

Zur Färbung der Nervenfasern am frischen Gewebe.

Von

P. G. Unna und Luise Fezer.

Mit 2 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 18. Mai 1923.*)

Die Mangan-Methylgrün-Methode¹⁾ gewährt uns einen raschen Überblick über die Verteilung der Reduktionsorte und Sauerstofforte des frischen, dem Lebenden oder der Leiche entnommenen Gewebes. Es bedarf keiner Fixierung und keiner Einbettung, sondern nur der Ver- eisung mit Kohlensäure. Die Gefrierschnitte kommen sofort in die Farbflüssigkeiten, und in wenigen Minuten ist das Präparat fertig; die Sauerstofforte heben sich methylgrün von der manganbraunen, reduzierenden Umgebung ab.

Von den vielen Anwendungen dieser MM.-Methode möge hier zu- nächst eine vorzügliche Nervenfärbung des frischen Gewebes genauer beschrieben werden. Die Nerven gehören bekanntlich zu den Reduk- tionsorten, sie färben sich in Kalipermanganat braun, weniger dunkel- braun als die Muskeln und die Hornschicht, heben sich aber als hell- braun gefärbte Gebilde sehr deutlich und scharf von dem nahezu ungefärbten Kollagen ab.

Als ein leicht zu erhaltendes gutes Material zur Einübung in die Methode empfehlen wir einerseits die Schnauze eben getöteter, wo- möglich weißer Ratten, andererseits die Fußsohle der menschlichen Leiche. Dort erhalten wir eine glänzende Darstellung des Nerven- reichtums der Tasthaare (s. Abb. 1), hier an Flachschnitten die Nerven- verteilung in Subcutis und Cutis, an Vertikalschnitten die an frischem Gewebe sonst nicht leicht auffindbaren, hier gut gebräunten Tast- körperchen (s. Abb. 2).

Zur Orientierung über den sich dabei abspielenden chemischen Prozeß sei daran erinnert, daß bei der Berührung des tierischen Ge- webes mit der rosafarbenen Permanganatlösung diese in 3 Teile zerfällt, in Mangansuperoxyd, Kalilauge und freien Sauerstoff. Der letztere verstärkt die Sauerstofforte des Gewebes, das Kalihydrat bewirkt eine leichte Quellung aller Teile, und das MnO_2 verbindet sich chemisch mit den Reduktionsorten und erteilt ihnen dabei eine braune Färbung,

¹⁾ Kurz: MM.-Methode genannt.

die um so dunkler ausfällt, je stärker deren Reduktionskraft ist. Die darauffolgende basische *Methylgrünfärbung* haftet nur an den sauren, die Sauerstoffreiche beherbergenden Eiweißen, insbesondere an den *Kernen* und ist ungewöhnlich stark wegen der vorhergehenden Anreicherung derselben an Sauerstoff.

Der Gang der Nervenfärbung ist nun der folgende:

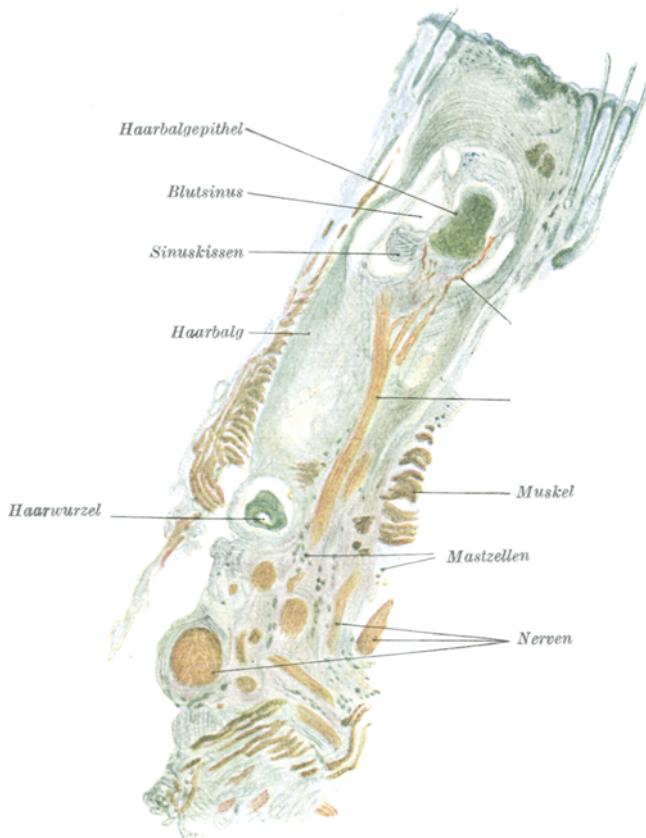


Abb. 1. Nerven des Tasthaares der weißen Ratte.

Das Material darf nicht mit Fixationsflüssigkeiten in Berührung kommen, auch nicht mit Alkohol. Ebensowenig paßt für diese Methode eine Entfettung des Gewebes mittels Chloroform oder Ätheralkohol oder eine Einbettung in Paraffin oder Celloidin. Eine kurze Berührung mit Formalin schadet der Nervenfärbung relativ wenig, aber die schönen Farbenkontraste der eigentlichen Methode gehen dadurch verloren. Denn das formalinisierte und dadurch reduzierte Kollagen nimmt

so viel Mangansuperoxyd auf, daß bei der dann notwendigen längeren Entfärbung mit Oxalsäure die Nervenfärbung leidet.

Die in Wasser aufgefangenen Gefrierschnitte, die am besten eine Dicke von ungefähr $15\ \mu$ haben, kommen in eine 1 proz. wässrige

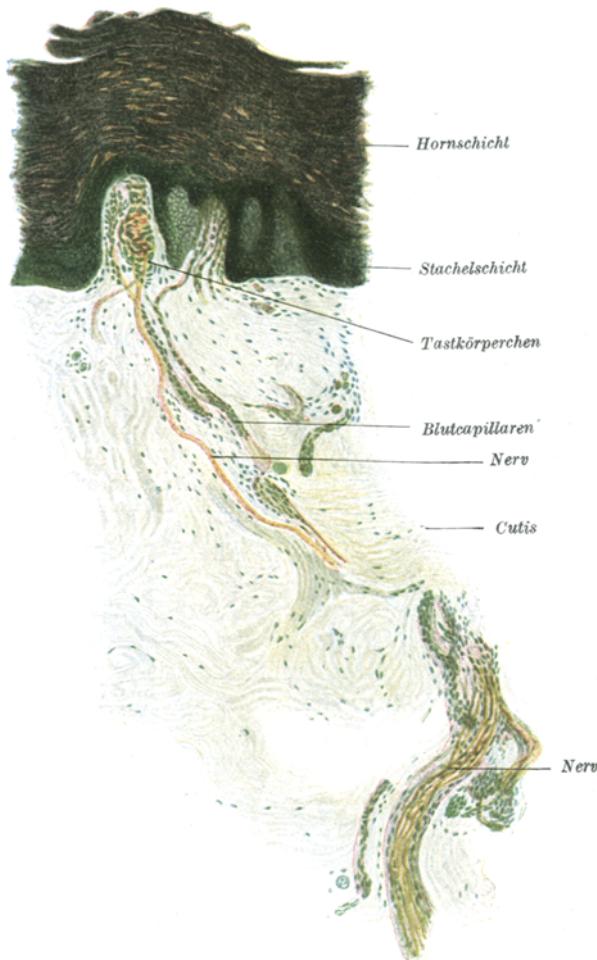


Abb. 2. Tastkörperchen der menschlichen Fußsohle.

Kalipermanganatlösung, die, um Niederschläge zu vermeiden, vor dem Gebrauche filtriert werden muß.

Es hat sich gezeigt, daß die Manganlösung, wenn sie nach kurzer Zeit in den Zustand der Schwebefällung gerät und bei Durchsicht bläulich schimmert, sich besser zur Färbung eignet als eine ganz frische, rötliche.

Je nach Art des Materials sowie auch nach der Dicke des Schnittes dauert die Färbung in der Manganlösung $\frac{1}{2}$ —2 Min. Das überschüssige Kalipermanganat wird durch Bewegen des Schnittes in Leitungswasser ausgewaschen, bis dieser eine hellbraune Farbe zeigt. Durch das Mikroskop gesehen, dürfen die Kerne der Epithelien und Endothelien der Blutgefäße keine oder nur eine leicht gelbliche Färbung angenommen haben, so daß sie sich noch scharf von dem dunkleren, stärker reduzierenden Protoplasma abheben. Dieser Zeitpunkt darf nicht verpaßt werden.

Vor der nun folgenden Methylgrünfärbung und mit Rücksicht auf dieselbe müssen die Schnitte von dem Überschuß der Zersetzungprodukte der Manganlösung befreit werden, was durch kurzes Eintauchen der Schnitte in verschiedene Säuren bewerkstelligt wird. Handelt es sich um ein sehr kollagenreiches Gewebe, so kann eine leichte Bräunung desselben für das Hervortreten der Nerven hinderlich werden. Man taucht die Schnitte dann in eine reduzierende 1 promill. Oxalsäurelösung, welche das überschüssige MnO_2 neutralisiert, und wäscht dieselben gleich wieder aus. Liegen dagegen Schnitte von einem zell- und kernreichen Gewebe vor, so gebietet die Rücksicht auf eine gute methylgrüne Kernfärbung das vorherige Eintauchen der Schnitte in eine oxydierende, 1 promill. Salpetersäurelösung.

Der danach gut ausgewaschene Schnitt kommt nun in die 1 proz. wässrige Methylgrünlösung und wird in dieser $\frac{1}{2}$ —2 Min. gefärbt. — Wieder in Wasser gebracht, gibt der Schnitt sofort alles überschüssige Methylgrün ab und darf auch nicht länger im Wasser verweilen.

Bei der nun folgenden Entwässerung hat man zu berücksichtigen, daß die Schnitte durch die mit der Manganisierung verknüpfte leichte Quellung zarter und wasserreicher geworden sind als gewöhnlich und zu stark schrumpfen würden, wenn man sie direkt in absoluten Alkohol brächte. Man bringt sie deshalb zunächst in Alkohol von 70% und nach 2—3 Min. in absoluten Alkohol, dann in Bergamottöl und Balsam.

Die Formel für die neue *Nervenfärbung an frischem Gewebe* lautet daher folgendermaßen:

- Gefrierschnitte von frischem Gewebe kommen aus dem Wasser in
1. eine 1 proz. Kalipermanganatlösung $\frac{1}{2}$ —2 Min.,
 2. Wasser,
 3. Oxalsäure¹⁾ 10‰ $\frac{1}{2}$ Min. oder Salpetersäure¹⁾ 10‰ $\frac{1}{2}$ —1 Min.,
 4. Wasser,
 5. Methylgrün 1% $\frac{1}{2}$ —2 Min.,
 6. Wasser,
 7. Alkohol 70% 2—3 Min.,
 8. Alcohol absolutus,
 9. Bergamottöl, Balsam.

¹⁾ s. oben.

Die Färbung der Nerven läßt sich durch einen einfachen Kunstgriff noch schöner gestalten, d. h. in einen rötlichen, goldgelben Ton überführen, der, wenn auch für den Gebrauch in der Praxis unnötig, doch die Erkennung einzelner Fasern im Bindegewebe erleichtert. Das gebräunte Präparat wird zu diesem Zweck aus dem Wasser auf einen Objektträger aufgezogen, mit Filtrierpapier vom überschüssigen Wasser befreit und, mit einem Tropfen Glycerin versehen, mehrere Stunden bis eine Nacht unter einem Deckglase belassen. Vor der Weiterbehandlung wird das Glycerin durch Auswaschen entfernt.

Das Aussehen der manganierten Nerven ist ein anderes, als wir es von den Osmium- und Goldbildern gewohnt sind. Der Achsenzylinder hebt sich nirgends besonders ab; er bildet mit dem Mark einen homogenen, gelbbräunlichen, soliden Zylinder. Die Färbung haftet also offenbar an einer reduzierenden Flüssigkeit, mit welcher der ganze Nerv durchtränkt ist und welche bei den bisherigen Nervenfärbungen unserer Beobachtung entgeht. Es ist genau so, wie bei der sehr viel dunkleren Manganfärbung der quergestreiften Muskeln, bei denen die Zeichnung der Muskelkästchen auch vollkommen verschwunden ist, während die äußereren Konturen der Muskelfasern scharf hervortreten.

Die Natur des fraglichen Substrates, an welchem diese neue Nervenfärbung haftet und von der wir nach dem Bisherigen nur wissen, daß sie Kalipermanganat reduziert, kann nur durch eine sorgfältige *Chromolyse*¹⁾ erkannt werden. Wir haben zu diesem Zweck die Gefrierschnitte vor der MM.-Färbung in alle möglichen eiweißlösenden und fettlösenden Flüssigkeiten zu bringen und zu notieren, ob die Färbung normal ausfällt, abgeschwächt oder ganz verhindert wird. Die Zusammenstellung der die Färbung hindernden, erhaltenden oder sogar fördernden Lösungen läßt dann auf die Natur der manganliebenden Substanz Schlüsse ziehen, auf denen sich unter Umständen schon eine Diagnose der chemischen Natur der Substanz aufbauen kann. Ehe wir diese chromolytischen Einzeldaten zu einer Tabelle übersichtlich zusammenstellen, wollen wir darauf hinweisen, daß die gebräunte Substanz, um deren Existenz oder Schwund es sich bei den Lösungen handelt, mit dem Achsenzylinder, der *Schwannschen Scheide* und dem Neurokeratingerüst sicher nichts zu tun hat. Sie entspricht der Lage nach der Markscheide und ähnelt der Form nach am meisten solchen Osmiumbildern der Nerven, an denen die Konturen des Markes wellig zu werden beginnen und die ersten Myelinformen entstehen. An manchen Stellen erkennt man noch die *Ranvierschen Einschnürungen*, seltener die *Schmidt-Lantermannschen Incisuren*. Hier und da sind die sonst homogenen Nervenfasern ersetzt durch Reihen von zylindrokonischen Elementen oder mehr rundlichen Myelinballen. Diese Kunstprodukte

¹⁾ s. unten.

treffen aber nur eine Minderzahl von Nervenfasern und sind offenbar auf die von der Methode nicht trennbare Abscheidung von Kalilauge als Nebenprodukt zu beziehen. Die meisten Nervenfasern haben ein durchaus homogenes Aussehen und machen den Eindruck, als seien Mark und Achsenzylinder diffus durchtränkt mit einer Flüssigkeit, welche die Manganfärbung bedingt und die harten Konturen des frischen Nerven weich und verschwommen erscheinen lässt. In der nebenstehenden Tabelle bedeutet das Zeichen 0: Lösung; +, ++ und +++ bedeuten: Fällung, und zwar in um so höherem Grade, je schärfer konturiert und dunkler die Nerven im histologischen Bilde hervortreten.

In dieser Tabelle finden sich einige auffallende Eigenschaften der gesuchten Substanz, welche die Aufmerksamkeit sofort in eine bestimmte Richtung lenken; es ist die gute Erhaltung und Färbbarkeit der Nerven in der 1 proz., *kalten* Salpetersäure (33)¹⁾, während die rasch in derselben Lösung nahe *bis zum Kochen* (80°) *erhitzen* (34) Schnitte kein Nervenbild mehr erkennen lassen. Dieser Unterschied entspricht einer bekannten Eigenschaft des *Histons*, jenes basischen Eiweißes, welches wir als Teil und Abbauprodukt des Kernes kennen.

Noch eine andere Tatsache, nämlich das hervorragende Fällungsvermögen des *Ammoniaks* (39, 40) für Histon findet sich in der Tabelle wieder, da das Nervenbild nach Ammoniakbehandlung nicht bloß vorhanden ist, sondern sogar verstärkt hervortritt. Ebenso verhält sich die Nervenfärbung der Schnitte ganz konform der Färbbarkeit des Histons durch *pikrinsaures Ammoniak* (24).

Zu diesen bekannten *Alkaloidreagentien*, welche das Nervenbild besonders gut erhalten, gehört schließlich auch das *phosphormolybdänsaure Natron* (22). Diese Tatsache ist um so bemerkenswerter, als das *phosphorwolframsaure Natron* (21), welches in so vielen anderen Beziehungen das phosphormolybdänsaure Natron ersetzen kann, als Nervendarsteller versagt und höchstens ein ganz schwaches Nervenbild hervorruft. Aber auch in dieser feinen Differenz spiegelt sich ein ähnlicher Unterschied wieder, den wir bei dem *Kosselschen Histon* des Dorschspermias²⁾ gefunden haben. Wenn man sich in Reagiergläsern 1 proz. Lösungen von phosphormolybdänsaurem und phosphorwolframsaurem Natron bereitet und jeder eine Messerspitze des *Dorschhistons* hinzugibt, so bleibt dasselbe im phosphormolybdänsauren Natron unverändert am Boden liegen, während es im phosphorwolframsauren Natron nicht unerheblich *aufquillt* und sich in der Flüssigkeit verteilt;

¹⁾ Die eingeklammerten Zahlen (1—40) beziehen sich auf die Nummern der chromolytischen Tabelle.

²⁾ Dieses Präparat verdanken wir der Güte von Geheimrat Prof. A. Kossel (Heidelberg).

Chromolyse der Nervenfärbung des frischen Gewebes.

Nr.	Lösungen	I Nerv	II Histon A ¹⁾	III Histon B ²⁾	IV Ölsäure
1.	Aqua destillata kalt	+++	0	0	+
2.	" 80°	+++	0	0	+
3.	Alkohol 10%	++	+	-	+
4.	" 90%	0	+++	-	0
5.	Äther	0	+++	-	0
6.	Chloroform	0	+++	-	0
7.	Benzin	0	+++	-	0
8.	Xylol	0	+++	-	0
9.	Benzol	0	+++	-	0
10.	NaCl 2% kalt	++	0	+	
11.	" gesättigt	+	+	+	
12.	" 2% 80°	++	0	+	
13.	Natriumsulfat 2%	++	0	+	
14.	" gesättigt	+	0	+	
15.	Ammonsulfat 2%	++	0	+	
16.	" gesättigt	+	0	+	
17.	Zinksulfat 2%	++	0	+	
18.	Kupfersulfat 2%	++	0	+	
19.	Sublimat 1%	0	0	-	
20.	Rot. Blutlaugensalz 1%	+	+++	+	
21.	Phosphorwolframsaures Natron 1%	+	+	+	
22.	Phosphormolybdänsaures " 1%	+++	+++	+	
23.	Pikrinsaures " 1%	+	++	+	
24.	Pikrinsaures Ammoniak 1%	+++	+++	-	
25.	Alaun 2%	++	0	-	
26.	Essigsäure 1%	0	0	0	
27.	Trichloressigsäure 1%	+++	+++	-	
28.	Borsäure 1%	++	0	0	
29.	Pikrinsäure	0 (gelb)	0	-	
30.	Gerbsäure 1%	0	0	0	
31.	Schwefelsäure 1%	+++	0	0	
32.	Salzsäure 1%	0	0	0	
33.	Salpetersäure 1%	+++	+++	+	
34.	" 1% 80°	0	0	0	
35.	Soda 1%	0	0	0	
36.	" 1% _{oo}	+	+	+	
37.	Kalilauge 1% _{oo}	0	0	0	
38.	Natronlauge 1% _{oo}	0	0	0	
39.	Ammoniak 1%	++	++	+	
40.	" 1% _{oo}	+++	+++	+	

¹⁾ Histon A bedeutet das reine Kosselsche Dorschpermahiston.²⁾ Histon B bezieht sich auf Angaben in dem Lehrbuch von Cohnheim: Chemie der Eiweißkörper. Vieweg, Braunschweig. 3. Aufl., S. 228.

dort bleibt die Flüssigkeit klar, hier trübt sie sich. Vorausgesetzt, daß in der manganliebenden Nervensubstanz wirklich Histon vorhanden ist, würde sich hiernach schon allein durch die Quellung desselben die schwache oder völlig mangelnde Nervenfärbung nach der Vorbehandlung der Schnitte mit phosphorwolframsaurem Natron erklären.

Wir haben also allen Grund, in der sich braun färbenden Substanz des frischen Nerven ein Histon anzunehmen, und werden diese Tatsache als den ersten Baustein einer Theorie unserer Nervenfärbung betrachten können, falls es sich herausstellt, daß auch das reine *Kosselsche Histon* mit Kalipermanganat eine solche Braunkärbung gibt, wie wir sie im Nerven wahrnehmen. Das ist nun in der Tat der Fall. Löst man von dem Histon ein wenig in Wasser und setzt einige Krystalle von Kalipermanganat hinzu, so fällt nach einiger Zeit ein wolkiger Niederschlag aus, der genau dieselbe goldbraune Farbe besitzt wie die mit Permanganat behandelten frischen Nerven. Daß derselbe aus einer Verbindung von MnO_2 mit Histon besteht, kann man leicht beweisen; denn Eosin färbt den Niederschlag dunkelrot, genau so wie das Histon, während ein einfacher Niederschlag von Mangansuperoxyd ohne Histon ungefärbt bleibt, wenn wir ihn in Eosin bringen. Das erste Ergebnis der Chromolyse ist also der Nachweis, daß die reduzierende Substanz im Nerven aus Histon besteht oder dieses wenigstens enthält.

In ebenso auffallender Weise werden wir aber durch die Tabelle noch auf eine zweite Eigenschaft der manganliebenden Substanz hingewiesen, welche mit einem Histongehalt derselben sicher gar nichts zu tun hat, das ist die Empfindlichkeit der Nervenfärbung gegen sämtliche *fettlösenden Lösungsmittel*. Wir beobachten ein völliges Verschwinden derselben nach Vorbehandlung der Schnitte mit Äther, Chloroform, Benzol und Benzin, Substanzen, in denen Histon ganz unlöslich ist. Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß außer der Anwesenheit von Histon noch die eines *Lipoids* zum Zustandekommen unserer Nervenfärbung notwendig ist, wobei es nicht gerade erforderlich, sondern sogar unwahrscheinlich erscheint, daß das Lipoid ebenso wie der Eiweißbestandteil Kalipermanganat reduziert und Mangansuperoxyd unter Bräunung aufnimmt. Es genügt vollkommen, wenn die Anwesenheit eines Lipoids eine *Beschränkung der Wasserlöslichkeit des Histons* herbeiführt und dadurch die Daten der Löslichkeitstabelle in einseitiger Richtung beeinflußt. Und eine solche Wirkung tritt in der Tat in sehr auffallender Weise zutage. Denn während Histon in kaltem wie heißem Wasser leicht löslich ist, bedingt die ausgiebige Vorbehandlung der Gefrierschnitte mit Wasser (1, 2) nicht die mindeste Verschlechterung unseres Nervenbildes, geschweige ein Verschwinden desselben. Das Wasser dringt offenbar in den Lipoidgürtel

der Nervensubstanz nicht genügend ein, um das darin befindliche Histon ebenso zu lösen wie freies Histon.

Diese bemerkenswerte Tatsache, daß Wasser die Nerven in den Gefrierschnitten nicht angreift und die Bräunung des Histons vollkommen intakt läßt, muß natürlich bei allen anderen, in Wasser gelösten Reagentien auch nicht außer acht gelassen werden. Ein Schwund des Nervenbildes durch sie hat daher stets eine erhöhte Bedeutung, da ihr Lösungsmittel: Wasser allein für sich trotz seiner histonlösenden Eigenschaft das Nervenbild nicht abzuschwächen vermag. Wenn wir also z. B. finden, daß eine heiße, 1 proz. wässrige Salpetersäurelösung (34) das Nervenbild nicht zur Entwicklung kommen läßt, so ist die Säurekomponente ganz allein die Ursache davon, während die Wasserkomponente höchstens diese Wirkung abzuschwächen imstande ist.

Dieser Satz kann, mit Ausnahme der kalten Salpetersäure (33), auf die meisten *Säuren in wässriger Lösung* ausgedehnt werden, von denen wir speziell *Essigsäure* (26), *Salzsäure* (32) und *Gerbsäure* (30) untersucht haben. Sie verhindern das Entstehen des Nervenbildes, indem die Säure trotz des Wasserhindernisses das Histon findet und auflöst.

Auch die Ausnahmen von dieser Regel sind einer einfachen Deutung zugängig. Die wäßrige *Borsäure* (28) ist wohl zu schwach, um den Lipoidgürtel zu sprengen. Denn obwohl sie Histon auflöst, läßt sie das Nervenbild der Schnitte intakt. Die *Trichloressigsäure* (27) gibt trotz ihres stark sauren Charakters ein sehr gutes Nervenbild, fällt aber als Alkaloidreagens auch das Histon. Die *Pikrinsäure* (29) hingegen gibt keine Manganfärbung der Nerven, da sie sich als sauerstoffreiche Substanz selbst mit den reduzierenden Nerven unter Gelbfärbung verbindet und damit deren oxypolare Verwandtschaft zum später kommenden Kalipermanganat aufhebt. Eine ganz isolierte Stellung unter den Säuren nimmt die *Schwefelsäure* (31) ein, welche ein überraschend gutes Nervenbild liefert, obwohl sie in jeder Konzentration das Histon für sich leicht auflöst. Dieses merkwürdige Verhalten ist nur erklärlich, wenn wir die Anwesenheit eines Lipoidgürtels hinzuziehen und die besondere Wirkung der Schwefelsäure auf denselben berücksichtigen. Die Schwefelsäure spaltet aus ihm die Fettsäuren ab, ohne sie, wie bei der Verseifung, mittels Alkalien·wasserlöslich zu machen. Das darauffolgende Kalipermanganat findet daher das eingeschlossene Histon noch vor und erzeugt das Nervenbild.

Unter Mitberücksichtigung des Lipoidgürtels kann daher die im allgemeinen das Nervenbild vernichtende Wirkung der Säuren durch eine Auflösung des Histons erklärt werden.

Weniger einfach ist die abschwächende Wirkung der Alkalien auf die Entstehung des Nervenbildes zu erklären. Es kommt darauf an,

in welcher Stärke und Form man dieselben mit dem Histon oder dem histonhaltigen Nerv zusammenbringt. Die starken Alkalien, Natronlauge (38) und Kalilauge (39) lösen bereits in sehr schwacher Konzentration (1\%) ebenso wie das Histon des Dorschspemas wie die manganliebende Substanz im Nerven auf. Die schwachen Alkalien dagegen verhalten sich verschieden, wie folgende Tabelle zeigt:

		Nerven	Histon
(35)	Soda	1\%	0
(36)	Soda	1\%	+
(39)	Ammoniak . . .	1\%	++
(40)	Ammoniak . . .	1\%	+++

Soda in 1 proz. Lösung verhält sich ebenso wie die starken Laugen; es löst Histon und verhindert das Nervenbild der Schnitte; in 1 promill. Lösung dagegen löst es das Histon nicht mehr und läßt ein deutliches, wenn auch schwaches Nervenbild erkennen. Das Histon fällende Ammoniak dagegen gibt regelmäßig ein gutes Nervenbild, und zwar noch bei einem Gehalt von 1% Ammoniak, im Gegensatz zu der 1 proz. Sodalösung. Sie wird aber noch übertroffen von der 1 promill. Lösung von Ammoniak. Diese ergibt stets gute Bilder, die stärker gefärbt sind als die mit 1% Ammoniak vorbehandelten¹⁾.

Da die Löslichkeitsverhältnisse der verschiedenen Histone unter sich erhebliche Unterschiede aufweisen, haben wir neben der Rubrik II (Histon A) von Kossels Dorschhiston noch eine weitere Rubrik III (Histon B) hinzugefügt, welche nach Angaben über Histone in Cohnheim's Lehrbuch: *Chemie der Eiweißkörper* (Vieweg, Braunschweig, 3. Aufl., S. 228) gemacht ist. Man sieht, daß die Angaben der Rubrik III (Histon B) in vielen Fällen mit den Angaben der Rubrik I (Nerv) besser übereinstimmen als die der Rubrik II (Histon A). So ist es besonders bei den Salzen. Man vergleiche in den bezüglichen Rubriken „Nerv“ und „Histon B“ die Lösungen Nr. 10, 12 usf. bis 18. Hier entspricht dem positiven Nervenilde die Fällung des Histons, während das Dorschhiston (Rubrik A) lauter negative Befunde gibt. Im übrigen sind die Lösungsresultate bei Histon A und B übereinstimmend, so bei den Alkaloidreagentien Nr. 21—24, bei den Säuren Nr. 26—34 und bei den Alkalien Nr. 35—40.

Für den Lipoidgehalt der Mangansperoxyd reduzierenden Substanz haben wir die wohl sicher nicht darin fehlende Ölsäure gewählt, da ihre Lösungsverhältnisse (Nr. 4—9) vollständig mit denen des Nerven-

¹⁾ Die Fällung des Histons durch die Alkalien als Vergleichsobjekt zum Nervenbild führt man am besten in der Form aus, daß man sich eine schwache wäßrige Lösung von Histon darstellt und das Alkali entweder tropfenweise als konzentrierte Lösung oder als Körnchen der Substanz hinzugibt, worauf eine mehr oder minder starke Fällung des Histons eintritt.

bildes übereinstimmen, was bei anderen Lipoiden, wie Stearin, Lecithin und Cholesterin nicht der Fall ist. Wir haben diese Daten in einer kurzen Rubrik IV unserer Tabelle hinzugefügt, um es dem Leser zu erleichtern, die Lösungsverhältnisse derselben mit denen des Nervenbildes Rubrik I zu vergleichen. Die Übereinstimmung mit dem Nervenbilde tritt natürlich schlagend hervor bei den organischen Lösungsmitteln Nr. 4—9, gleichzeitig aber auch die absolute Unvereinbarkeit mit den Ergebnissen Nr. 4—9 der 2. Rubrik Histon A. Ein Blick auf die Tabelle genügt also, um zu zeigen, daß gerade die Daten Nr. 4—9 der Tabelle sich gar nicht durch den Histongehalt, sondern nur durch den Gehalt eines Lipoides erklären lassen.

Die besprochenen Lösungs- und Fällungsverhältnisse geben bereits ein klares Bild desjenigen Stoffes, dessen Manganfärbung unserer Färbungsmethode zugrunde liegt. Ihre besondere Kompliziertheit ist auf den Umstand zurückzuführen, daß sie nicht nur — wie gewöhnlich — auf chemischen Eigenschaften der Gewebsbestandteile beruhen, sondern auch durch physikalische Eigenheiten derselben mit beeinflußt werden, nämlich durch die der Lipide. Die ersten bedingen durch ihre ausgesprochenen Affinitäten den positiven Charakter der gesuchten Substanz, die letzteren klären uns darüber auf, inwieweit diese zur Geltung kommen können. Indem sie hin und wieder hemmend wirken, begrenzen sie die Methodik unserer Nervendarstellung.

Die Resultate unserer Tabelle setzen uns schließlich auch in den Stand, denjenigen Forschern einen Rat zu geben, die gewohnt sind, ihre Nervenbilder durch Fixation zu gewinnen. Hierfür können wir empfehlen, die Gefrierschnitte in einer 1 proz. Lösung von phosphormolybdänsaurem Natron aufzufangen, welche die Nervensubstanz gut erhält und das übrige Gewebe nicht im mindesten angreift.