Zur Markscheidenfärbung.

Von C. Weigert in Frankfurt a. M.

Es sind jetzt fast neun Jahre her, seitdem ich zum ersten Male gezeigt habe, dass die Markscheiden der Nervenfasern im Centralnervensystem sich durch Farbstoffe electiv darstellen lassen, und zwar an Präparaten, die in üblicher Weise durch Chromsalze gehärtet sind. Bis dahin war zur Kenntlichmachung der Markscheiden nur die Ueberosmiumsäure benutzt worden, welche ja mit Hülfe der von Exner eingeführten Nachbehandlung durch Ammoniak vorzügliches leistet, aber so viele Nachtheile in der Benutzung hat, dass sie einer ausgedehnteren Verwendung nicht fähig war. Wenn ich mir einen kurzen Rückblick auf die Ausbildung der Markscheidenfärbung gestatten darf, so erinnere ich daran, dass jene erste Methode im Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1882 No. 42 und 43 mitgetheilt ist.

1. Diese erste Methode wurde auf der Naturforscherversammlung in Eisenach demonstriert. Schon bei dieser Methode (Säurefuchsin, Kalialkohol, Wasser) erkannte ich, dass die Färbung nur an Präparaten gelingt, die genügend lange mit Chromsalzen behandelt waren, und dass man sich hüten müsse, diese Salze durch Auswässern¹⁾ zu entfernen, — ein Grundsatz, gegen den sogar noch heute gesündigt wird. Die Säurefuchsinmethode leistete zwar im Gegensatz zu den damals allgemein geübten Carmin-, Nigrosinmethoden u. dergl. schon recht gutes, aber sie war doch noch sehr unvollkommen, heikel in der Anwendung und unzureichend zur Darstellung der feinen Fasern. Ich suchte daher die Methode zu verbessern und kam zunächst auf eine, die wenigstens

bequemer in der Ausführung war und auch in Bezug auf die feineren Fasern etwas mehr leistete.

2. Die zweite Methode bestand in der Anwendung des gewöhnlichen Fuchsin, d. h. eines basischen Anilinfarbstoffs (im Gegensatz zu der früher angewandten Sulfosäure desselben), welcher durch Zusatz einer kleinen Menge von Alkali besser haftend gemacht wurde. Die Differenzirung erfolgte durch eine starke Mineralsäure (Salzsäure). Auf der Naturforscherversammlung in Freiburg (1883) demonstrierte ich Präparate, welche mit dieser Methode gefärbt waren und erläuterte mündlich das Verfahren. Gedruckt erschien eine Beschreibung desselben am 15. Februar 1884 in der unter meiner Leitung gemachten Arbeit von Lissauer über Veränderungen der Clarke'schen Säulen bei Tabes dorsalis (Fortschritte der Medicin 1884 No. 4). Kurze Zeit darauf theilte (am 6. März) Adamkiewicz der Wiener Akademie ein Verfahren mit, das dem oben erwähnten zweiten Verfahren von mir analog war, nur benutzte er statt des Fuchsin einen anderen basischen Anilinfarbstoff, das Saffranin, und zur Differenzirung nicht Salzsäure, sondern Salpetersäure.

Adamkiewicz hat mein zweites Verfahren nicht gekannt, wenigstens erwähnt er dasselbe nicht (auch später nicht). Auch die Thatsache, dass ich schon 1 1/2 Jahre früher gerade eine elective Markscheidenfärbung angegeben hatte, wird von ihm übergangen, so dass er sogar die Behauptung aufstellt, die „bisher“ (d. h. bis zum 6. März 1884) gebräuchlichen Färbungsmethoden hätten nur „Kerne und Axencylinder“ tingirt, was ja ganz unrichtig war.

Bei dieser zweiten Methode waren zwar ein wenig mehr Fasern gefärbt, als bei der ersten, auch zeigten die Kerne etc. sich sehr deutlich, und zwar, wie beim Saffranin, metachromatisch gefärbt, aber die Färbung war doch noch sehr unvollkommen und ver-

¹⁾ Irgend einen Vortheil hat das unnütz zeitraubende Auswässern der Stücke ja garnicht, wenn man von der Entstehung etwaiger Niederschläge bei der Kupferung absieht. Auch diese kann man jetzt vermeiden, wie sich im folgenden zeigen wird.

gänglich. Noch mehr gelten diese Nachtheile für das von Adamkiewicz angegebene Verfahren.

Die Fuchsin-salzsäuremethode ist nur kurze Zeit, und zwar nur von mir und Lissauer benutzt worden, da ich sehr bald eine viel bessere Färbung fand.

3. Die dritte Verbesserung der Markscheidenfärbung bestand darin, dass ich nunmehr die eigentlich „lackbildenden“ Farbstoffe verwandte, d. h. die, welche mit Metallsalzen typische Verbindungen eingehen.

Zuerst benutzte ich Farben der Alizarinreihe. Von der Verwendung dieser Substanzen rührt noch die Auswaschung der Schnitte in einer alkalischen Lösung von rothem Blutlaugensalz her. Auf diese kam ich durch eine Bemerkung bei Schulz (Chemie des Steinkohlentheers 1. Auflage p. 953. In der 2. Auflage findet man die Angabe im 2. Band p. 611).

Sodann ging ich zum Haematoxylin über, von welchem ich zuerst die Alaunverbindung, dann den reinen Farbstoff benutzte. Endlich fand ich, dass man mit Haematoxylin viel bessere Resultate erhielt, wenn man nicht den allgemein üblichen Alaunlack, auch nicht den Chromlack benutzte, den Heidenhain schon (für andere Zwecke) verwandt hatte, sondern wenn man den bis dahin noch nicht benutzten Kupferlack in den Schnitten herstellte.

4. So ist denn die „Haematoxylinkupfermethode“, wie sie jetzt so vielfach angewendet wird, allmählich geworden. Bei ihr sind also vier Prozeduren zu unterscheiden:

- a) Härtung in Chromsalzen,
- b) Einführung des Kupfers in die Chromverbindung der Markscheiden.
- c) Färbung mit Haematoxylin.
- d) Differenzirung durch Borax-Ferridcyanalkalium.

Von den verschiedensten Seiten hat man nun an diesen Prozeduren Veränderungen vorgenommen, welche sämmtlich aufzuzählen überflüssig und kaum möglich ist. Man findet das nöthige darüber in der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie von Behrend's. Nur einige kurze Bemerkungen seien hier eingefügt. Die Veränderungsvorschläge beziehen sich auf einen oder auf mehrere der unter a—d aufgezählten Prozeduren. Einige nehmen Bezug auf Vorschläge oder Andeutungen, welche ich selbst gemacht hatte.

ad a) Für die Härtung der Präparate in Chromsalzen hatte ich schon einige Abweichungen gegenüber dem bis dahin üblichen Verfahren erwähnt. Ich hatte darauf hingewiesen (Centralblatt f. d. med. W. 1882 No. 46), dass man die Härtung in doppeltchromsaurem Kali durch Benutzung der Bruttofentemperatur beschleunigen könne. Gleichzeitig hatte ich auf eine Härtungsflüssigkeit aufmerksam gemacht, welche bis dahin ganz unbekannt geblieben war: auf das von Erlicki erfundene Gemisch von doppeltchromsaurem Kali und Kupfervitriol. Von der Anwendung dieser Erlicki'schen Flüssigkeit bin ich selbst bald abgekommen, schon wegen der ungleichen und mangelhaften Durchdringung der Präparate. Sodann haben auch Fedor Krause und ich gefunden, dass an Präparaten, welche nach Erlicki gehärtet und nach der obigen Methode gefärbt und differenzirt waren, noch andere Gewebsbestandtheile, namentlich elastische Fasern sich mitfärbten (mitgetheilt von Krause in seiner Schrift „Ueber maligne Neurome“ Leipzig 1887 p. 18).

In neuerer Zeit ist man wieder mehrfach auf diese Flüssigkeit zurückgekommen, so dass andere Forscher jedenfalls bessere Resultate mit ihr bekommen haben müssen. Namentlich ist die durch 50% Alkohol verdünnte Erlicki'sche Flüssigkeit unter dem Namen der Kultschitzky'schen Flüssigkeit kürzlich von Wolters warm empfohlen worden.

ad b) Als Ersatz für das in die gehärteten Präparate eingeführte Kupfer hatte ich selbst noch verschiedene Metallsalze geprüft, von denen ich (Fortschritte der Medicin 1855 No. 8) die des Blei, Zinn, Eisen und Vanadium erwähnt habe. Das letztgenannte Metall ist von Wolters neuerdings wieder zur Beizung gebraucht worden. Ich selbst hatte des theuren Preises wegen die Vanadiumverbindungen fallen gelassen, zumal für meine Zwecke keine wesentlichen Vortheile aus der Benutzung derselben herauskamen.

ad c) Was die Färbung mit Haematoxylin anbelangt, so hatte ich empfohlen, die Hämatoylinlösung durch Zusatz von Lithion carbonicum haltbarer und besser färbend zu machen. In neutraler wässrig-alkoholischer Hämatoylinlösung bilden sich sehr leicht Niederschläge, die durch den Lithionzusatz ausreichend vermieden werden. An dieser Vorschrift ist wenig geändert worden (vgl. aber sub d). Auch die Anwendung anderer Farbstoffe (Rothholz statt Blaulack, Gallein etc.) hat sich nicht einbürgern können. Das Hämatoylin ist ja nicht gerade billig, aber bei direktem Bezug auch nicht gar zu theuer, schlimmstenfalls kann man sich nach Paneth statt des reinen krystallisirten Hämatoylins des Campecheholzextractes, d. h. der Muttersubstanz jenes, bedienen.

ad d) Schon in meiner Mittheilung in den Fortschritten der Medicin 1855 No. 8 hatte ich darauf hingewiesen, dass die Differenzirungsflüssigkeit, welche ich empfohlen hatte, nicht die einzig

mögliche sei. Ich hatte von den vielen von mir versuchten anderen als Beispiel die Glycerinsalzsäure angeführt. Gerade für die Differenzirung ist nun von Pal eine Abart meiner sonst im wesentlichen von ihm festgehaltenen Methode mitgetheilt worden, welche so bekannt ist, dass sie einer Beschreibung an dieser Stelle nicht bedarf. Sie ist nach dem Princip der Lustgarten'schen Bacillendifferenzirung gemacht. Diese Modification meiner Hämatoylinmarkscheidenfärbung, die man auch hier und da sogar als eigene „Methode“ bezeichnet hat, hat neben einigen Nachtheilen auch entschiedene Vortheile. Sie geht sehr rasch, sie giebt sehr elegante Bilder und ist bei sehr dicken Schnitten unentbehrlich, da bei diesen die gewöhnliche Boraxferridcyanalkaliumlösung nicht ausreicht.¹⁾ Hiugegen hat sie den Nachtheil, dass sie für die feinen Fasern nicht sicher genug ist, dass sie für Serienschritte in Celloidin nicht verwendet werden kann, dass man mit den losen Schnitten zu viel Locomotionen vornehmen und dass jeder Schnitt einzeln behandelt werden muss.

Ich hatte gerade die Mischung des Borax und des Ferridcyanalkaliums so gewählt, dass die Entfärbung möglichst langsam vor sich ging. Diese langsame Differenzirung, welche von vielen Seiten als ein Nachtheil empfunden wird, halte ich für einen wesentlichen Vortheil, wenn man Gewicht darauf legt, möglichst viele Fasern gefärbt zu sehen. Man muss eben einen recht grossen zeitlichen Spielraum zwischen der übermässigen Entfärbung einerseits und der mangelhaften Differenzirung andererseits haben. Da die Boraxferridcyanalkaliumlösung den Vortheil hat, dass man den Fortgang der Differenzirung mit dem blossen Auge, oder eventuell mikroskopisch während der Differenzirung verfolgen kann, so war es sehr wünschenswerth, dass der Zeitabschnitt der richtigen Entfärbung nicht zu rasch vorübergehe, das heisst, dass dieser eben ein Zeitabschnitt und kein Zeitpunkt sei. Aus diesem Grunde habe ich einmal eine so schwach alkalische Substanz, wie der Borax ist, als Zusatz zum rothen Blutlaugensalz genommen, und habe ich ferner sogar die Concentration der Lösung für die mit Kupfer gebeizten Schnitte auf die Hälfte herabgesetzt gegenüber der früher von mir für ungekupferte Chrompräparate angegebenen Mischung. Bei der Pal'schen Modification meiner Methode sind zur Differenzirung zwei Flüssigkeiten nöthig, und erst nach Einwirkung der zweiten lässt sich der Grad der Entfärbung beurtheilen, so dass mau selbst bei einer gewissen Uebung leicht in die Lage kommt, des guten zu viel oder zu wenig zu thun. Für normale Präparate, bei denen es genügt, wenn nur einer oder der andere Schnitt vollkommen gelungen ist, kommt das Moment ja weniger in Betracht, als für pathologische, namentlich für solche des Grosshirns.

In neuester Zeit ist nun der Versuch gemacht worden, die Differenzirung ganz zu umgehen. So hatte Kultschitzky angegeben, dass durch Zusatz von Essigsäure oder von Borsäure (anstatt von Lithion carbonicum) die Hämatoylinlösung direkt, d. h. ohne weitere Behandlung mit entfärbenden Flüssigkeiten differenzirte Präparate lieferte. Diese Mittheilung war mir ungemein auffallend. Ich selbst hatte lange vorher schon Versuche gemacht, durch Essigsäurezusätze die Hämatoylinlösung electivfärbend zu machen. Aber trotz vielen Herumprobirens waren die Resultate sehr unsichere, je nach der vorher garnicht zu beurtheilenden Beschaffenheit der Präparate. Die Erfolge waren auch, wenn man nicht gar zu geringe Ansprüche stellte, sehr mangelhaft. Zu dem gleichen Urtheil kam ich, als ich nach Kultschitzky's Mittheilung die Versuche wieder aufnahm, und, wie ich sehe, sind auch andere nicht glücklicher gewesen. Ja Kultschitzky selbst ist von seinem Verzicht auf die Differenzirung, wie es scheint, zurückgekommen und wendet wieder das Blutlaugensalz an, nur mit dem Unterschiede, dass er das Hämatoylin zwar sauer, dafür aber die Ferridcyanalkaliumlösung um so stärker alkalisch macht. Ich habe seine Versuche nicht wiederholt. Ich kann nunmehr keinen Vortheil in ihnen erblicken, weil die Anzahl der mit den Schnitten vorzunehmenden Prozeduren nicht vermindert wird.

An und für sich ist ja die Differenzirung eine sehr kleine Mühe, der Zeitaufwand ist auch bei langsamer Entfärbung ein recht geringer, die Sicherheit ist genügend, so dass eine Färbung ohne Differenzirung hauptsächlich ein technisches Interesse hat. In keinem Falle darf eine solche direkt elective Färbung in Bezug auf die feinen Nervenfasern weniger leisten, als die mit nachträglicher Differenzirung der Schnitte.¹⁾ Auch wenn diese Forderung erfüllt

¹⁾ Eine Kernfärbung kann man, wie ich schon 1884 (Fortschritte der Medicin No. 6) bemerkt habe, auch an den durch rothes Blutlaugensalz differenzirten Präparaten mittels Alauncarmin erhalten.

²⁾ Als Testobject für die Färbung der feinen Nervenfasern sind nicht, wie es vielfach geschieht, die Transversalfasern dicht an der Oberfläche des Grosshirns anzusehen (diese färben sich leicht), sondern die Fasern, welche in breiter Schicht direkt unterhalb derselben liegen, d. h. die, welche das „supraradiäre“ Netz Edinger's bilden. Zu ihrer Darstellung ist es auch nöthig, dass die Gehirne frisch eingelegt und sehr sorgfältig gehärtet sind.

ist, fügt man aber der ursprünglichen Methode nichts wesentlich neues hinzu, da man bei kleiner Uebung die gleichen Resultate mit Differenzirung erreichen kann.

Ich würde daher die folgende Modification meiner Methode der Markscheidenfärbung, bei welcher eine nachträgliche Differenzirung der Präparate unterbleiben kann, nicht veröffentlicht haben, wenn sie nicht neben dem rein technischen Interesse noch einige, freilich nur kleine Vorzüge hätte.

Der bedeutendste dieser Vortheile ist noch der, dass bei dem bald zu schildernden Vorgehen die oft recht lästigen und dem Messer gefährlichen Niederschläge vermieden werden, welche bei der Kupferung sich sonst so oft an der Oberfläche der Schnittstücke bilden. Man kann ferner sehr elegante Präparate erhalten, die denen bei der Pal'schen Modification nicht nachstehen, aber ihnen in der Sicherheit der Bilder über sind, man kann auch eine der Manipulationen ersparen, welche mit den Schnitten vorzunehmen sind. Endlich wird bei dieser Procedur selbst das Minimum von subjectivem Ermessen, welches bei der Differenzirung der Schnitte nöthig war, überflüssig gemacht.

Man verfährt folgendermaassen: Die für das Mikrotom zurechtgeschnittenen Stücke gut in doppeltchromsaurem Kali gehärteten Materials werden wie gewöhnlich mit Alkohol behandelt, von Celloidin durchtränkt und in bekannter Weise auf Korke aufgeklebt, ganz wie bei dem unveränderten Verfahren. Wenn sie dann in 80%igem Alkohol fest geworden sind, so müssten sie nach meiner ursprünglichen Vorschrift im Brütöfen 24 Stunden auf einer mit gleichen Theilen Wassers verdünnten Lösung von Cuprum aceticum neutrale schwimmen. Ich möchte nun vorschlagen, statt dieser Lösung zunächst eine zu benutzen, die aus gleichen Raumtheilen einer kalt gesättigten und filtrirten Lösung von Cuprum aceticum neutrale und einer 10%igen Lösung von Seignettesalz in Wasser besteht. Das Seignettesalz, Tartarus natronatus, weinsaures Kali-Natron, $C^4H^4O^6KNa + 4H^2O$, ist den Medicinern ja von der Fehling'schen Lösung her bekannt, in welcher es mit einem anderen Kupfersalz, nämlich mit schwefelsaurem Kupferoxyd, und mit Kalilauge combinirt ist.

Auf dieser Seignettesalzkupferacetatlösung schwimmen die Stücke für 24 Stunden im Brütöfen. Grössere Stücke (Pons z. B.) können länger darauf bleiben (höchstens 48 Stunden) mit Erneuerung der Lösung nach Ablauf von 24 Stunden. Vermeidet man zu hohe Temperaturen, so werden die Stücke nicht brüchig.

Sodann lässt man die Stücke noch einmal für 24 Stunden, diesmal aber auf einer einfach wässrigen Lösung von neutralem Kupferacetat im Brütöfen schwimmen.

Eine Verdünnung der kalt gesättigten Lösung mit gleichen Theilen destillirten Wassers kann man vornehmen, aber auch unterlassen, da eben Niederschläge nicht zu befürchten sind. Hierauf werden die Präparate oberflächlich mit Wasser abgespült und in 80%igen Alkohol gethan. Schon nach $\frac{1}{2}$ –1 Stunde sind sie schneidbar, sie können aber natürlich beliebig lange in 80%igem Alkohol liegen bleiben.

Jetzt kommt die Färbung der Schnitte. Unter Umständen erhält man schon eine differenzirte Färbung bei den so vorbehandelten Schnitten, wenn man sich der bisher üblichen Haematoxylinlithionlösung bedient, gerade so wie man umgekehrt manchmal mit Benutzung der modificirten, gleich zu schildernden Farblösung an gewöhnlich (ohne Seignettesalz) gekupferten Stücken ähnliches erreicht. Beides ist aber durchaus unsicher und nicht zu empfehlen. Für die Färbung der mit Hilfe von Seignettesalz gekupferten Schnitte halte man zwei Lösungen vorrätig:

A. Die Lösung A besteht aus 7 ccm gesättigter wässriger Lösung von Lithion carbonicum und 93 ccm destillirten Wassers.

B. Die Lösung B ist die gewöhnliche Haematoxylinalkoholmischung (je 1 g Haematoxylin auf 10 ccm Alkohols).

Diese beiden Lösungen, die man, wie gesagt, vorrätig halten kann¹⁾, werden erst unmittelbar vor dem Gebrauch in den bisher üblichen Verhältnissen zusammengemischt (also 9 Raumtheile der Lösung A mit 1 Raumtheil der Lösung B). Man sei mit der Flüssigkeitsmenge nicht zu sparsam. Der Unterschied der neuen Farbstofflösung gegen die ursprünglich von mir empfohlene besteht also nur darin, dass sie stärker alkalisch ist, und dass die Mischung immer frisch hergestellt wird, während die alte gerade „abgelagert“ besser wirkte. Principiell stimmen beide Lösungen sonst überein.

Schon nach 4–5 Stunden sind die Schnitte (bei Zimmertemperatur) vollkommen gefärbt, doch kann man sie ohne jede Gefahr der Ueberfärbung 24 Stunden in der Farblösung lassen. Die Färbung der Fasern wird dabei noch dunkler und differenzirter.

¹⁾ Die Lithionmischung lasse man aber nicht zu alt werden.

Freilich kann man ohne Differenzirung nur lose Schnitte färben, keine Celloidinserien, und die Schnitte dürfen nicht dicker sein als $\frac{1}{40}$ mm (0,025).¹⁾ Sind diese Bedingungen erfüllt, so genügt ein einfaches Abspülen mit Wasser nach der Färbung: eine Differenzirung ist überflüssig.

Dieses Abspülen mit Wasser macht man praktisch in derselben Schale, in welcher die Schnitte gefärbt waren, ohne die letzteren heranzunehmen. Natürlich darf man als Färbeschalen nicht Uhrgläser oder dergleichen unbeholfene Gefässe verwenden, sondern Schalen mit senkrechten Wänden. In diesem Falle gelingt es durch langsames Abgiessen der dunklen Farbstofflösung mit Leichtigkeit, die Schnitte auf dem Boden des Gefässes nach dem Abfließen der Flüssigkeit zurückzubehalten. Man giesst dann destillirtes Wasser darauf und erneuert dasselbe in der gleichen Weise nach dem Abgiessen des vorher benutzten je nach Bedarf ein oder mehrere male. Die Schnitte kommen nun in 90%igen Alkohol, dann entweder in Carbolxylol, in welchem sie aber nicht zu lange liegen dürfen, oder besser in Anilinölxylol von derselben Zusammensetzung, wie ich sie für meine Fibrinfärbung angegeben habe (2 Raumtheile Anilinöl, 1 Xylol), dann in reines Xylol und endlich in Balsam.²⁾ Das Anilinöl greift die Farbe gar nicht an und ist daher dem Carbolxylol für diese Fälle vorzuziehen. Nur muss es sorgfältig in reinem Xylol abgewaschen werden, wenn man nicht mit der Zeit eine Bräunung des Balsams bekommen will. Die Aufhellung mit Anilinölxylol und die Auswaschung des Anilinöls kann man auch auf dem Objectträger vornehmen, auf den man die Schnitte direkt aus dem Alkohol bringt. Den letzteren entfernt man durch Abtrocknen in der bekannten Weise.

Das Celloidin bleibt bei dieser Art der Aufhellung natürlich ganz intact, da weder 90%iger Alkohol, noch Anilinöl, noch Xylol dasselbe lösen oder klebrig machen.

Ich habe statt der stark alkalischen Haematoxylinlösung auch die von Kultschitzky empfohlene saure benutzt, doch waren die Resultate sehr unvollkommen und unsicher.

Die nach dem oben erörterten Verfahren gefärbten Schnitte zeigen die markhaltigen Fasern dunkelblau bis schwarz auf hellem Grunde. Dieser färbt sich bald hellrosa. Das Randcelloidin nimmt manchmal eine hellblau Farbe an, die nicht weiter genirt, da sie im Innern der Präparate nicht antritt. Will man auch diese Färbung des Randcelloidins entfernen und den Untergrund der Fasern ganz besonders hell haben so, wie nach der Pal'schen Entfärbung, dann nimmt man statt des zweiten Answaschwassers eine $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{2}$ %ige Essigsäure (d. h. $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{2}$ Raumtheile gewöhnlicher Essigsäure auf 100 Wasser). Schon nach kurzer Zeit sieht man das Celloidin farblos werden und die letzte Spur der Färbung aus dem Untergrund verschwinden. Natürlich muss man die Essigsäure vor Benutzung des Alkohols wieder mit Wasser anwaschen. Nöthig ist die Anwendung der Essigsäure bei einigermaassen dünnen Schnitten aber durchaus nicht, bei heiklen Präparaten, wie bei solchen von der Grosshirnrinde, ist sie sogar entschieden zu vermeiden.

Sind die Schnitte zu dick, um ohne Differenzirung benutzt zu werden, oder will man aus den mit Seignettesalz vorbehandelten Stücken Celloidinserien machen, so kann man die ja überfärbten Schnitte entweder mit $\frac{1}{2}$ %iger Essigsäure oder (besser) in der bisher üblichen Weise differenziren, nur ist es gut, die Boraxferridcyanalinlösung dann noch zu verdünnen. Der Untergrund wird in letzterem Falle natürlich gelb.

Zum Schluss noch eine Bemerkung über Zellstrukturen, welche man unter Umständen bei ähnlichem Vorgehen sehen kann. Wenn das Chrom nicht genügend durch Kupfer ersetzt ist, wenn man z. B. die Behandlung der Stücke in der wässrigen Kupferlösung bei Zimmertemperatur statt im Brütöfen vornimmt, dann bekommt man oft sehr schöne Strukturelemente in gewissen Ganglienzellen zu Gesicht. Die Purkinje'schen Zellen des Kleinhirns zeigen nicht nur in den Zellkörpern, sondern auch bis in die allerfeinsten Ansläufer hinein eine feine schwarze Strichelung und Punctirung. Man erhält so ein sehr elegantes Bild der Zellverzweigung. Ähnlich steht es mit der einen Art der Zellen in der Körnerschicht des Kleinhirns, mit gewissen Zellen der Grosshirnrinde etc. Trotz dieser Zellkörnungen bleiben die markhaltigen Fasern deutlich abgehoben, aber je besser die Zellen gefärbt sind, um so leichter dunkeln die Schnitte nach. An den sorgfältig gekupferten Präparaten habe ich ein störendes Nachdunkeln nicht bemerkt.

¹⁾ Sowohl zu dicke Schnitte, wie in Celloidinschichten eingeschlossene dünne erscheinen dann gerade so überfärbt und undifferenzirt, als wenn sie in der alten Weise tingirt worden wären.

²⁾ Auch der Balsam muss mit Xylol verdünnt sein, nicht mit Chloroform, sonst bleichen die Schnitte mit der Zeit aus.