ungünstig war nur der Umstand, daß sich bei dieser empfindlichen Methode die geringsten Schwankungen in der Dicke des Schnittes störend bemerkbar machten: die dickeren Stellen waren sehr oft zu wenig, die dünnsten Stellen zu stark durch den Alkohol und das Carbolxylol differenziert. An Paraffinschnitten, die später zur Nachprüfung verwendet wurden, trat dieser Fehler viel weniger störend hervor.

Höhere Temperaturen als 36° begünstigen die Kernfärbung mit Eosin noch mehr: ein Präparat, das 5 Minuten bei 60° gefärbt war, übertraf an Deutlichkeit bei weitem ein anderes, das bedeutend länger bei 36° gefärbt war. Nur muß man sich bei höheren Temperaturen vor der bald (etwa nach 20 Minuten) eintretenden Überfärbung des Plasmas hüten, die sich nicht mehr korrigieren läßt, ohne daß gleichzeitig die Kernfärbung leidet.

Die alkoholischen Eosinlösungen geben beim Färben in der Wärme ebensogut positive Kernfärbung wie die wäßrigen Lösungen. Bei Zimmertemperatur sind sie jedoch den wäßrigen Eosinlösungen unterlegen.

Die Wirkung der Wärme bei der singulären Eosinfärbung läßt sich folgendermaßen zusammenfassen: sie ergibt nicht nur eine raschere und intensivere Anfärbung des ganzen Präparates, sondern verändert auch den Typus der nachfolgenden Differenzierung: ohne Anwendung von Wärme geben Plasma und Kerne gleich rasch ihren Farbstoff ab. Bei Anwendung von Wärme dagegen wird das Tempo der Farbstoffabgabe von Kern und Plasma in dem Sinne gegeneinander verschoben, daß bei kurzer Differenzierung das Plasma relativ schneller entfärbt wird als die Kerne. Infolgedessen treten die eosingefärbten Kerne deutlicher hervor, wenn man nicht durch zu langes Differenzieren diese Tempounterschiede wieder verwischt und ausgleicht.

Zur Erklärung dieser Beobachtungen genügt noch nicht die Annahme, daß die Wärme das Diffusionsvermögen der Farblösungen erhöht; denn daraus würde noch nicht das ungleiche Verhalten von Kern und Plasma zu verstehen sein. Vielleicht ist es am wahrscheinlichsten anzunehmen, daß die Wärme auf die Schnitte trotz der vorangegangenen Fixierung in geringem Maße quellend wirkt. Und zwar erweist sich hierbei das Plasma im Vergleich zum Kern als der stärker quellbare Bestandteil, den es ja auch im Leben bildet. Der Unterschied im Quellungszustande

ergibt dann den Unterschied bei der Differenzierung, da der stärker aufgelockerte Bestandteil den Farbstoff leichter und rascher abgeben muß. Diese Erklärung ist ganz im Sinne *Heidenhains*, der trotz seiner Bevorzugung der chemischen Färbetheorie die Differenzierung als physikalischen Vorgang auffaßt, der von der Dichte der Zell- oder Gewebsbestandteile beeinflußt wird. *Heidenhain* gibt daher unter anderem den Rat, denjenigen Bestandteil, den man *nicht* gefärbt haben will, quellen zu lassen, damit er nachher die Farbe schneller abgabe. Die schwer korrigierbare Überfärbung bei längerer Anwendung sehr hoher Temperaturen (60°) müßte man dann im Gegensatz hierzu so auffassen, daß bei diesen Temperaturen nicht die Quellung, sondern vielmehr die Koagulation begünstigt wird, wie sie z. B. bei der Hitzefixation erstrebt wird.

Daß die obige Erklärung der Wärmewirkung richtig ist, läßt sich vielleicht aus der Tatsache schließen, daß *A. Fischer* (l. c.) mit gleichem Erfolge Laugenalkohol zur Differenzierung verwendete. Das Gemeinsame in der geschilderten Wirkung der Wärme und des Laugenalkohols kann aber nur darin liegen, daß sie beide Quellung hervorrufen, und zwar im Protoplasma stärkere als im Kern.

Ferner kann man als Beweis anführen, daß bei dünnen *Paraffinschnitten* die Anwendung von Wärme weder bei der Färbung noch bei der Differenzierung notwendig ist. Hier genügen schon die natürlichen Dichtigkeitsunterschiede zwischen Kern und Plasma; d. h. die dünne Plasmeschicht ist an sich so farbschwach und läßt sich so leicht aufhellen, daß die Kernfärbung auch bei Zimmertemperatur schon deutlich genug hervortritt.

Von der Wirkung des Carbolxyols bei der singulären Eosinfärbung kann man sich sehr leicht überzeugen, indem man die Präparate erst aus Xylol aufzieht und mikroskopisch betrachtet, sie nachträglich in Carbolxyol bringt, nochmals aufzieht und den Unterschied unter dem Mikroskop feststellt: die Kerne treten dann in dem leicht aufgehellten Plasma deutlicher hervor als vorher.

Worauf die Wirkung des Carbolxyols beruht, läßt sich schwer sagen. Farbwolken werden darin nicht abgegeben, obwohl Versuche lehrten, daß der Eosinfarbstoff in konzentrierter und verdünnter Carbonsäure im Gegensatz zu anderen Säuren löslich ist. Es wird angenommen, daß die Carbonsäure gleich anderen Aufhellungsmitteln imstande ist, gewisse Teile des Präparats, hier also das Plasma, durch Quellung durchsichtiger zu machen. — Die günstige Wirkung der Carbonsäure bei der Eosinfärbung muß Veranlassung geben, sie auch als Zusatz zur Farblösung oder zum Alkohol auszuprobieren.

Über das Aussehen der nach der beschriebenen Methode gefärbten Leberschnitte ist folgendes zu sagen. An gelungenen Präparaten ist

die Allgemeinfärbung niemals rein rot oder gelblichrot, sondern stets bläulichrosa bis bläulichrot. Diesen Ton erhalten die Schnitte erst im Wasser oder im Alkohol. Vorher haben sie eine mehr oder minder kräftige orangerote bis rote Färbung. Die Kerne sind vor der Anwendung des Carbolxyols bisweilen, aber nicht immer, ziemlich homogen gefärbt. Im Carbolxyol findet jedoch je nach der Dauer seiner Einwirkung eine allmähliche Differenzierung der Kernbestandteile statt. Bei günstig abgepaßtem Zeitpunkt kann daher von einer homogenen Kernfärbung nicht mehr die Rede sein; man unterscheidet deutlich einzelne Chromatinbrocken in derselben Anordnung, wie man sie an Kontrollschnitten mit Hämalaukernfärbung zu sehen bekommt. Eine sichere Identifizierung bloß auf färberischem Wege ist natürlich nicht möglich. Ist man doch nicht einmal ganz einig darüber, ob das, was sich im Kern mit Hämalau, Carmin oder den basischen Anilinfarben färbt, stets ein und dasselbe ist. Man kann also nur sagen, daß die theoretischen Grundlagen für die Identität der eosingefärbten und hämalaugefärbten Bestandteile im Kern durch die *Fischerschen* Versuche gegeben sind, und daß auch der Augenschein *für* diese Identität spricht. Es lag keine Veranlassung vor, die beobachtete Kernfärbung einem besonderen, vom „Basichromatin“ räumlich getrennten „Oxychromatin“ zuzuschreiben. — Sehr deutlich sieht man die Kernkörperschen (die überhaupt als oxyphil gelten), oft auch eine eigens gefärbte Kernkontur, die wie eine Kernmembran wirkt und viel zur Deutlichkeit des Bildes beiträgt. Die Zwischenräume zwischen diesen Gebilden sind gleichfalls leicht gefärbt, was man als Mitfärbung des bei der Fixierung ausgefällten Kernsaftes deuten kann.

Bei längerer Anwendung des Carbolxyols verschwindet zuerst die Färbung des Kernsaftes, dann die der Chromatinbestandteile, danach die gefärbte Kontur des Kerns und zuletzt die Färbung der Kernkörperchen. Ungleich dicke Schnitte, bei denen die dünnsten Stellen stets am weitgehendsten entfärbt sind, zeigen bisweilen alle diese Entfärbungsstadien nebeneinander.

Für eine möglichst klare Herausdifferenzierung der Kerne kommt somit alles auf das sorgfältige Abpassen des richtigen Zeitpunktes an, d. h. man muß die Entfärbung durch das Carbolxyol nach Übertragung in reines Xylol öfter kontrollieren, ähnlich wie man auch bei der *Heidenhainschen* Eisenhämatoxylinfärbung die differenzierende Wirkung der Eisenalaunlösung mikroskopisch kontrolliert. Es sei daran erinnert, daß auch bei dieser letzteren Färbung *die Nucleolen sich später als das Chromatin entfärben*, weil man sonst geneigt wäre, darin eine Eigenheit des Eosins zu erblicken (Abneigung des Chromatins gegen den sauren Farbstoff).

Die Kerne der Bindegewebszellen in der Leberkapsel und im interlobulären Bindegewebe wetteifern in vielen Präparaten an Deutlichkeit

mit der Carminfärbung, was allerdings bei der Leber 643 aus unbekanntem Grunde nicht der Fall war. Statt dessen zeigte sie im interlobulären Bindegewebe sehr gut gefärbte kleine Rundzellenansammlungen, deren Kerne man im ersten Moment fast mit roten Blutkörperchen verwechseln konnte.

Die Kerne der *Kupfferschen* Sternzellen zeichnen sich häufig durch eine etwas stärkere Eosinophilie als die Leberzellkerne aus. Ihre Färbung erscheint außerdem mehr diffus. Dagegen weisen die Zellkerne der kleinen Gallengänge auf hellerem Untergrunde meist außerordentlich deutliche und zahlreiche Chromatinkörnchen auf, die manchmal in einem zierlichen Kreis angeordnet sind.

Im Gegensatz zu dem eingangs zitierten Satz der Enzyklopädie geht somit aus allen diesen Versuchen hervor, daß *reines Eosin bei singulärer Färbung zu einer kräftigen* (soweit man das von einer so hellen Farbe überhaupt erwarten kann) und bei geeigneter Nachbehandlung durchaus *nicht homogenen Kernfärbung befähigt* ist. Mit 0,5 proz. Lösungen und 30 Minuten langer Färbungsdauer bei 36°, bei höherer Temperatur auch mit schwächeren Konzentrationen bis 0,2%, läßt sich dieser Erfolg bereits erzielen. Stärkere Lösungen sind also keine unerlässliche Bedingung. Nur hat man bei höheren Konzentrationen als 0,5% den Vorteil, daß man bei der Nachbehandlung nicht so vorsichtig und rasch zu arbeiten braucht. — Die relativ lange Färbungsdauer (im vorliegenden Falle 30 Minuten bei 36°) fällt nicht dem Eosin als *Kernfarbstoff*, sondern dem Eosin überhaupt zur Last, weil auch das Plasma bei singulärer Färbung unter dieser Zeit sehr unecht gefärbt wird. (Die Unechtheit der Eosinfärbung ist auch in der technischen Färberei eine bekannte Tatsache.) Ausdehnung der Färbungsdauer bis auf 48 Stunden bei Temperaturen nicht über 36° hat keinen nachteiligen Einfluß, wenn man bei der Nachbehandlung darauf Rücksicht nimmt.

Der von mir diskutierte Satz, daß sich die Zellkerne mit Eosin „nur äußerst schwach und homogen bei längerer Anwendung stärkerer Lösungen färben und beim Auswaschen die Farbe sehr leicht wieder abgeben“, verliert also bei einigermaßen angepaßter Technik (kurze Entwässerung, Anwendung von Carbolxylol) vollkommen seine Gültigkeit. Insbesondere müssen die bisherigen Anschauungen dahin erweitert werden, daß der *Plasmafarbstoff Eosin* zum mindesten *in der Wärme auch die Kerne färbt*. Und zwar leistet dies schon das reine Eosin, ohne den erwähnten *Fischerschen* Alaunzusatz, was von *Fischer* selbst nicht angegeben war. Praktisch reicht diese Art der Kernfärbung allerdings nicht an die üblichen Kernfärbungsmethoden heran, und es sei hier darauf hingewiesen, daß die nachstehend geschilderten Kernfärbungen unter Zusatz von Alaun und die Kernfärbungen mit dem nahe verwandten sauren Farbstoff Phloxin bedeutend schöner ausfallen.

II. Kernfärbung mit Alaun-Eosin.

Es folgen nun diejenigen Versuche, wo die Kernfärbung nicht mit reinem Eosin, sondern nach dem Beispiel von *Fischer* (l. c.) mit einer Mischung von wässriger Eosinlösung und wässriger Alaunlösung, kurz mit *Alauneosin*, erzielt wurde.

Diese Kombination ist bereits geschichtlich. *E. Fischer*⁴⁾ erwähnt sie in seiner ersten Arbeit über das Eosin vom Jahre 1875, ohne näher darauf einzugehen, und ohne ein Wort über das Verhalten der Zellkerne zu erwähnen. *Wissotzky*⁵⁾, dem die Anwendung des Eosins zur Färbung von Blutbildern zu danken ist, da er in ihm ein „Reagens auf Hämoglobin“ zu entdecken glaubte, verwendete Eosin und Alaun zu gleichen Teilen in Alkohol. Er betonte das Ungefärbtbleiben der Kerne in den weißen Blutzellen. *Ehrlich* setzte $\frac{1}{2}$ g Eosin seiner alaunhaltigen Hämatoxylinlösung zu, um damit die Hämatoxylin-Eosinfärbung gleichzeitig ausführen zu können. Dieses Gemisch gab aber leicht Überfärbung mit Eosin trotz des geringen Prozentgehaltes von 0,25, woran wahrscheinlich der Alaungehalt der Hämatoxylinlösung schuld war, und wurde deshalb aufgegeben. Im Falle von *Ehrlich* war also die Kombination von Eosin und Alaun weder beabsichtigt noch zweckmäßig.

Wenn man zum Carmin oder zum Hämatoxylin bzw. seinem Oxydationsprodukt Hämatein Alaun hinzusetzt, um kernfärbende Gemische zu erzielen, so sollen sich darin carminsäure Tonerde bzw. Hämateintonerde bilden, die von den Kernen aufgenommen werden. Auch die freie Nucleinsäure soll nach *P. Mayer* befähigt sein, aus reinen Alaunlösungen die Tonerde, aus Hämalalaun die Hämateintonerde an sich zu binden. Es entsteht die Frage, ob beim Zusammenbringen von Eosin und Alaun in analoger Weise statt des Eosins, des Alkalalisatzes des Tetrabromfluoresceins, das Aluminiumsalz gebildet und dann von den Zellkernen gebunden wird, zumal zwischen der Kernfärbung mit dem Alauneosin und den Alaunhämateinlösungen einige Analogien bestehen: 1. Auch bei den Alauneosinmischungen kommt es auf die richtigen Proportionen zwischen den beiden Bestandteilen an (siehe unten); 2. hier wie dort lässt sich die Alaunwirkung nicht bloß durch Zusatz zur Farblösung, sondern auch durch Anwendung vor oder nach der Färbung erzielen. Andererseits löst sich der Alauneosinniederschlag nicht im Überschuss der Alaunlösung, wie es die carminsäure und hämateinsäure Tonerde tut. Höchstens beim Kochen mit Alaun findet eine nicht ganz vollständige Klärung unter Entfärbung des ursprünglich kräftig orangefarbenen Niederschlages bis zu hellgelber Farbe statt, was beim Kochen mit destilliertem Wasser nicht der Fall ist. Zweitens ist der Alauneosinniederschlag von der durch Säuren hervorgerufenen Fällung im Eosin, die als freies Tetrabromfluorescein angesprochen wird, nicht ohne weiteres zu unterscheiden.

Fischer macht daher auch keinen Unterschied zwischen der Fällung mit Säuren und der Fällung mit der sauer reagierenden Alaunlösung. Er lässt die Möglichkeit der Entstehung einer Aluminium-Farbstoffverbindung oder des

Einflusses der Tonerde auf den Färbevorgang ganz außer acht. Er nimmt nur an, daß die Farblösung durch den Alaun in einen Zustand herabgesetzter Löslichkeit gebracht, dadurch in ihrer Färbekraft erhöht und zur Kernfärbung befähigt wird. Wenn *Fischer* somit nur eine physikalische Zustandsänderung der Eosinlösung für die Kernfärbung mit Alauneosin verantwortlich macht, so stimmt das scheinbar mit den soeben beschriebenen Versuchen überein, nach denen auch *reines* Eosin zur Kernfärbung befähigt ist, nach denen also das Alaun bzw. die Tonerde dem Eosin keine prinzipiell neuen Eigenschaften verleiht. Es ließ sich aber nachweisen, daß die Färbung mit reinem Eosin und mit Alauneosin durchaus nicht ein und dasselbe sind.

Um die Natur des Alauneosinniederschlages kennenzulernen, wurden auf der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts unter Leitung von Dr. *Brahn* einige qualitative und quantitative Untersuchungen vorgenommen.

Der Niederschlag wurde durch Zusammengießen wäßriger Eosinlösung mit überschüssiger wäßriger Alaunlösung hergestellt. Auf dem Filter stellte er einen dunkel orangefarbenen, lackartig glänzenden Farbschlamm dar, der in Alkohol gut, in Wasser selbst bei längerem Kochen nur wenig, in verdünnten Säuren ganz unlöslich war. In der sorgfältig gewaschenen, getrockneten und im Platintiegel geglühten Substanz ließ sich *Aluminium nachweisen*. Es fragt sich nun, ob das Aluminium mit dem ausgefällten Farbstoff nur durch physikalische Adsorption oder chemisch verbunden war. Zur Lösung dieser Frage wurde frisch hergestellter Niederschlag Wochen hindurch gründlich mit dest. Wasser ausgewaschen (worin er sich ja nur sehr wenig löste), bis die zuerst sehr starke Al-Reaktion des Waschwassers vollständig verschwunden war. Erst dann wurde der Niederschlag gesammelt und getrocknet. Wurde nun ein Teil mit dest. Wasser gekocht, so war in dem Filtrat kein Aluminium mehr nachzuweisen. Es genügte aber, eine geringe Menge 3 Tage lang mit 20 proz. Salzsäure stehen zu lassen oder 15 Minuten lang damit zu kochen, um wieder reichlich Aluminium-Hydroxyd nachzuweisen. Bei einem Kontrollniederschlag, der nur mit verdünnter Schwefelsäure ohne Alaun hergestellt, sonst aber genau ebenso behandelt war, fiel dieser Versuch stets negativ aus.

Hierach mußte man sich entweder chemische Bindung oder eine Adsorption von solcher Festigkeit vorstellen, daß sie dem wochenlangen Auswaschen und zum Schluß selbst dem Kochen mit Wasser standhielt.

Nach der ersten quantitativen Analyse enthielt der Niederschlag nach dem Glühen im Platintiegel 5,7 Gewichtsprozent Al_2O_3 . Die Analyse eines Niederschlages, der absichtlich aus der gleichen Eosinmenge, aber der halben Alaunmenge wie vorher gewonnen war, ergab 2,68 Gewichtsprozent Al_2O_3 , d. h. etwas weniger als die *Hälfte* des ersten Resultats. Das spricht eher für Adsorption als für chemische Verbindung (wechselnde Mengen statt einer Konstanten). Wegen des großen Zeitaufwandes wurde von weiteren quantitativen Analysen Abstand genommen, um so mehr, als für den Färbevorgang eine sehr feste Adsorption als einer chemischen Verbindung nahezu als gleichwertig betrachtet werden konnte.

Bei dem engen Zusammenhang, in den nach diesen Feststellungen das Aluminium mit den feinsten Farbstoffpartikelchen tritt, ist man jedenfalls berechtigt, die Färbung mit Alauneosin als eine Färbung sui generis zu betrachten, die den Beizenfärbungen nahesteht, und die von der Färbung mit reinem Eosin grundverschieden ist. *Fischer* hatte also Unrecht, das Hauptgewicht beim Alaunzusatz auf den Säuregehalt

und die Löslichkeitsherabsetzung zu legen und die Rolle des Aluminiums ganz zu vernachlässigen. Ob der beschriebene, Al enthaltende Alaunesinniederschlag einen echten Aluminiumlack des Eosins darstellt, dessen Existenz z. B. von *Pappenheim* (l. c.) ohne weiteres angenommen wird, kann hier nicht entschieden werden.

Kehren wir zum Mikroskopisch-Technischen und zu dem Aussehen der zur Kernfärbung verwendeten Lösungen zurück. Der Alaunzusatz bewirkt eine sehr dichte, orangerote Ausfällung, durch welche die Lösung undurchsichtig wird; trotzdem kann man in den unfiltrierten Lösungen färben, da die Niederschläge nur lose an den Präparaten haften. Stärker konzentrierte Lösungen gehen ins Bräunlichrote über. Wäßrige Alaunlösungen sind unbegrenzt haltbar, wenn man sie nicht austrocknen läßt. Alkoholische Lösungen verändern sich beim Stehenlassen und werden unbrauchbar.

Schon geringer Alaunzusatz macht bei gleicher Färbungsdauer die Eosinfärbung echter gegen Wasser und Alkohol. Die von *Fischer* angegebene Mischung von 8 ccm 0,5 proz. wäßriger Eosinlösung mit 1ccm 1 proz. wäßriger Alaunlösung ergibt beim Umrechnen einen Eosingehalt von 0,44% und einen Alaungehalt von 0,11%, also ein Verhältnis von 4 : 1. Sie liefert eine sehr deutliche Kernfärbung. Empirisch ließ sich feststellen, daß mit der *Fischerschen* Lösung nur diejenigen Lösungen wetteifern können, bei denen gleichfalls das Verhältnis 4 : 1 besteht, z. B. eine 1proz. wäßrige Eosinlösung mit 0,25% Alaungehalt oder eine 2 proz. Eosinlösung mit 0,5% Alaun. Die Schnitte wurden darin 10 Minuten bis 48 Stunden gefärbt, einige Sekunden bis Minuten in Leitungswasser bis zu 40° abgespült, kurz in der Alkoholreihe entwässert und vorsichtig in Carbolxylol aufgehellt.

Die Kernfärbung in den Alauneosinschnitten ist viel auffälliger als in den Eosinschnitten, da die Kerne einen bräunlichen Farbenton annehmen, den bei ungenügender Differenzierung auch das Plasma aufweist. Ich möchte die bräunliche Anfärbung nur als sehr reichliche Imprägnierung mit der Farblösung auffassen. Die dünnsten und nur kurz gefärbten Schnitte zeigen in Kern und Plasma den zarteren Ton, der durch reines Eosin hervorgebracht wird. Wendet man beim Alaun-Eosin hohe Temperaturen an, so muß man sich noch mehr als beim Eosin vor Überfärbung hüten.

Bei den für diese Arbeit verwendeten Leberschnitten wirkte Alaun als Zusatz zur Farblösung besser als das Vor- oder Nachbad mit Alaun. Schnitte von anderen Organen zeigen aber, daß besonders das Alaunvorbad eine deutliche Kernfärbung zu liefern vermag. 1—2 Minuten Vorbehandlung genügen schon; doch kann man die Schnitte ohne Schaden auch länger in 10 proz. Alaun liegen lassen, spült sie kurz in dest. Wasser ab und kann sie dann wie gewöhnlich weiterbehandeln.

Die in Canadabalsam eingebetteten Alauneosinschnitte sind monate lang unverändert haltbar.

Statt des *Fischerschen* Laugenalkohols genügte die ganz ähnliche differenzierende Wirkung warmen Leitungswassers, bei dem sicherlich außer der Wärme der geringe Alkalescenzgrad mitspricht.

Über das Verhalten der anderen Organe außer der Leber sei hier andeutungsweise folgendes berichtet (die Untersuchungen darüber sind noch im Gange): An vielen Organen, z. B. der Niere, der Nebenniere, dem Hoden, der Hypophyse, dem Knochenmark, der Lunge, dem Darm läßt sich ebenso wie an der Leber Kernfärbung mit Eosin und Alaun-eosin erzielen. An Gehirnschnitten treten die Kerne der Ganglienzellen und ihre Kernkörperchen sehr gut, die Gliazellen weniger gut hervor. Das lymphatische Gewebe der Milz nimmt die Kernfärbung mit Eosin mit am schwersten an. Die glatte und quergestreifte Muskulatur wird im Gegensatz zu anderen Geweben schon bei kurzer Färbungsdauer intensiv und echt gefärbt, so daß hier die Kerne schwer herauszudifferenzieren sind. Das abweichendste Bild findet man bei der Herzmuskulatur: es sind nicht nur die Kerne als ungefärbte Gebilde erkennbar, sondern sie liegen (an Längsschnitten) in einem gleichfalls schwach gefärbten, spindelförmigen Raume, der vom Sarkoplasma eingenommen wird und auch bei anderen Färbemethoden als schwächer gefärbte Zone um den Kern herum zu erkennen ist (vgl. z. B. die bezügliche Abbildung im Lehrbuch der Anatomie von *Rauber-Kopsch*).

III. Kernfärbung mit Phloxin (aus der Eosingruppe).

Zum Vergleich mit dem Eosin wurde das ihm nah verwandte, gleichfalls saure Phloxin herangezogen, das bisher nur sehr wenig, z. B. in der Botanik an Stelle von Eosin verwendet wurde.

Es wird von Dr. Grübler & Co. in Leipzig in zwei Modifikationen, A und B, als Kaliumsalz des Tetrabromdichlorfluoresceins bzw. als Natriumsalz des Tetrachlortetrabromfluoresceins hergestellt, während Eosin das Alkalisalz des Tetrabromfluoresceins (ohne Chlor) darstellt. Phloxin B stimmt in seinen wichtigsten Eigenschaften mit dem Eosin vollkommen überein, wie man aus einer von *W. Ruhland* mitgeteilten Tabelle entnehmen kann. Es ist in Substanz von dem gewöhnlichen (sog. gelblichen) Eosin nicht zu unterscheiden, während Phloxin A dunkler aussieht. Beide Modifikationen sind ebenso wie Eosin in Wasser und Alkohol leicht löslich. Die Lösungen des Phloxins und Eosins sind in allen Konzentrationen sowohl im durchfallenden Licht als auch in einem Tropfen auf Fließpapier sehr leicht voneinander zu unterscheiden: man erkennt das Phloxin sofort an seiner gesättigteren, mehr bläulich-roten Tönung, und zwar ist Phloxin A violetter als Phloxin B. Die Mehrzahl der nachstehend beschriebenen Färbungen wurde mit Phloxin B vorgenommen, von dem sich das Phloxin A färberisch nur wenig unterscheidet.

Schon bei den ersten Versuchen stellte sich die Überlegenheit des Phloxins über das Eosin heraus: es besitzt nicht nur höhere Färbeleistung im allgemeinen und eine größere Echtheit der Färbung besonders gegen Wasser, sondern es hebt auch die Kerne viel deutlicher hervor. Ein Bedürfnis zum Zusatz von Alaun, wie beim Eosin, besteht infolgedessen

nicht. Sogar auf die Anwendung von Wärme kann man wenigstens bei Paraffinschnitten verzichten. Die Technik ist dieselbe wie beim Eosin; die Färbedauer beträgt bei Zimmertemperatur und Paraffinschnitten 20—30 Minuten, die Farbkonzentration 1—4%. Ceteris paribus macht ein Phloxinschnitt stets einen kräftiger gefärbten Eindruck als ein Eosinschnitt und ist an seinem bläulicherem Ton sofort zu erkennen. Der Charakter der Kernfärbung und die Reihenfolge der Entfärbung der Kernbestandteile sind dieselben wie beim Eosin. Gut gelungene Paraffinschnitte zeigen eine sehr kräftige, durchaus nicht homogene Kernfärbung, die an Deutlichkeit mit den besten *Kernfärbungsmethoden* wetteifern kann. Sehr lehrreich war z. B. die Kernfärbung an den Ependymzellen des Zentralkanals im Rückenmark, wo sich die über den länglichen Kern verteilten Chromatinkörnchen in gleicher Schärfe wie beim Phloxin nur noch durch die Panchrommethode darstellen ließen. Hervorgehoben sei auch die gute Färbung der Lymphocytenkerne in Organschnitten von lymphatischer Leukämie sowie der polymorphen Leukocytenkerne in miliaren Abscessen und in Schnitten von genuiner fibrinöser Pneumonie — im Gegensatz zu dem abweichenden Verhalten der Lymphocyten und Leukocyten im zirkulierenden Blut: Sie traten in Blutausstrichen zwar nicht mehr, wie beim Eosin, im rein weißen Negativbild hervor, waren aber doch nicht kontrastreich genug gefärbt. Die Herzmuskelkerne, die sich gegen das Eosin so widerspenstig gezeigt hatten, nahmen das Phloxin bereitwilliger an. Nebenbei sei erwähnt, daß das Phloxin eine sehr schöne Fibrinfärbung (z. B. bei Schnitten von genuiner Pneumonie) zu liefern vermag, die mit den nach der *Weigert*schen Methode erzielten Bildern vollkommen übereinstimmt. Ja, die Deutlichkeit ist beim Phloxin vielleicht noch größer. Durch Eosin wird das Fibrin zwar gleichfalls, aber längst nicht so kräftig gefärbt. Nach diesen Resultaten kann man behaupten, daß — vorläufig mit Ausnahme der Muskulatur und des zirkulierenden Blutes — alle Organe für die Kernfärbung mit Phloxin geeignet sind, und daß das *Phloxin trotz seines sauren Charakters den besten Kernfarbstoffen praktisch durchaus nicht nachsteht.*

Um dem Einwand zu begegnen, daß die Kernfärbung mit Eosin und Phloxin durch die Fixierung im Müller-Formol hervorgerufen oder begünstigt wird, wurde dasselbe Material gleichzeitig in Müller-Formol, in Alkohol und in Gilsons Gemisch (Sublimat, Salpetersäure, Eisessig) fixiert. Es stellte sich heraus, daß alle drei Fixierungsmethoden gleich gute Resultate gaben. Wir haben hier also einen Fall von *primärer* Färbbarkeit vor uns, die dem Gewebe selbst eigen ist und ihm nicht erst durch die Fixiersalze zuteil wird, wie besonders die indifferente Alkoholfixierung beweist.

IV. Theoretisches.

Wenn sich beim Vergleich zweier so nah verwandter Farbstoffe wie Eosin und Phloxin das letztere als das für die Kernfärbung unver-

gleichlich günstigere erwies, so lehrt dies Beispiel jedenfalls, daß die *Kernfärbung* vor allem von den *individuellen Eigenschaften eines Farbstoffes* und nicht davon abhängt, ob er zur *Kategorie der sauren oder basischen Farbstoffe* gehört. Man wird beim Phloxin auch vergeblich nach einer basischen Atomgruppe suchen, die es vor dem Eosin voraus-hat, und die man für die Kernfärbung verantwortlich machen könnte. Unter den sauren Farbstoffen sind noch mehrere zur Kernfärbung befähigt, z. B. Pikrinsäure, Aurantia, Orange, Bordeaux, Indulin, wasserlösliches Nigrosin, Benzoazurin, Wasserblau [zit. nach Becher⁶)]. Die positive oder negative elektrische Ladung der Farbstoffteilchen ist also nicht von ausschlaggebender Bedeutung. Durch umfassende Untersuchungen an Pflanzenzellen hat Ruhland festgestellt, daß auch für die Vitalaufnehmbarkeit der Farbstoffe nicht die elektrische Ladung maßgebend ist, sondern daß sie sich in Abhängigkeit von der „Teilchengröße“ (zu prüfen durch Diffusionsversuche in Gelen) nach den Gesetzen der Ultrafiltration (Diffusion durch konzentrierte Gele) vollzieht. Es fragt sich nun, ob diese Gesetze nicht auch bei der postmortalen Kernfärbung eine wichtige Rolle spielen? Bei Pappenheim (l. c.) findet man bereits die Betonung des „Molekularvolumens“ der Farblösungen und der „Weitporigkeit oder Engporigkeit“ der Materie in ihren Wechselbeziehungen zueinander. Wegen des frühen Erscheinens des Pappenheimschen Werkes (1901) fehlt aber leider noch die kolloidchemische Durcharbeitung dieser Hypothesen, die bei Ruhland bereits vorhanden ist. Folgende Überlegung würde vielleicht die Brücke zwischen den Beobachtungen Pappenheims und Ruhlands bilden können: Wenn auch die Zellkerne aus einem Gemisch saurer und basischer Farbstoffe die basischen vorzugsweise aufnehmen und die sauren ablehnen, so muß diese ihre Oxyphobie nicht notwendig auf ihrer chemischen Konstitution, etwa ihrem Gehalt an Nucleinsäure, direkt beruhen; höchstens indirekt, indem der steigende Gehalt an Nucleinsäure auch eine Veränderung der physikalischen Eigenschaften (im Sinne verminderter Wassergehaltes, stärkerer Zähflüssigkeit, Annäherung an den festen Aggregatzustand) herbeiführt. Unter diesen Voraussetzungen würden dann die basischen Farbstoffe nicht dank ihrer elektropositiven Ladung, sondern dank ihrem, nach Ruhland meist größeren Diffusionsvermögen in Gelen den sauren Farbstoffen überlegen sein und ihnen zuvorkommen*). Es sei hier daran erinnert, daß die Zellkerne trotz ihres Gehaltes an Nucleinsäure

*) Ultrafiltrationsvorgänge könnten auch an den Kerngrenzen stattfinden: man beobachtet z. B. unter dem Mikroskop, daß die sauren Farbstoffe nach Färbung des Plasmas für einige Sekunden bis Minuten an den Kerngrenzen hält machen und dann ganz allmählich eindringen, so als ob sie durch eine *Kernmembran* behindert würden; dagegen sieht man die basischen Farbstoffe sofort und rasch eindringen.

im Leben und bei lebensfrischer Fixation alkalisch reagieren, so daß der häufig vorkommende Ausdruck „saure Kerne“ irreführend ist.

Ebenso *irreführend* ist für die Postmortalfärbung der häufig angewendete Satz, daß *sauer reagierende Zellbestandteile zu basischen Farbstoffen, alkalisch reagierende zu sauren Farbstoffen Affinität besitzen*. In dieser Hinsicht gibt schon das Verhalten der Belegzellen des Magens zu denken, die, wie die Mehrzahl annimmt, im Leben Salzsäure absondern und postmortal acidophil sind; ebenso das Verhalten der quergestreiften Muskulatur, in der während des Lebens so leicht saure Reaktion eintritt, deren wäßriger Auszug sauer reagiert⁸⁾, und die trotzdem zu den am stärksten mit sauren Farbstoffen (Pikrinsäure, Eosin) färbbaren Geweben gehört. Das leitet uns von dem Problem der Kernfärbung zu dem allgemeineren Problem der Eosinophilie über, für die man ebensowenig wie bei der Kernfärbung bloß chemische Affinitäten verantwortlich machen kann. Es sollen daher hier einige Tatsachen zusammengestellt werden, die sich auf den physikalischen Zustand der eosinophilen Elemente beziehen, und in denen ein gemeinsamer Grundzug unverkennbar ist.

Die stark eosinophilen Erythrocyten sind leicht quellbare Gebilde. Bei vorsichtiger Behandlung lassen sie sich bis zum vollständigen Abbllassen aufquellen und nachträglich wieder auf ihre natürliche Größe und Farbe zurückführen. Dies im Verein mit ihrer Biegsamkeit und Elastizität stellt sie den gelartigen Körpern nahe. Nach W. Pauli⁹⁾ „besteht eine gewisse Übereinstimmung im Verhalten von Blutkörperchen und Gallerten gegen Säuren und Alkalien“. Insbesondere sollen schon sehr geringe Konzentrationen von Säuren in beiden Fällen zur Quellung führen. Ihr Hauptbestandteil, das Hämoglobin, verliert seine Quellbarkeit nicht einmal durch die Fixierung. A. Fischer (l. c.) teilt mit, daß die durch Alkoholfällung erzeugten Hämoglobingranula in Wasser zwar unlöslich, bei längerem Stehen aber doch in gewissem Grade quellbar sind. — Die eosinophilen Leukocytengranula zeichnen sich schon im ungefärbten Zustande durch ihre Größe, ihre runde Form und ihren starken Glanz aus — Eigenschaften, die, wenn auch nicht ausschließlich, auf einen gewissen Quellungszustand hindeuten. — Bei trüber Schwellung werden die Eiweißgranula in Epithelzellen größer und mit Eosin und anderen sauren Farbstoffen färbbar, was sie in der Norm nicht sind. Da es sich nach Lubarsch u. a. bei der trüben Schwellung um einen reversiblen Prozeß handelt, so liegt der Gedanke nahe, daß die eosingefärbten Eiweißgranula sich im reversiblen Gelzustand befinden. — Die mit Eosin färbbaren Kernkörperchen besitzen kugelrunde Form, stattliche Größe und unterscheiden sich vom Chromatin vor allem durch ihre Quellbarkeit, z. B. in 1—50 proz. Essigsäure, die auf das Chromatin fällend wirkt, in 1 proz. Salzsäure, in 5 proz. NH₃ usw. In histopathologischen Präparaten fand Nissl in erkrankten Nervenzellen spontane „Schwellung des Kernkörperchens“. — Die eosinophilen Belegzellen der Magenschleimhaut unterscheiden sich von den nicht eosinophilen Hauptzellen durch ihre Quellbarkeit: Salpetersäure unter 0,5%, Essigsäure von 0,5—5% bringt nur sie, nicht aber die Hauptzellen zur Quellung. Hat man durch andere Säuren von anderer Konzentration beide Zellarten zum Schrumpfen gebracht, so lassen sich durch Abspülen mit Wasser die Belegzellen wieder quellen und aufhellen, während die Hauptzellen klein und trübe bleiben [R. Heidenhain¹⁰⁾]. — Über die Muskulatur sagt R. Hoeber [zit. nach Bechhold¹¹⁾]: „Die normale Erregbarkeit der Muskeln

ist an einen bestimmten Lösungs- oder Quellungszustand ihrer Protoplasma-Kolloide gebunden; vermehrte Lösung oder Auflockerung derselben führt Unregbarkeit herbei.“ — Das von Natur aus (wenn auch nicht bei der Weigertschen Fibrinfärbung) oxyphile Fibrin ist in verdünnten Säuren, z. B. in 0,3 proz. Salzsäure quellbar.

Alle diese Tatsachen zusammen legen den Gedanken nahe, daß für die Eosinophilie ein ganz bestimmter physikalischer Zustand ausschlaggebend ist: das Eosin bevorzugt bei der Färbung reversible elastische Gele, die besonders bei saurer Reaktion leicht quellbar sind und dadurch seinem Diffusionsvermögen entgegenkommen. Diesen Eigenschaften steht das Protoplasma näher als der Kern, und aus diesem Grunde mußte das Eosin zunächst als Protoplasmafärbstoff erscheinen. Die unterstützende Wirkung mäßiger Wärmegrade, die bei Schnitten, die in wäßrige Lösungen eintauchen, vor allem das Plasma, aber auch die Kerne auflockert und dem Eosin zugänglicher macht, wird nun durchaus verständlich.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Pappenheim, A., Grundriß der Farbchemie. Berlin 1901. — ²⁾ Ehrlich, Krause u. a., Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. 2. Aufl. Berlin-Wien 1910. S. 261. — ³⁾ Fischer, A., Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899. — ⁴⁾ Fischer, E., Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. **12**, 349. 1876. — ⁵⁾ Wissozky, Über das Eosin als Reagens auf Hämoglobin usw. Arch. f. mikr. Anat. **13**, 479. 1877. — ⁶⁾ Becher, S., Untersuchungen über Echtfärbung der Zellkerne mit künstlichen Beizenfarbstoffen usw. Berlin 1921. — ⁷⁾ Ruhland, W., Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Botanik 1912., S. 376ff. — Zur Kritik der Lipoid- und der Ultrafiltertheorie der Plasmahaut nebst Beobachtungen über die Bedeutung der elektrischen Ladung der Kolloide für ihre Vitalaufnahme. Biochem. Zeitschr. **54**. 1913. — ⁸⁾ du Bois-Reymond, R., Allgemeine Physiologie der glatten Muskulatur. Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 2¹. 1907. — ⁹⁾ Pauli, W., Allgemeine Physikochemie der Zellen und Gewebe. Ergebn. d. Physiol. **6**, 126. 1907. — ¹⁰⁾ Heidenhain, R., Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch. f. mikr. Anat. **6**, 368—406. 1870. — ¹¹⁾ Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden 1919.
-