

(Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität in Wien [Vorstand: Prof. R. Maresch] und aus dem Pathologischen Institut der Universität in Breslau [Vorstand: Prof. M. Staemmler].)

Über ein sehr einfaches Verfahren der Markscheidenfärbung, zugleich eine neue Art der Färberei¹.

Von
Friedrich Feyrter.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 13. Dezember 1935.)

Anlässlich seiner Untersuchungen über eine bisher nicht beschriebene „neurogene gekörntzellige Geschwulstart des menschlichen Verdauungsschlauches“² hat sich Verf. auch mit den von F. Reich so genannten π -Granula der Schwannschen Zellen näher beschäftigen müssen. Diese Körnchen färben sich nach den Angaben Reichs mit wässriger Thioninlösung metachromatisch rot („karmoisinrot“). Das planmäßige Unternehmen Verf.s nun, zu ergründen, wie und unter welchen Bedingungen diese Metachromasie in Erscheinung trete, führte zur Aufdeckung des im folgenden beschriebenen, sehr einfachen Verfahrens der Markscheidenfärbung und damit zugleich einer neuen Art der Färberei.

Kurze Darstellung des Verfahrens:

1. Fixieren in Formalin (10% ige Lösung; 24 Stunden, auch kürzer oder länger) oder in Orthschem Gemisch.
2. Auswaschen in Aqua destillata und Anfertigung dünner Gefrierschnitte; Auffangen der Schnitte in Aqua destillata.
3. Aufziehen der Schnitte auf den Objektträger und Auftropfen einer wässrigen Thionin-Weinsteinsäurelösung.
4. Nach 5 Min. langer Einwirkung der Farblösung Auflegen des Deckgläschens auf die Schnitte und Absaugen der Flüssigkeit vom Rande her bis zum äußersten.
5. Umrahmen des Deckgläschens mit einer Kittmasse.
6. Betrachtung der Schnitte mit bewaffnetem Auge unter Verwendung einer sog. Tageslichtlampe als Lichtquelle.
7. *Ergebnis des Färbeverfahrens: Markscheiden leuchtend rot.*

Nähere Bemerkungen zu dem kurz geschilderten Verfahren:

Zu 1. Die besten Erfahrungen hat Verf. mit bald (2—4 Stunden) nach dem Tode der menschlichen Leiche entnommenen Gewebstücken

¹ Herrn Prof. Dr. Anton Ghon in Prag zum 70. Geburtstag gewidmet.

² Feyrter, Friedrich: Virchows Arch. **293**, 480 (1935).

gemacht. Doch befriedigte die Färbung ganz in der Regel auch noch an Stücken, die 1—2 Tage nach dem Tode gewonnen waren. Frisch fixierten Geweben ist selbst monatelanges Liegen in Formalin kaum abträglich.

Zu 2. Im allgemeinen genügt eine Schnittdicke von 10—15 μ .

Zu 3. Verf. verwendet ein *Thionin-Weinsteinsäuregemisch*, in der Regel in folgender Zusammensetzung: Thionin 1 g, Weinsteinsäure 0,5 g, destilliertes Wasser 100 g, oder in der von *P. Mayer* angegebenen Mischung: Thionin 2 g, Weinsteinsäure 1 g, destilliertes Wasser 1000 g, manchmal auch folgende Lösung: Thionin 1 g, Weinsteinsäure 1 g, destilliertes Wasser 1000 g (s. Bemerkungen zu 7).

Im allgemeinen kann man sagen, daß die *markhaltigen Nervenfasern* durch alle 3 Gemische *stets trefflich dargestellt* erscheinen. Übrigens gehen die genannten Massen nicht völlig in Lösung oder erhalten sich nicht auf die Dauer gelöst. Gleichwohl ist das Färbeergebnis der drei Gemische in der Regel insofern verschieden, als der stärkere Zusatz von Weinsteinsäure Mischöne in der Färbung an Zahl und Ausmaß verringert. Verf. hat die längste Zeit mit Thionin pur. *Ehrlich*, bezogen von der Firma Grübler & Co., Leipzig, gearbeitet. Das Thionin H 363 der Firma Dr. K. Hollborn & Söhne ist für das Färbeverfahren Verf.s wenig geeignet, da es zu blaustichig färbt. Das Thionin, standardisiert *Bayer-Meister Lucius*, das durch die gleiche Firma vertrieben wird, färbt weniger blaustichig und ließe sich in folgender Mischung verwenden: Thionin 0,2 g, Weinsteinsäure 0,1 g, destilliertes Wasser 100 g, doch empfiehlt Verf. der Einheitlichkeit wegen, seine Angaben zunächst mit einem von der Firma Grübler & Co., Leipzig, bezogenen Thionin pur. *Ehrlich* nachzuprüfen. Übrigens lassen sich auch Thionin-Essigsäuregemische und Thionin-Citronensäuregemische u. dgl. mit Erfolg verwenden; doch stimmen die Färbeergebnisse nicht genügend überein, von der stets trefflichen Darstellung der Nervenfasern abgesehen; um Verwirrung zu vermeiden, erscheint es angezeigt, vorerst von derlei Versuchen völlig abzusehen. — Viel weniger verwendbar, wiederholt überhaupt nicht geeignet, ist die einfache wässrige 1% ige Thioninlösung. Es ist besser, die Lösungen vor Gebrauch einige Tage stehen zu lassen, als sie unmittelbar nach dem Ansetzen zu benützen. Die Bildung eines Bodensatzes macht sie nicht unbrauchbar.

Zu 4. Luftblasen sind naturgemäß sorgfältig zu vermeiden und ebenso gröbere Faltenbildung am Schnitt.

Zu 5. Verf. verwendet zum Umrahmen der Schnitte das von *B. Romeis* empfohlene, von *du Noyer* angegebene *Lanolin-Kollophoniumgemisch*.

Zu 6. Die Schnitte können an sonnigen Tagen bei Tageslicht mit bewaffnetem Auge betrachtet werden. Farbenprächtiger erscheinen sie freilich bei künstlichem Licht; doch soll die künstliche Lichtquelle nicht

gelbes Licht spenden, denn dieses beeinträchtigt die Schönheit der Farbtöne. Die beste Lichtquelle ist eine sog. Tageslichtlampe von etwa 60 Watt. Ein gutes Mikroskop ist Voraussetzung und ein sorgfältiges Wechseln der Blendenweite beim Ändern der Vergrößerung ist nötig; bei den schwächsten Vergrößerungen bleibt die Blende am besten völlig offen. (Geradezu prachtvolle Bilder bieten sich dem Beschauer dar bei Verwendung z. B. eines binokulären Stativs der Firma Zeiß unter Verwendung des Objektivs 8 und 40, des Oculars 7; Eigenvergrößerung 1,5.)

Zu 7. Das Färbeergebnis tritt, wenigstens am peripherischen Nervengewebe, in der Regel innerhalb von 5—10 Min. noch nicht abgeschlossen in Erscheinung. Um diese Zeit zeigen die Markscheiden zumeist kaum mehr als eine graugrünliche Verfärbung mit einem Stich ins Rötliche. Manchmal röten sich die Markscheiden rascher, aber für gewöhnlich braucht es Stunden, ja sogar einen Tag, manchmal noch länger, bis die Schönheit und Satttheit der Farbtöne ihren *Höhepunkt* erreicht.

Der Ausfall der Färbung am markhaltigen Gewebe der verschiedensten Organe ist nach den Erfahrungen Verf.s stets, auch viele Stunden nach dem Tode ein befriedigender. Nicht das gleiche gilt von Gehirn und Rückenmark; hier schlägt das geschilderte Färbeverfahren wiederholt fehl, insoferne als das Mark nur *scheckig* sich rötet. Der Umstand, daß die Schnitte an die Oberfläche der Farbflüssigkeit streben und fleckweise aus ihr auftauchen, erklärt dies zum mindesten nicht *allein*. Beseitigen läßt sich der in Rede stehende Übelstand jedenfalls *leicht* durch Übertragen der Gefrierschnitte vor dem Aufziehen in einen niedriggradigen (30% igen) Alkohol, in dem sie 10 Min. verweilen. Ein Faserverlust durch Markscheidenauflösung ist dabei nicht zu fürchten, wie Verf. aus Fällen, in denen Rückenmarks- und Gehirnschnitte auch ohne Alkoholvorbehandlung nach dem eingangs angeführten Verfahren einwandfrei sich färbten, durch Vergleich erfahren hat. Irgendeine gestaltlich nur nicht faßbare Änderung aber muß der niedriggradige Alkohol an der Markmasse ja doch herbeiführen.

Am Gehirn und Rückenmark hat das Färbeverfahren vielleicht den weiteren Nachteil, daß anscheinend keine so befriedigende Aufhellung eintritt wie in den Schnitten aus anderen Organen. Das hängt wohl irgendwie mit der überwiegend fettigen Natur der in Rede stehenden Gewebe, der wässerigen Beschaffenheit der verwendeten Farblösung und vielleicht auch mit der verhältnismäßigen Dicke der Gefrierschnitte zusammen. Doch lohnt es sich jedenfalls auch am Rückenmark und Gehirn neben *Spielmeyers* Markscheidenfärbung das Verfahren Verf.s anzuwenden, insoferne, als es nicht nur die Markscheiden in roter Farbe, sondern überdies das Tigroid der Ganglienzellen dunkelblau¹, das

¹ Hier begegnet sich das Färbeverfahren Verf.s mit der Darstellung des Tigroids der Ganglienzellen *im Paraffinschnitt* nach P. Mayer [Thionin 2 g, Weinsäure 1 g, destilliertes Wasser 1000 g; s. Z. Mikrosk. 35, 81 (1918)].

Pigment der Ganglienzellen grünlich und die Corpora amylacea bläulichrot vortreten läßt.

Die Früchte des von Verf. hier mitgeteilten Färbeverfahrens liegen nämlich nicht nur auf dem Felde der Markscheidendarstellung. Es handelt sich vielmehr um die *Aufdeckung einer neuen Art, zu färben, überhaupt*, die Verf. zukunftsreich und ausbaufähig erscheint.

Die bisher bekannten und gebräuchlichen *Arten der histologischen Färbung* werden im wesentlichen unterschieden in die *progressive* und in die *regressive* Art der Färbung.

Wir können in dem in Rede stehenden Zusammenhang hier davon absehen, daß man auch zwischen *substantiver* (direkter) und *adjektiver* (indirekter), sowie zwischen *simultaner* und *sukzedaner* Färbung unterscheidet; denn diese Arten der Färbung sind ebenso wie noch etliche andere, z. B. das Verfahren *Pischingers* zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes in den Geweben, im Grunde doch nur besondere Abarten der progressiven Färbung. Man kann also mit einem bestimmten Farbstoff, bzw. einem bestimmten Farbstoffgemenge *fortschreitend färben* bis zu einer gewissen gewünschten oder brauchbaren oberen Grenze, oder *überfärben*, und bis zu einer gewissen gewünschten oder brauchbaren unteren Grenze *entfärben*.

Genau genommen bezieht sich diese Einteilung der Färbearten wesentlich und *im groben* nur auf die *Einwirkung der eigentlichen Farblösung* auf die Schnitte, bzw. auf deren Rolle im Ablauf des ganzen Färbevorgangs und hinsichtlich seines Endergebnisses. Das Hämatoxylin z. B. läßt sich gut in diese Einteilung fügen.

Auf den von Verf. hingegen verwendeten Farbstoff, auf das Thionin, bezogen, befriedigt die angeführte Einteilung nicht ganz. Das sei wie folgt erläutert:

a) Kann man Nervengewebe mit Thionin auf die übliche Weise *fortschreitend* färben?

Läßt man die Schnitte eines Organs mit markhaltigen Nervenfasern in einer gesättigten, mit Weinsteinsäure versetzten Thioninlösung minutenlang liegen, so färbt sich die Markscheide grünlichgrau mit einem Stich ins Rötliche an. Das wäre eine *fortschreitende*, freilich nicht befriedigende Färbung. Kann man sie in dieser Form überhaupt festhalten? Durch die bisher gebräuchliche Fortsetzung des Färbeganges, nämlich durch Anwendung eines der geläufigen Aufhellungsmittel, nicht. In Glycerin oder in Glycergelatine entfärben sich die Markscheiden alsbald; führt man die Schnitte rasch durch steigenden Alkohol in Xylol, so bleibt von der Färbung der Markscheiden nur ein blasser, bläulicher oder gar nur gelblicher Ton übrig; allzulanges Verweilen der Schnitte in höhergradigem Alkohol und in Xylol führt überhaupt zur Auflösung der Markscheiden.

b) Kann man Nervengewebe mit Thionin *rückläufig* färben?

In Schnitten, die in wässriger Thioninlösung 5—10 Min. belassen, in steigendem Alkohol rasch entfärbt und entwässert, in Xylol aufgehellt und in Balsam eingeschlossen werden, erscheinen die sog. π -Granula der Schwannschen Zellen karmoisinrot (*F. Reich*). Die metachromatische Rotfärbung der besagten Körnchen tritt in der Farblösung, wie sich Verf. überzeugte, alsbald ein, das Durchführen der Schmitte durch den Alkohol und das Xylol läßt jedoch die Färbung der Körnchen deutlicher hervortreten durch teilweise oder völlige Entfärbung und Auflösung der Markscheiden.

c) In wässriger Thioninlösung *nach dem Verfahren Verf.s* gefärbt, erscheinen die Markscheiden der Nervenfasern rot, die Kerne blau. An und für sich ist diese Art zu färben, wenigstens am Nervengewebe, eine *fortschreitende*, aber mit der *gewöhnlichen* fortschreitenden Färbung, wie sie bei Anwendung der verschiedensten Mittel auf die *übliche* Weise erreicht wird, kann sie nicht gut auf eine Stufe gestellt werden. Läßt man nämlich Schnitte eines Organs mit markhaltigen Nervenfasern in wässriger Thioninlösung stunden-, ja selbst tagelang liegen, so tritt wohl eine schmutzige graugrünliche Anfärbung der Markscheiden, niemals aber auch nur entfernt eine *richtiggehende* rote Färbung in Erscheinung. *Dazu müssen* die Schnitte in der Farblösung *eingeschlossen* werden; gleichgültig ist, ob dabei Glas, Glimmer oder Bergkrystall verwendet wird.

Die in vorliegender Arbeit geschilderte *Markscheidenfärbung* ist, wie bereits oben kurz erwähnt, nur ein eindrucksvolles *Teilergebnis* der Thioninfärbung nach dem Verfahren Verf.s Hier ist nicht der Ort, *all* das anzuführen, was diese Art zu färben leistet. Bloß um einen gewissen Begriff von ihrem Reichtum an Ergebnissen zu vermitteln, seien *kurz folgende wichtige Beispiele herausgegriffen*:

Markloses Nervengewebe rosafarben, *Vater-Paccinische* Lamellenkörperchen (Zehenhaut) zart rosarot, ihr Innenkolben kräftig rot, *Meißnersche* Tastkörperchen rosafarben (s. Abb. 1a), Nebennierenmarkzellen und ein Teil der sog. gelben Zellen des Darmepithels zart rosa-rot bis purpurrot. Gewöhnliches Bindegewebe farblos, zart rosafarben jedoch das Endoneurium und Perineurium; die Bewertung der Metachromasie in *krankhaft* neugebildetem Bindegewebe bedarf noch einer sorgfältigen Untersuchung; glatte und quergestreifte Muskelfasern himmelblau bis blaugrünlich, wie phosphoreszierend.

Von großem theoretischem Interesse ist die augenfällige Tatsache, in wie ausgedehntem Maße die Metachromasie im Bereiche des Nervengewebes in Erscheinung tritt; allem Anschein nach vor allem an eine bestimmte Zellgattung gebunden: nicht an die Ganglienzellen, nicht an die Gliazellen, wohl aber an die *Schwannschen* Zellen in ihren verschiedenen Abarten. Und auch nicht an alle Vertreter dieser Zellgattung in

gleicher Weise, insoferne, als in den von Verf. untersuchten Fällen die Zellen des *Zuckermandlschen* Organs auffällig langsam und keineswegs so kräftig wie die Nebennierenmarkszellen sich röteten, die Zellen des Glomus caroticum hinwieder überhaupt jegliche Metachromasie vermissen ließen; im Lichte der *Göthlinschen* Lehre von der grundsätzlichen Gleichheit markhaltiger und markloser Nervenfasern erscheint

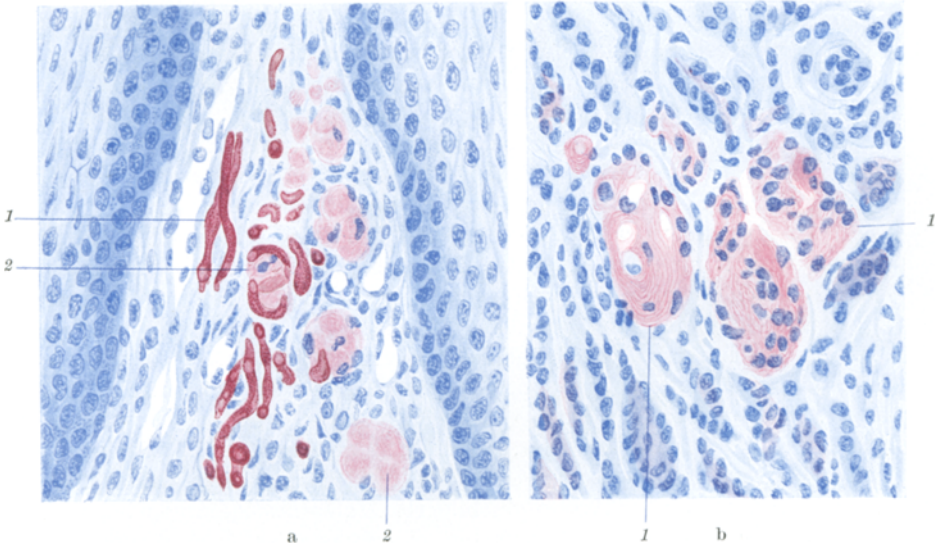


Abb. 1a. (Leichenöffnung Nr. 313/1935, Krankenhaus Allerheiligen, Breslau.) 72jähriger Mann, Pneumonia lobularis nach Leistenbruchoperation. Fixierung in Formalin, Thioninfärbung nach dem Verfahren Verfassers. Zungenpapille. 1 Markhaltige Nervenfasern, 2 *Meißnersche* Tastkörperchen.

Abb. 1b. (Leichenöffnung Nr. 282/1935, Krankenhaus Allerheiligen, Breslau.) 81jährige Frau, Magenkrebs. Fixierung in Formalin, Thioninfärbung nach dem Verfahren Verfassers. Naevus papillaris pigmentosus der Bauchdecke. 1 *Meißnerschen* Tastkörperchen sehr ähnliche Gebilde.

besonders bemerkenswert, daß beide Arten von Nervenfasern metachromatisch sich röteten, die markhaltigen kräftig, die marklosen zart. An altem Leichenmaterial (Wurmfortsatz) ist diese zarte Metachromasie marklosen Nervengewebes gelegentlich nur schwach entwickelt. Leuchtend rot hingegen färben sich die neuromartigen Wucherungen im Wurmfortsatz, die *Maresch* erstmals beschrieben hat (1921).

Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang die rosenrote Anfärbung des Hinterlappens der Hypophysis, im Gegensatz zur niemals Metachromasie zeigenden *gewöhnlichen Glia*.

Beachtung verdient im gleichen Zusammenhang die bereits oben erwähnte Rotfärbung der sog. gelben Zellen im Darmepithel, von denen bekanntlich *Masson* die freilich nicht unwidersprochen gebliebene Auffassung eines „Neurentodermes“ vertritt, naturgemäß auch die Meta-

chromasie der sog. Carcinoide, deren Zellen ja den sog. gelben Zellen des Darmepithels gestaltlich und damit wohl auch in ihren Lebensäußerungen vergleichend an die Seite zu rücken sind. Metachromatische Rotfärbung ihres Randes zeigen auch zum großen Teil die Naevuszellen, welche *Masson* bekanntlich für in Wucherung geratene, dem Nervengewebe zugehörige Zellen erklärt. Und wenn *Masson* in Naevuszellengeschwülsten Körperchen beschrieben hat, die er den *Meißner*-schen Tastkörperchen, also bestimmten von *Schwann*-schen Zellen gebildeten kleinen Organen, an die Seite setzt, so wird das Zutreffende dieser scharfsichtigen Beobachtung sinnfällig vor Augen geführt durch den Ausfall der Thioninfärbung nach dem Verfahren Verf.s, insoferne, als in solchen Schnitten die geradezu verblüffende Ähnlichkeit eindrucksvoll aufscheint (s. Abb. 1 b).

Eine *ausschließliche* Metachromasie gewisser Teile des Nervengewebes, bzw. jener Zellen, die dem Nervengewebe mit mehr oder minder guten Gründen zugerechnet werden, besteht jedoch *nicht*; so zeigen, um wieder nur ein Beispiel anzuführen, die Zellen des Vorderlappens der Hypophysis in wechselnd großer Zahl metachromatische Rotfärbung, wobei die metachromatisch sich färbenden Zellen nicht etwa schlechtweg in eine der *bekannten* Zellgruppen sich fügen lassen.

Im übrigen ist das Thionin auch nach dem Verfahren Verf.s angewandt ein *Schleimfärbemittel*; man kann sogar sagen: in erhöhtem Maße, insoferne, als das hierbei auftretende Rot ungewöhnlich kräftig und leuchtend entgegentritt. Doch stimmt das Färbeergebnis weder mit dem Wirkungsbereich des Mucicarmins noch mit dem des *Best*-schen Carmins (*V. Patzelt*) überein, deckt also neue Unterschiede auf. Vorzüglich dargestellt erscheinen die sog. Atraktosomen (*Schaffer*), die Knorpelgrundmasse, meist schmutzigrot und dabei scharf gezeichnet die Mastzellenkörnchen. Weitere, vielleicht wertvolle Dienste wird das Verfahren in der Erforschung der unter gewöhnlichen und unter krankhaften Verhältnissen, namentlich in der Leber, und zwar sowohl in den Leberzellen wie in den *Kupffer*-schen Sternzellen, in der Niere und Nebenniere, in Geschwülsten (z. B. in Krebsen der Vorsteherdüse) vorkommenden *Fettstoffe* leisten, insoferne, als es, um wieder nur einige Beispiele herauszugreifen, reines neutrales Fett und reine Cholesterinester ungefärbt läßt, bzw. mitunter erst nach langem grünlich anfärbt, während z. B. die Inhaltsmasse der *Pick-Niemann*-Zellen oder die cerebrosidige Masse der *Gaucher*-Zellen in voneinander verschiedenen Farbtönen rot gefärbt erscheinen. Eine Vermutung Verf.s geht übrigens dahin, daß die Metachromasie zumindest im Bereiche des Nervengewebes auf dessen Gehalt an *besonderen* Fettstoffen, nämlich an Glykolipoiden (Cerebrosiden) beruhe¹.

¹ Vgl. *Feyrter, Friedrich*: Virchow's Arch. **295**, 496 (1935). Die Behandlung der Gefrierschnitte mit Fettlösungsmitteln vor der Färbung¹ ermöglicht lipide und nichtlipide metachromatisch sich färbende Stoffe voneinander zu scheiden.

Sorgfältig wird das Ergebnis des in Rede stehenden Färbeverfahrens zu vergleichen sein mit der *Smith-Dietrichs*chen Reaktion; zunächst wenigstens hat es sehr den Anschein, als führe die Thioninfärberei nach dem Verfahren Verf.s um einen Schritt weiter in der histologischen Unterscheidung der Lipoide. Untersuchungen darüber sind im Gange gemeinsam mit Herrn Prof. *E. Schmitz* (Breslau).

Über all diesen eindrucksvollen Teilergebnissen aber steht *eine* Wirkung der besagten Färberei; nämlich die, daß allüberall, auch dort, wo keine *überraschenden* Farbtöne in Erscheinung treten, die Einzelheiten des Gefüges und der Einschlüsse in den verschiedensten Zellen und Geweben augenfällig vortreten. Paraffinschnitte muten, damit verglichen, zunächst förmlich leer an und lassen wiederholt gewisse feine Einzelheiten erst dann in ihrer Bedeutung und in ihrem ganzen Umfange erkennen, wenn sich das Auge für sie an Schnitten, die dem Färbeverfahren Verf.s unterworfen waren, geübt und geschärft hat. Aber wiederholt auch dann nicht; wenn diese Einzelheiten nämlich durch das eingreifende Einbettungsverfahren gelitten haben. Bedeutet doch das Verfahren Verf.s, von allem anderen abgesehen, größtmögliche Schonung der Gewebs- und Zellmasse.

Die Zukunft der von Verf. aufgedeckten Art zu färben liegt schließlich darin, daß ja in vorliegender Arbeit nur von der wässrigen *Thionin*-lösung die Rede ist. Wieviele Stoffe, namentlich von den sog. metachromasierenden Farbstoffen und Farbgemengen, gilt es nach dem gleichen Verfahren noch mit Gewinn auszuprobieren! Auch an dieser Stelle mag ein kleines *Beispiel*, der Hinweis auf das Kresylechtviolett, genügen.

Die Theorie der Färberei ist bekanntlich viel umstritten. Hier ist nicht der Ort, das eigentliche Wesen der von Verf. aufgedeckten neuen Färbeart eingehend zu ergründen. Der *Luftabschluß* macht es jedenfalls *nicht* aus; davon hat sich Verf. an Schnitten überzeugt, die er minuten-, stunden- und tagelang unter Deckglasabschluß in einer kleinen Menge von Farbflüssigkeit innerhalb der Höhlung eines „hohlgeschliffenen“ Objekttägers ohne Erfolg aufbewahrte, wie sie zur Beobachtung im hängenden Tropfen Verwendung finden. Gegen die Bedeutung des Luftabschlusses hinsichtlich des Eintritts der Metachromasie sprach schon die Tatsache, daß wider Willen miteingeschlossene Luftblasen den Ablauf der Färbung nicht verhinderten. Wir wollen das Verfahren vorderhand als das benennen, was es grobsinnlich ist, nämlich als „*Einschlußfärberei*“.

Im übrigen sind weitere Versuche, dem Wesen dieser Färbeart näherzukommen, gemeinsam mit Herrn Prof. *Königs* (Breslau) im Gange.

Die nach dem Verfahren Verf.s erzielte Färbung ist in der einfachen, hier geschilderten Art¹ nur beschränkte Zeit haltbar. Im allgemeinen verlieren die Schnitte nach etwa 1 Woche durch Nachdunkeln oder durch Abblässen oder sonstwie *etwas* von ihrer Schönheit. Das Verfahren Verf.s eignet sich nicht zum Anlegen einer Schnitksammlung, wohl aber für den Forscher. Ihm ist reichlich Zeit gelassen, die Schnitte während der Entwicklung und des Höhepunktes der Anfärbung wissenschaftlich auszuschöpfen.

Der Grund, warum das einfache, in vorliegender Arbeit mitgeteilte Färbeverfahren erst *aufgedeckt* werden mußte, liegt wohl darin, daß die Gewohnheit des Alltags, am Ende einer Färbung die Schnitte durch eines der *gebräuchlichen* Mittel *aufzuhellen*, vergessen ließ, daß jede Flüssigkeit mit einem innerhalb gewisser Grenzen liegenden Brechungsindex aufzuhellen vermöge. Anders ist wohl kaum zu verstehen, daß *Michaelis* in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik folgendes ausführt:

„Die erwähnten Fälle von Metachromasie (nämlich: die Metachromasie des Amyloids, der Mastzellenkörnchen, des Schleims, der Knorpelgrundmasse. Anmerkung Verf.s) sind nicht die einzigen. So färbt sich z. B. das fibrilläre Bindegewebe in einer wässrigen Thioninlösung violettstichiger als die Kerne. So färben sich *manchmal*² die Markscheiden der Nervenfasern in wässriger Thioninlösung *etwas*² rot. *Aber diese Metachromasien sind so labil, daß man sich auf sie nicht verlassen kann, und sie sind auf keine Weise zu fixieren*“ (l. c., S. 1378)².

Der Ausweg aus dieser Schwierigkeit wäre eben gewesen, in der Farblösung selbst einzuschließen.

Zusammenfassung.

1. In Gefrierschnitten, welche auf dem Objektträger in wässrige Thionin-Weinsteinsäurelösung eingeschlossen werden, tritt eine all-

¹ Grundsätzlich aber läßt sich das in Rede stehende Färbeergebnis an den markhaltigen Nervenfasern dauerhaft machen, wie folgt: Zunächst verfolgt man das Verfahren (s. S. 645) von Punkt 1.—4 einschließlich. Nunmehr läßt man jedoch die Kittmasse, statt mit ihr zu umrahmen, in Form je eines kleinen Tropfens auf die 4 Ecken des Deckglases sinken, bloß um es in seiner Lage festzuhalten. Einlegen des Schnittes in die Farblösung auf 48 Stunden. Entfernen der Kittmasse tropfen mit dem Messer und Freimachen des Schnittes in einer großen Schale, gefüllt mit bis zur Durchsichtigkeit verdünnter Thionin-Weinsteinsäurelösung. Übertragen des Schnittes in destilliertes Wasser auf einige Minuten. Einlegen in 5%iges molybdänsaures Ammonium für 10 Min. (s. *Romeis*, §§ 476 und 541). Aqua dest., steigender Alkohol, Xylol, Balsam. Derart gefärbte, vor Monaten hergestellte Schnitte zeigen die Metachromasie der Markmasse in unveränderter Stärke. Glycerin, Glyceringelatine, Lävulose erweisen sich in dem in Rede stehenden Zusammenhang als unbrauchbar.

² In der Urschrift nicht gesperrt. Es versteht sich, daß Verf. diese Angabe erst nach Aufdeckung seines Färbeverfahrens bei der Durchsuchung des Schrifttums nach etwaigen Vorläufern aufgefunden hat.

mählich und bis zu voller Ausbildung fortschreitende *Metachromasie* in Erscheinung, von mannigfaltiger Art, aber dabei für bestimmte Stoffe, Zellen und Gewebe jeweils kennzeichnend und gesetzmäßig. Diese neue Art, zu färben, nennt Verf. vorerst „*Einschlußfärberei*“.

2. Ein sehr eindrucksvolles Teilergebnis des Verfahrens ist die *Metachromasie* der markhaltigen und marklosen Nervenfasern, worüber vorliegende Mitteilung in erster Linie handelt.

3. Der vermutlich größte Nutzen der besagten Färberei ruht darin, daß ganz allgemein die feineren Einzelheiten des Gefüges und der Einschlüsse in den verschiedensten Zellen auch ohne *auffällige* Anfärbung eindrucksvoll vortreten.

4. Die „*Einschlußfärberei*“ verdient auf die verschiedensten frisch fixierten Organe und Gewebe des menschlichen Körpers, zunächst in deren normalem Zustand, planmäßig angewandt und ausgeprobt zu werden; vorerst mit dem Thionin, später auch mit anderen Farbstoffen, insbesondere mit sog. *metachromasierenden* Mitteln.

5. Die Übertragung der am Normalen erzielten Ergebnisse auf die Erforschung des *Krankhaften* wird sich von selbst verstehen, wofür Verf. bereits an dieser Stelle einige Beispiele anführt.

6. Das Färbeergebnis nach dem Verfahren Verf.s ist, in der geschilderten einfachen Weise angewandt, nur beschränkt haltbar; jedoch stets zumindest solange, als die sorgfältige, erschöpfende Durchforschung der Schnitte benötigt. Zur Einführung in das Färbeverfahren empfiehlt sich für die Nachuntersucher die menschliche Zunge.

Schrifttum.

- Feyrter, F.*: Virchows Arch. **295**, 480 (1935). — *Göthlin, S. F.*: Sv. Akad. Hdl. **51** (1913). — *Maresch, R.*: Wien. klin. Wschr. **1921 I**. — *Masson, P.*: Ann. d'Anat. path. **3**, 417 (1926). — *Mayer, P.*: Z. Mikrosk. **35**, 81 (1918). — *Michaelis, L.*: Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, 3. Aufl., S. 1378. 1926/27. — *Noyer, R. du*: Angef. nach *B. Romeis*, l. c., § 653. — *Patzelt, V.*: Wien. klin. Wschr. **1928 I**. — *Pischinger, A.*: Z. Zellforsch. **3**, 169 (1926). — *Reich, F.*: J. Psychol. u. Neur. **8**, 244 (1907). — *Romeis, B.*: Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 12. Aufl. 1928. — *Schaffer, J.*: Sitzgsber. ksl. Akad. Wiss. Wien III **126** (1917). — *Spielmeyer, W.*: Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems, 3. Aufl. 1924.
-