

Als man anfang, mikroskopische Präparate zu färben, um dadurch Einzelheiten besser hervorzuheben, war die Auswahl an Farbstoffen nicht groß. Die ersten Versuche wurden hauptsächlich mit den in der Natur vorkommenden und schon seit langem in der Textilfärberei benutzten Farbstoffen, wie Karmin bzw. Cochenille, Blauholz und Indigo gemacht.

Karmin ist ein tierisches Produkt; es wird durch Auslaugen und Fällungen aus Cochenille gewonnen und hatte vor der synthetischen Herstellung von Farbstoffen große wirtschaftliche Bedeutung. Die im Handel erhältliche Cochenille besteht aus 2,5–3 mm großen schildförmigen Körnern von schwarzer, roter oder silbergrauer Farbe (s. Abbildung). Diese Körnchen sind nichts anderes als die getrockneten Körper von weiblichen Schildläusen der Art *Coccus cacti* L., die ursprünglich in Mexiko heimisch ist und dort auf einer bestimmten Nährpflanze, dem Feigenkaktus *Opuntia coccinellifera* (Mill.) in Kulturen gezüchtet wird. Auf die interessante Geschichte der Cochenille, ihre Arten, ihre Bedeutung als Handelsware usw. kann hier nicht eingegangen werden. Die Frage, ob die Cochenille tierischer oder pflanzlicher Herkunft sei, war lange Zeit lebhaft umstritten worden, bis der holländische Kaufmann Melchior de Ruuscher 1729 durch sein Büchlein «*Natuerlyke Historie van de Couchenille*» den Beweis für den tierischen Ursprung der Cochenille erbringen konnte. In seinem 1753 erschienenen Buch «*Employment for the Microscope*» erwähnt der englische Arzt Henry Baker, daß es ihm gelungen sei, durch mikroskopische Untersuchungen von gequollenen Cochenillekörnern die tierische Herkunft der Cochenille zu bestätigen. Die Bildungsstätten des Farbstoffes in der Schildlaus wurden zuerst von Paul Mayer im Jahre 1892 nachgewiesen: Das Insekt enthält den von ihm produzierten Farbstoff in Form von karminsaurem Alkali nur im Fettkörper und im Dotter der Eier.

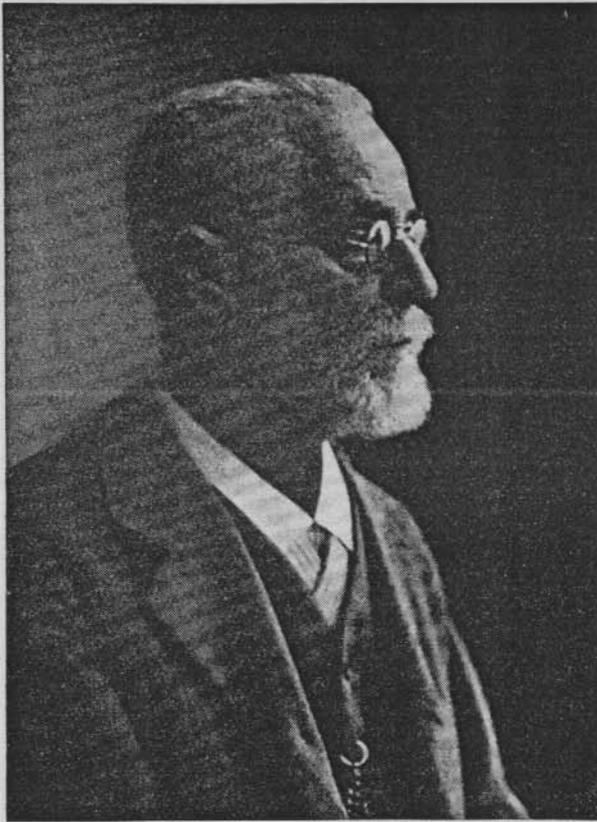
Im älteren Schrifttum finden sich mancherlei Unstimmigkeiten hinsichtlich der Namen der Farbstoffe. Wohl mehr aus Unkenntnis der chemischen Zusammensetzung als aus bewußter Irreführung wurden z. B. die Bezeichnungen Karmin und Karminsäure häufig

synonym gebraucht. Tatsächlich ist die genaue Zusammensetzung des Karmins auch heute noch nicht bekannt, fest steht nur, daß der Farbstoff eine eiweißhaltige Tonerde-Kalk-Verbindung der Karminsäure ist (C. Liebermann 1886), die je nach dem Rohmaterial und der Gewinnungsweise in ihrer Zusammensetzung variieren und infolgedessen auch sehr unterschiedliche färberische Eigenschaften besitzen kann.

Ursprünglich bot die Verwendung des Karmins in der histologischen Färbetechnik manche Schwierigkeiten, da es sich nur wenig in destilliertem Wasser löst. Erst die auf Th.¹Hartig

Weibchen der den Cochenillefarbstoff liefernden Cochenilleschildlaus (*Coccus cacti* L.). Kupferstich nach J. Wandelaar. aus dem im Jahre 1729 erschienenen Werke «*Natuerlyke Historie van de Couchenille*» des Melchior de Ruuscher.





Der Zoologe Paul Mayer (1848–1923), der während seiner langjährigen Tätigkeit an der Zoologischen Station in Neapel zahlreiche Färbemethoden ausarbeitete, besonders solche mit Karmin und Hämatoxylin. Er schuf die heute gebräuchliche Art der Paraffin-Einbettung. Aus: Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. 41, 1924.

und Gerlach zurückgehende Kenntnis, daß man wäßrige Karminlösungen von genügender Konzentration erhält, wenn Alkalien zugesetzt werden, ermöglichte überhaupt die frühere weite Verbreitung des Karmins als Färbemittel für mikroskopische Präparate. In den siebziger und achtziger Jahren des vorigen Jahrhunderts wurde eine große Zahl von Karminrezepten rein empirisch ausprobiert. Paul Mayer stellte fest, daß bis zum Jahre 1899 deren mindestens 35 bekannt waren. Von ihnen werden heute nur noch wenige benutzt, so vor allem Lithionkarmin nach Orth (1883), (über seine Verwendung bei der Vitalfärbung s. S. 3096) oder die alkoholische Borax-Karminlösung des Zoologen Herm. Grenacher (1879), die sich gut zur Stückfärbung eignet und bei embryologischen Untersuchungen oft verwendet wurde. Von Spezialfärbungen werden heute noch sehr geschätzt das Muzikarmin von P. Mayer (1896) zur Schleimfärbung und Karmin zur Glykogen-Darstellung nach F. Best, Dresden (1906). Um den Schwierigkeiten der je nach der Herkunft und

der Gewinnungsweise häufig schwankenden Zusammensetzung des Karmins zu entgehen, empfahl P. Mayer, die reine Karminsäure in der Form des Karmalauns (1891) und des Parakarmins (1892) zu benutzen; man verwendet diese Lösungen auch heute noch zu Stück- oder Schnittfärbungen, z. B. nach der Oxydasereaktion, nach der Eisenreaktion mit Blutlaugensalz, nach Vitalfärbungen usw.

Als sehr wertvoll erwies sich ein von Eduard Schwarz 1867 eingeführtes Färbeprinzip, das der Doppelfärbung. Schwarz kombinierte die Karminfärbung mit einer nachfolgenden Färbung mit Pikrinsäure; in seinen Präparaten zeigten sich die Kerne und das Cytoplasma verschieden gefärbt. Die Methode von Schwarz ist vielfach abgewandelt worden, z. B. 1868 von Louis Antoine Ranvier (1835–1922). Im Grunde aber ist jede unserer heutigen Doppelfärbungen, ganz gleich ob sie ein- oder zweizeitig ausgeführt wird, nur eine Fortsetzung der Arbeitsweise von Schwarz.

Ein zweiter in der Natur vorkommender Farbstoff, dessen Bedeutung in der histologischen Färbetechnik eher noch größer ist als die des Karmins, ist das *Hämatoxylin*. Es wird aus dem Kernholz von *Hämatoxyton campechianum* gewonnen, einer in Mittelamerika heimischen Leguminose, die unter dem Namen Blauholz bekannt ist. Aus dem Holz werden durch Extraktionen mit wasserhaltigem Äther Hämatoxylinlösungen hergestellt. Sie besitzen aber noch keine färberischen Eigenschaften. Aus diesen Lösungen kristallisiert das Hämatoxylin leicht aus; es ist in Wasser, Glycerin und Alkohol löslich und nimmt begierig Sauerstoff aus der Luft auf. Erst durch diese Oxydation, die sogenannte «Reifung», wird das Hämatoxylin zu einem Salze bildenden Farbstoff, dem Hämatein. Hämatein ist somit der färbende Bestandteil aller als «Hämatoxylin»-Lösungen bezeichneten Färbemittel. Spricht man in der mikroskopischen Technik von Hämatoxylinfärbungen, so sind immer Hämateinfärbungen gemeint. Hämatoxylin verhält sich wie eine Säure, deshalb muß bei der Färbung mit Hämatoxylin stets eine Base zugegen sein; man kann diese entweder als «Beize» allein auf die Schnitte einwirken lassen oder zusammen mit dem Farbstoff zuführen. Gelegentlich genügen auch die in den Objekten schon vorhandenen Salze, um die färbende Wirkung durch Hämatein allein zu erreichen. Als Basen

werden bei der Hämatoxylinfärbung Aluminium-, Chrom-, Eisen- oder Kupfersalze verwendet; die entstehenden Verbindungen sind Farblacke, sie enthalten stets Hämatein oder eine noch höhere Oxydationsstufe des Hämatoxylins. Erst die Kenntnis der eben angeführten Zusammenhänge, die in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts von der Textilfärberei übernommen wurde, ermöglichte die mannigfache Verwendung des Hämatoxylins in der mikroskopischen Technik.

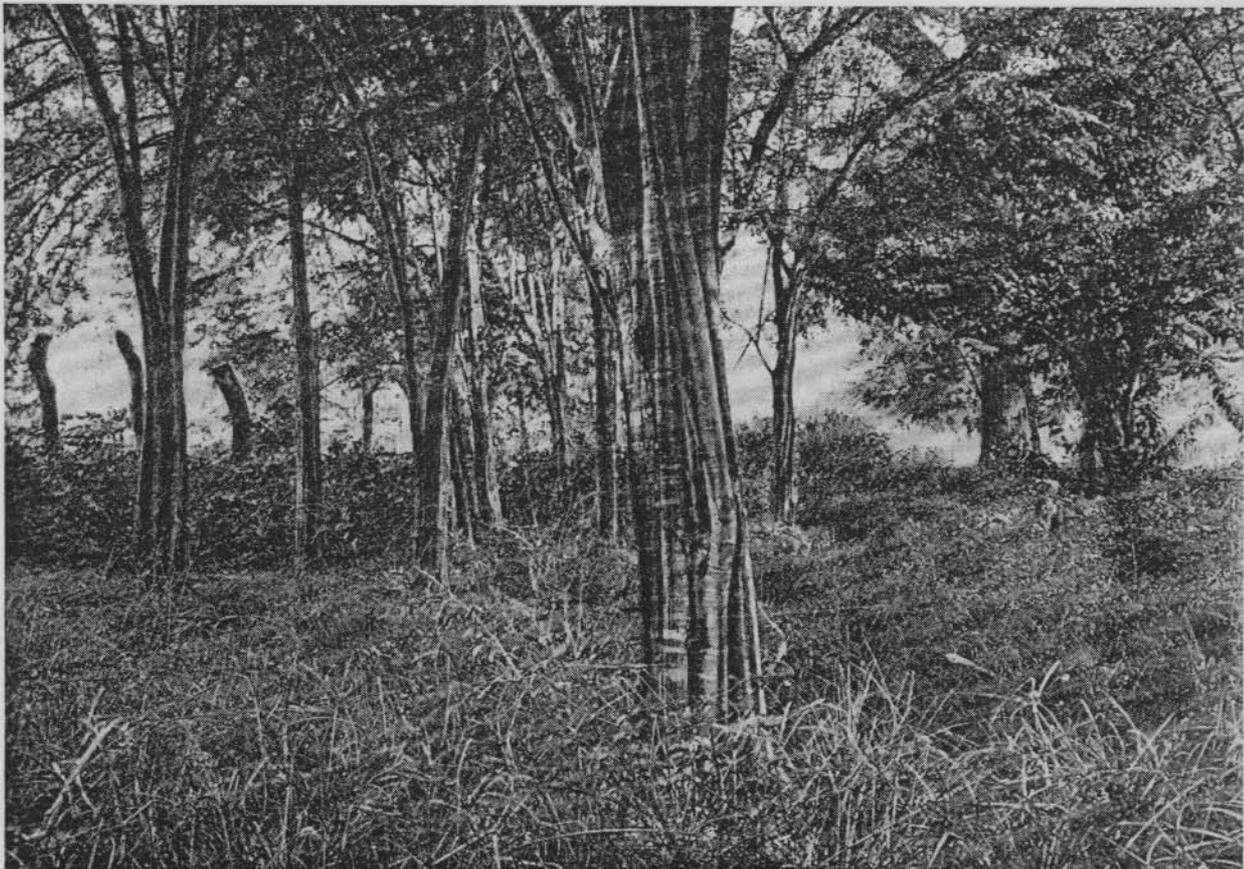
Wilhelm Waldeyer (1836–1921), der 1863 als erster mit Blauholzextrakten an tierischen Geweben, besonders an Nervenfasern, arbeitete, kam nur deshalb zu unbefriedigenden Ergebnissen, weil ihm die chemischen Vorgänge bei der Hämatoxylinfärbung nicht genau genug bekannt waren. Dabei muß man sich allerdings erinnern, daß Waldeyer ein ganz neues Arbeitsgebiet zunächst in tastenden Versuchen zu erschließen begann. Schon zwei Jahre später gelang es dem Arzt Friedrich Böhmer, durch Zufügen von Alaunlösung zum alkoholisch gelösten gereiften Hämatoxylin Kernfärbungen zu erzielen, die an Intensität und Prägnanz den Karminfä-

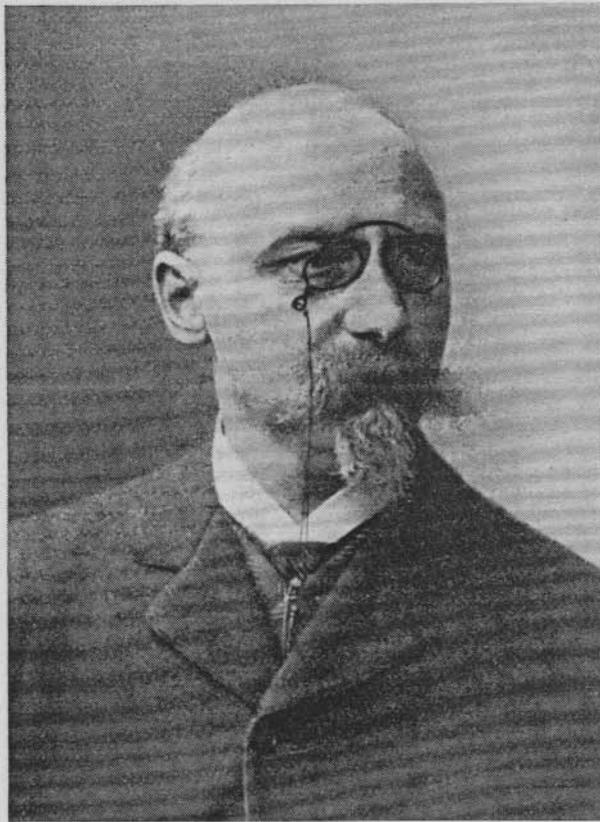
bungen derart überlegen waren, daß sich jetzt die Hämatoxylinfärbung sehr schnell einbürgerte. Prächtige Beispiele ihrer Verwendbarkeit bei cytologischen Studien lieferte Flemmings klassisch gewordenes Buch: «Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung», das 1882 erschien (siehe Abbildungen S. 3089).

Es ist nicht möglich, hier die zahlreichen, auf der Basis von Hämatoxylin entwickelten Färbemethoden anzuführen, an deren Ausarbeitung neben deutschen Wissenschaftlern besonders französische und englische Forscher beteiligt sind; nur einige wenige seien als Typen genannt.

Hämalaun, das 1891 von Paul Mayer eingeführt wurde, ergibt kräftige, reine Kernfärbungen; in der Handhabung ist es sehr einfach und daher heute wohl derjenige Farbstoff, mit dem der Anfänger am besten seine ersten Färbeversuche an tierischen Geweben und Organen ausführt. Mit Hämalaun wird gewöhnlich «progressiv» gefärbt, d. h. die Färbung wird unter mikroskopischer Kontrolle so lange fortgesetzt, bis der gewünschte Erfolg eingetreten ist. Kommt es zur Überfärbung, so kann man die Präparate durch ent-

Typische Blauholzwaldung (Haematoxylon campechianum) auf Jamaika. Zum Fällen der den Farbstoff Hämatoxylin liefernden Bäume ist das Unterholz entfernt worden. Nach Brockmann-Jerosch.





Der Kieler Anatom Walther Flemming (1843-1905) bekannt durch seine zellmorphologischen Arbeiten und seine Verdienste um die Vervollkommnung der histologischen Untersuchungsmethoden. Nach einer Photographie.

sprechende Weiterbehandlung «differenzieren». Ferner seien noch erwähnt das 1886 von Paul Ehrlich (1854-1915) erfundene saure Hämatoxylin, das nicht leicht überfärbt, und das 1885 von Prudden bekannt gemachte Delafieldsche Hämatoxylin.

Besonders wichtig geworden ist die Eisenhämatoxylinfärbung von Martin Heidenhain (geb. 1864), deren Anwendungsweise im Jahre 1892 veröffentlicht wurde (s. Abb. S. 3090). Nach dieser Methode behandelte mikroskopische Präparate erweisen sich als jahrzehntelang haltbar. Der Erfahrene wird mit der Eisenhämatoxylin-Färbung nach Heidenhain äußerst klar hervortretende Bilder der Strukturen gewinnen, und zwar nicht nur in den Kernen, sondern auch in den Zelleibern; allerdings erfordern die Ergebnisse dieser Färbemethode, gerade weil sie außerordentlich feine und vielstufige Differenzierungen ermöglicht, eine sehr kritische Beurteilung. (Beispiele von Eisenhämatoxylin-Färbungen zeigen die Abbildungen auf der Umschlagseite und auf S. 3090.) Die Entwicklung unserer Kenntnisse vom Feinbau der Chromosomen ist ohne die Eisenhämatoxylinmethode kaum denkbar. Flemmings Voraussage (1882), daß

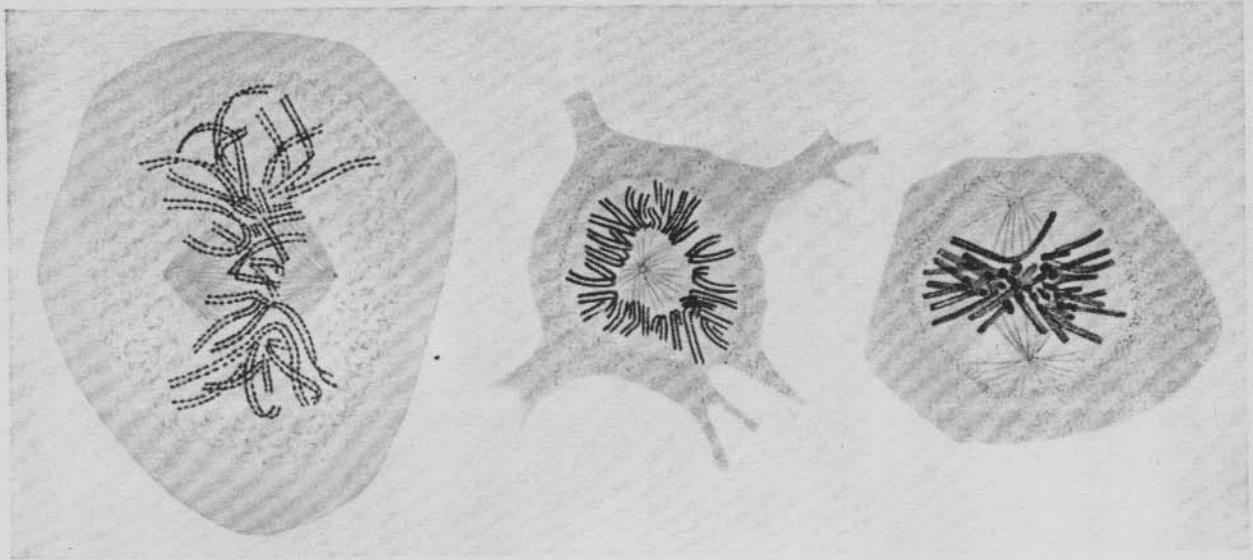
das Hämatoxylin bei den eingehenderen Studien der Zellstrukturen und der Zellteilung noch viele gute Dienste werde leisten müssen, erweist sich heute, nach 60 Jahren, als zutreffend.

Eine andere Verwendungsart des Hämatoxylins, die der Forschung ebenfalls erhebliche Fortschritte ermöglichte, ist die der Markscheidenfärbung des Nervengewebes; die Methode stammt von dem Frankfurter Pathologen Carl Weigert (1845-1904), der sie als erster 1882 anwendete und mannigfache Variationen ausgearbeitet hat. Seitdem ist eine große Spezialliteratur über die Markscheidenfärbung entstanden, die sich vor allem in den Werken über die Untersuchungstechnik des Zentralnervensystems findet.

Ein weiterer bei histologischen Studien benutzter Pflanzenfarbstoff ist das *Orcein*, als Rohprodukt *Orseille* genannt; es wird aus verschiedenen Flechtenarten, insbesondere aus *Rocella tinctoria*, gewonnen und wurde zuerst von C. Wedl im Jahre 1878 benutzt. Nachdem Tänzer 1891 die besondere Affinität des Orceins zum elastischen Gewebe erkannt hatte, wird es heute hauptsächlich zu dessen Nachweis verwendet.

Aus den verschiedenen Versuchen, tierische Gewebe mit Auszügen aus Fernambuk-Holz oder aus Alkannawurzel, mit Lackmus oder mit Indigo zu färben, haben sich keine heute noch benutzten Methoden entwickelt. Indigo ist hier nur deshalb erwähnenswert, weil auf ihn die Bezeichnung der für die moderne Färbetechnik unentbehrlich gewordenen Anilinfarbstoffe zurückgeht. Der durch den Apotheker Otto Unverdorben im Jahre 1826 mittels trockener Destillation des Indigos erstmals dargestellte Stoff, ein Ausgangsprodukt zahlreicher synthetischer Farbstoffe, wurde nämlich im Jahre 1840 durch Carl Julius Fritzsche nach der portugiesischen Bezeichnung der Indigopflanze, «*anil*», Anilin genannt.

Mit den *Anilinfarben*, die nach ihrem Ausgangsmaterial umfassender und zutreffender Teerfarben genannt werden sollten, ist dem Mikroskopiker heute eine geradezu unerschöpfliche Auswahl der verschiedensten Farbtöne in die Hand gegeben. Anfangs suchte man die Teerfarbstoffe vor allem deswegen zu histologischen Färbungen zu verwenden, weil man hoffte, in ihnen neue Unterscheidungsmittel für solche Gewebsbestandteile zu finden, die im nativen Zustand ganz gleich aus-

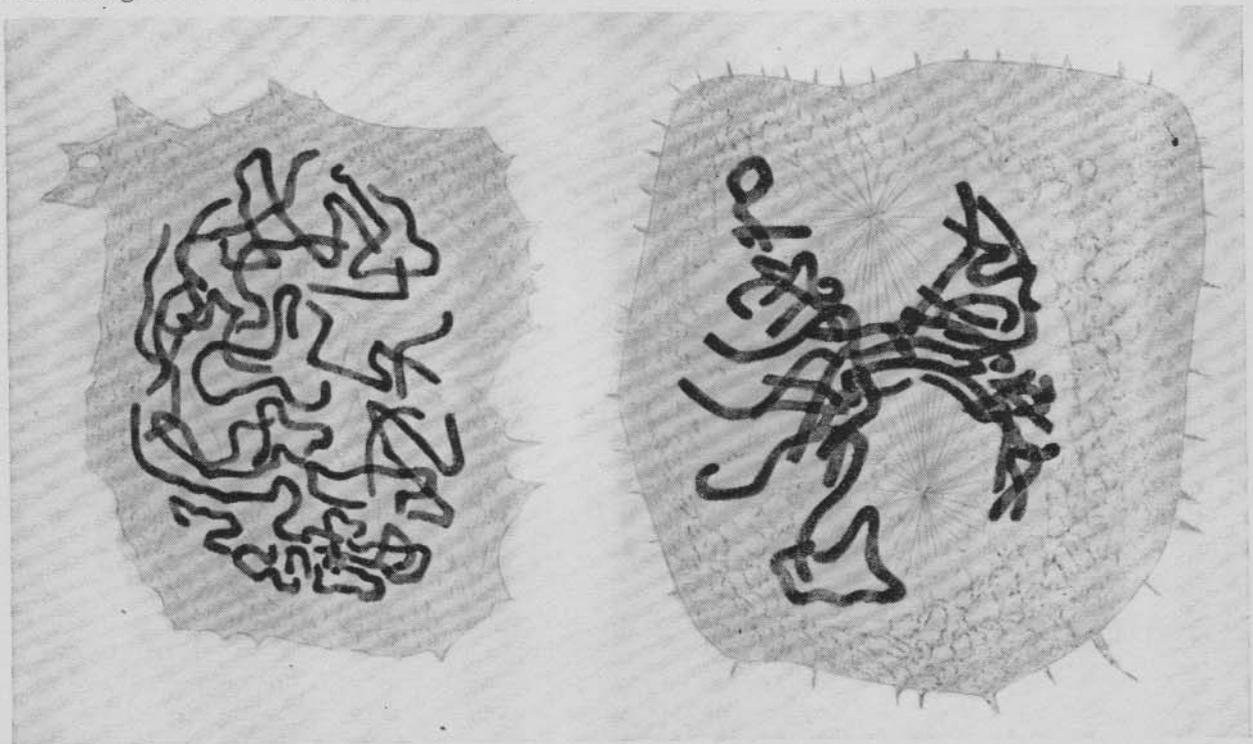


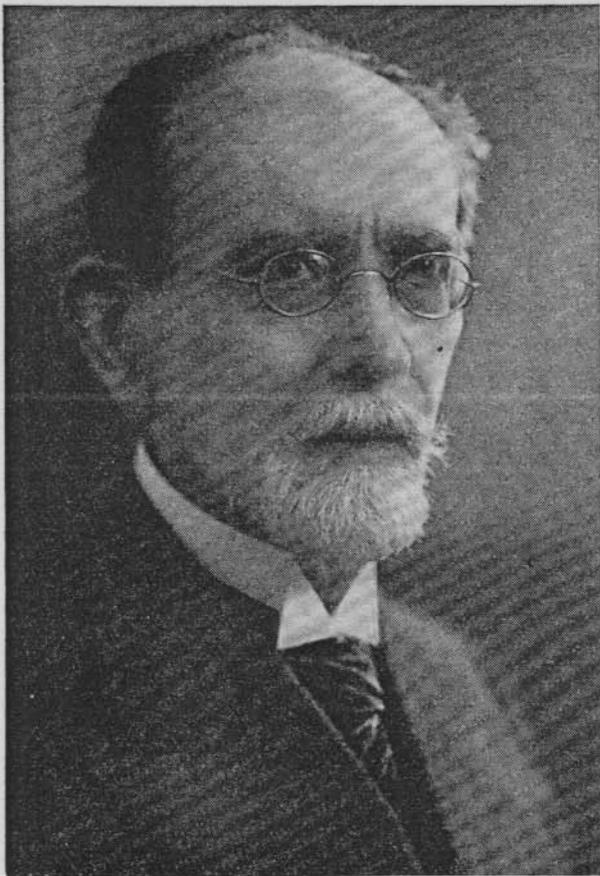
Mit Hämatoxylin gefärbte Kernteilungsfiguren von Epithelzellen einer Salamanderlarve; Längsteilung der Chromosomen. Aus W. Flemmings klassischem Werk «Zellsubstanz, Kern und Zellteilung». Leipzig 1882.

sehen und mit den damaligen Methoden optisch nicht differenziert werden konnten. Die erste Anilinfarbe stellte William Henry Perkin (1838–1907) her, der als 18jähriger Student des Royal College of Chemistry in London synthetische Versuche machte, die allerdings auf andere Ziele gerichtet waren. Den gefundenen Farbstoff, es war ein Anilinviolett, nannte er Mauve und meldete ihn 1856 zum Patent an. Als die schnelle Entwicklung der Teerfarbenindustrie einsetzte, wurden die Farbstoffe zunächst ganz willkürlich benannt,

so daß es schon am Ende des vorigen Jahrhunderts oft schwierig war, festzustellen, ob die ursprünglichen Farbstoffe dieselben waren wie später hergestellte gleichen Namens. H. Gierke hat diese Schwierigkeiten in einer interessanten Studie «Über Färberei zu mikroskopischen Zwecken» (1884–1885) erörtert und, um eine klärende Übersicht zu gewinnen, in ihr Tabellen veröffentlicht, die die Daten der ersten Fabrikation der Farbstoffe und ihrer frühesten Anwendung in der mikroskopischen Technik enthalten.

Mitose-Stadien in Epithelzellen von Salamandra, Hämatoxylinfärbung; Bildung der Kernschleifen, der Spindeln und der Polstrahlung. Aus: W. Flemming, «Zellsubstanz, Kern und Zellteilung». Leipzig 1882.





Martin Heidenbain (geb. 1864), Professor der Anatomie in Tübingen, leistete wesentliche Beiträge zur Theorie der histologischen Färbung und schuf eine Reihe wertvoller neuer Färbemethoden. Nach einer Photographie.

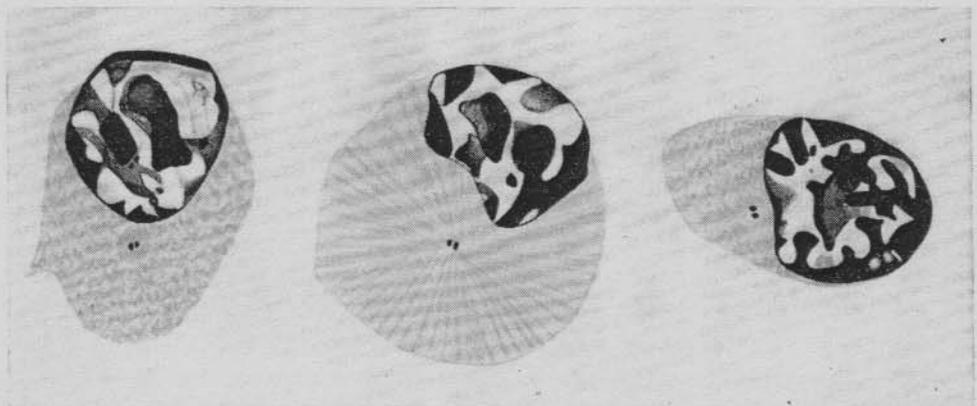
Aus den Jahren 1862–1874 kennt Gierke nur neun Veröffentlichungen, in denen auf die Bedeutung der Anilinfarben für die mikroskopische Technik hingewiesen wurde; das ist umso erstaunlicher, als in der gleichen Zeit zahlreiche neue Teerfarbstoffe hergestellt wurden, von denen viele später in die histologische Färbetechnik Eingang fanden, wie z. B. Vesuvin, Safranin und Aurantia (s. Tabelle S. 3098). Obwohl in Frankreich und in England die Erforschung und die Herstellung neuer Anilinfarben außerordent-

lich rege betrieben wurden, bemühten sich damals nur vereinzelte französische und englische Mikroskopiker, diese Farbstoffe auszuprobieren. Erst mit dem Jahr 1875 setzte die Flut der Veröffentlichungen von Forschern aller Kulturnationen ein. Auffallend ist dabei die große Zahl der in deutscher Sprache geschriebenen Arbeiten. Sie bezeugt den mächtigen Aufschwung, den die histologische Färbetechnik damals besonders in Deutschland und der Schweiz genommen hatte. Allein für die Zeitspanne von 1875–1877 führt Gierke vierundzwanzig derartige Arbeiten an, von denen allerdings einige den gleichen Farbstoff behandeln, so z. B. das 1873/74 von Heinrich Caro gefundene Eosin, das durch Fr. Ernst Fischer (geb. 1848) 1875 in die mikroskopische Färbetechnik eingeführt wurde und dessen vielseitige Eignung zu histologischen Studien einige Jahre später durch Joseph-Louis Renaut (1844–1917) erwiesen wurde.

Eine neue, auch heute noch geübte Verwendungsart von Anilinfarben gab Louis Antoine Ranvier (1835–1922) im Jahre 1875 an, nämlich die feinen Hohlräume in Schliffräucher mazerierter Knochen durch Eindampfenlassen alkoholischer Farblösungen mit Farbstoff zu füllen.

Grundsätzlich wichtig geworden ist die im Jahre 1875 von E. Hermann empfohlene Methode der «regressiven» Färbung mikroskopischer Präparate. Aus Schnitten, die mit alkoholischen Lösungen von Fuchsin überfärbt wurden, zieht man durch Einlegen in reinen Alkohol den überschüssigen Farbstoff wieder heraus; die so gewonnenen Bilder der Kerne sind sehr distinkt. Solche regressiven Färbungen hatte zwar Arthur Böttcher (1831 bis 1889) schon im Jahre 1869 ausgeführt; aber erst nachdem Flemming die Methode bei seinen Kernstudien mit Safranin und anderen

Leukocyten des Salamanders mit doppeltem Zentralkörperchen. Es handelt sich um die ersten Abbildungen von Präparaten, die nach der Eisenhämatoxylin-Methode von M. Heidenbain gefärbt wurden. Aus: Festschrift zu Koellikers 50jährigem Doktorjubiläum 1892.



Farbstoffen ausgiebig und mit überzeugendem Erfolg angewendet hatte (1881), wurde sie allgemein bekannt. Noch heute ist die regressive Färbung einer der wichtigsten Kunstgriffe in der histologischen Technik.

Je mehr Farbstoffe in jenen Jahren zu mikroskopischen Untersuchungen herangezogen wurden, umso größer wurde das Bedürfnis, eine den zahlreichen Farbstoffen und ihrer Wirkungsweise entsprechende Einteilung zu finden. Es ist das Verdienst von Paul Ehrlich (1854-1915), eine zweckmäßige Klassifizierung der Farbstoffe geschaffen zu haben, die auch heute noch gilt.

Da die Farbstoffe je nach ihrer chemischen Zusammensetzung sauer, basisch oder neutral sind, ermöglichen diese Unterschiede auch eine Einteilung der Gewebsbestandteile je nach ihrem Verhalten zu den betreffenden Färbemitteln. Paul Ehrlich erkannte, daß sich bestimmte Strukturen in den Zellen ausschließlich oder vorwiegend mit sauren, andere dagegen mit basischen und wieder andere vor allem mit neutralen Farbstoffen differenziert darstellen lassen; diese Erkenntnis ließ ihn die Begriffe der Acidophilie, Basophilie und Neutrophilie schaffen, wobei er annahm, daß die verschiedene Färbbarkeit der einzelnen Gewebe oder Gewebsbestandteile eine Folge der besonderen chemischen Affinität zwischen Substrat und färbender Substanz sei (s. S. 3093). Basophil nennt Ehrlich einen Zell- oder Gewebsbestandteil, der basische Farbstoffe besonders intensiv annimmt; diese basischen Farbstoffe sind gewöhnlich in Alkohol besser löslich als in Wasser und werden besonders zur Färbung des Chromatins der Kerne verwendet, sie können aber auch zum Hervorheben besonderer Zellgranula und von Schleim benutzt werden. Acidophile oder, wie oft, einen Spezialfall verallgemeinernd, gesagt wird, eosinophile Substanzen färben sich mit sauren Farbstoffen, die sich im allgemeinen in Wasser besser lösen als in Alkohol; mit ihnen können besonders der Zelleib und seine Differenzierungsprodukte dargestellt werden. Um auch einen neutralen Farbstoff anzuführen, sei das eosinsaure Methylenblau genannt. Ehrlichs aus der Farbstoffchemie abgeleitete und der mikroskopischen Forschung dienstbar gemachte Begriffe wurden auch von der Klinik übernommen. Sie sind jedem Arzt von der Differenzierung und Untersuchung der Blutbilder her geläufig. Daß nicht nur die Blutkörperchen, sondern auch



Carl Weigert (1845-1904), Professor der pathologischen Anatomie in Frankfurt a. M., der u. a. die Markscheidenfärbung in die histologische Untersuchungstechnik einführte. Aus: Berichte der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft, Frankfurt a. M. 1904.

die Blutplättchen mit Hilfe einer Anilinfarbe, des Methylvioletts, von Giulio Bizzozero (1846-1901) 1882/83 eingehenderen Studien zugänglich gemacht wurden, sei hier wenigstens erwähnt.

Mit Hilfe der Teerfarben konnten auch die auf S. 3086 schon erwähnten «Doppelfärbungen» weiter entwickelt werden. Die große Zahl der verschiedenartigen Farbstoffe verlockte dazu, Kern und Cytoplasma durch kontrastierende Farben möglichst differenzieren darzustellen; hierzu wurden entweder Farbgemische verwendet, mit denen die Färbung einzeitig ausgeführt wurde, oder die beiden kontrastierenden Farben wurden einzeln und nacheinander benutzt. Derartige Doppelfärbungen wurden in allen nur denkbaren Kombinationen versucht, und besonders englische Forscher, wie Heneage Gibbes, William Stirling (geb. 1851), Joseph Gibbons Richardson (1836-1886), um nur einige Namen zu nennen, bemühten sich in der Frühzeit der Verwendung von Teerfarben um die Schaffung neuer Farbkombinationen. In Deutschland trugen Paul Schiefferdecker und vor allem Paul Ehrlich, dieser in besonders

systematischer Weise, zum Ausbau der Doppelfärbungen bei. Es sei bemerkt, daß die heute noch häufig verwendete Kombination Hämatoxylin-Eosin schon 1877 von Carl David Wilhelm Busch (1826–1881) benutzt wurde. Renault arbeitete 1879 mit Mischungen der beiden Farblösungen, und Stirling empfahl 1881 die Kombination von Hämatoxylin und Eosin ebenfalls, er ging sogar schon zu Dreifachfärbungen über.

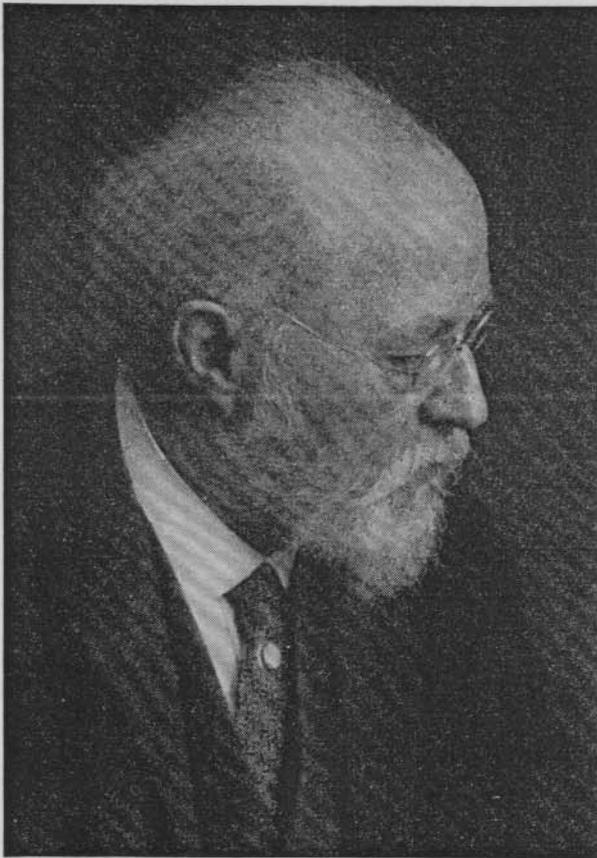
In dem hier gegebenen Rückblick auf die ersten Dezennien der histologischen Färbetechnik konnten nur einige derjenigen Forscher genannt werden, deren Arbeiten bleibende Bedeutung gewonnen haben; außer ihnen trugen noch zahlreiche andere, hier nicht genannte Anatomen, Physiologen, Zoologen und Botaniker zum Ausbau der Färbemethodik bei. Mit größtem Eifer wurde damals in Universitäts- und Privatlaboratorien jeder neue Farbstoff, den die chemische Industrie auf den Markt brachte, auf seine Verwendbarkeit bei histologischen Untersuchungen nach den verschiedensten Richtungen hin erprobt. Viele der geduldig ausgeführten Ver-

Paul Ehrlich (1854–1915), zuletzt Direktor des Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. Als junger Assistent von Fr. Th. Frerichs (1819–1885) schuf Ehrlich wichtige theoretische Grundlagen der histologischen Färbetechnik. Nach einer Photographie.



suche blieben ohne jedes Ergebnis, aber auch manche der damals begeistert gerühmten Farbstoffe sind seither längst übertroffen und daher wieder vergessen worden, nur verhältnismäßig wenige Farbstoffe aus dieser Zeit sind die Jahrzehnte hindurch bis heute im Gebrauch geblieben. Schon in den achtziger Jahren des vorigen Jahrhunderts stellte Gierke fest, daß ein Bedürfnis nach neuen Färbemitteln für histologische Zwecke nicht mehr vorhanden sei, sofern sich diese nur durch einen neuen Farbton, nicht aber grundsätzlich von den schon bekannten Farbstoffen unterscheiden. Die seitdem abgelaufene Entwicklung ist vor allem dadurch charakterisiert, daß immer wieder versucht wurde, die färberischen Möglichkeiten durch neue Kombinationen noch zu verbessern. Als Beispiele seien erwähnt: die Dreifachfärbung Hämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure nach van Gieson (1889), die auch mit Orcein zur Darstellung der elastischen Fasern kombiniert werden kann, und das Triazidgemisch von Ehrlich-Biondi aus Methylgrün-Säurefuchsin-Orange, das sich seit seiner 1898 erfolgten Einführung bis heute bewährt hat; eine Kombination aus neuerer Zeit ist z. B. K. W. Zimmermanns Hämatoxylin-Muzikarmin-Aurantia (1925) zur Unterscheidung muköser und seröser Zelltypen, z. B. in den Speicheldrüsen und im Magenfundus. Nicht unerwähnt bleiben darf M. Heidenhains Azanfärbung (1915) zur Darstellung des Bindegewebes; sie basiert auf einer älteren, ursprünglich 1900 von Frank Burr Mallory (geb. 1862) angegebenen Methode, bedeutet aber eine wesentliche Verbesserung durch die Verwendung eines lichtechten Kern- und Plasmafärbstoffes, des Azokarmins G.*

Die histologische Technik wurde nicht nur durch die Zusammenstellung neuer Farbkombinationen gefördert, sondern ebenso auch durch die zielbewußte und systematische Erprobung neuer Farbstoffe und Farbstoffgruppen. Ein schönes Beispiel dafür sind die Fettfärbungen, zu denen man Sudan III, Scharlach R oder Nilblausulfat benutzt. Sudan III, ein Farbgemisch, dessen Qualitäten je nach der Handelsmarke leicht variieren, wurde von L. Daddi 1896 zur Fettfärbung empfohlen. Zum gleichen Zweck benutzte L. Michaelis 1901 Scharlach R. Das von Lorrain Smith 1908 zur Fettfärbung verwendete Nilblausulfat ermöglicht, die Neutralfette durch einen roten Farbton von anderen blau bis violett gefärbten Fettstoffen zu unter-



Karl Wilhelm Zimmermann (1861–1935), der bis zum Jahre 1933 als Professor der Anatomie in Bern wirkte, bereicherte die histologische Technik durch Einführung neuer Farbkombinationen. Nach einer Photographie.

scheiden; es hat zudem den Vorteil, die gewissen Fetten zukommende Doppelbrechung nicht zu verändern und gleichzeitig Kerne und Cytoplasma zu färben. Besonders erfolgreiche systematische Arbeiten dieser Art wurden ausgeführt und veröffentlicht von M. Heidenhain (1902) und von S. Becher (1921). Derartige planmäßige Arbeiten bieten nur dann Aussicht auf Erfolg, wenn sie mit reinen und ihrer Konstitution nach genau bekannten Farbstoffen vorgenommen werden. Heute gibt es schon einige Firmen, die sich auf die Herstellung solcher Farbstoffe spezialisiert haben. Um die gleichmäßige Güte der Farbstoffe zu sichern, wurde in den Vereinigten Staaten von Nordamerika sogar eine Kommission zur Standardisierung der in der Biologie benötigten Farbstoffe gebildet (Commission on Standardization of Biological Stains), die bis zum Jahre 1925 zunächst für einige nur selten in gleichmäßiger Qualität vorhanden gewesene Farbstoffe Normen aufstellte und auch jetzt noch ihre Arbeiten fortsetzt.

Bestrebungen solcher Art wären viel aus-

sichtsreicher, wenn die Vorgänge beim Färben mit natürlichen oder künstlichen Farbstoffen schon geklärt wären. Die hier in Betracht kommenden Fragestellungen sind so alt wie die mikroskopische Färbetechnik selbst. Maschke hat sich, wie S. 3081 erwähnt, schon 1859 mit solchen Fragen befaßt, und heute werden verschiedene physikalische, chemische und physikalisch-chemische Erklärungsversuche erörtert; es ist allerdings unwahrscheinlich, daß es überhaupt je gelingen wird, alle Farbstoffwirkungen mit einer einzigen Deutung zu erfassen. Unzweifelhaft physikalischer Natur ist z. B. die Fettfärbung mit Sudan III; hier handelt es sich um die spezifische Löslichkeit eines Farbstoffes in einem bestimmten Substrat, also um einen rein physikalischen Vorgang. Die chemische Theorie vom Zustandekommen der Färbungen, d. h. die Annahme, daß Salzbildungen zwischen Farbstoffen und gefärbten Objekten entstehen, fand in der Frühzeit der mikroskopischen Färbetechnik fast allgemeine Anerkennung. Als ihre Hauptvertreter sind Paul Ehrlich und der Dermatologe P. G. Unna (1850 bis 1929) zu nennen. Nach Wilhelm v. Möllendorff (geb. 1887) aber ist die Ursache der Farbstoffverteilung im mikroskopischen Präparat nicht in chemischen Bindungen zu suchen, sie wird vielmehr bestimmt durch die Konzentration der Farblösung und durch die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes. Da die Diffusionsgeschwindigkeit einerseits abhängig ist von der Dichte des Gewebes, andererseits von dem Dispersitätsgrad des Farbstoffes, so würde damit auch erklärt, daß die Reihenfolge, in der sich die verschiedenen Strukturen färben, von ihrer Dichte, die Geschwindigkeit des Färbvorganges aber vom Dispersitätsgrad des Farbstoffes abhängt. Auf Grund solcher experimentell begründeter Vorstellungen unterschied v. Möllendorff (1924) zwischen der «Niederschlagsfärbung» als einem Oberflächenphänomen und der «Durchtränkungs-färbung». Diesen physikalisch-chemischen Deutungsversuchen steht die Auffassung gegenüber, daß die Färbung durch elektrostatische Vorgänge zustande käme, eine Auffassung, die ebenfalls nicht wenige Anhänger gefunden hat. Albrecht Bethe (geb. 1872) beobachtete 1905 als erster, daß gewisse elektive Färbungen nur bei einer bestimmten Wasserstoffionen-Konzentration der Farblösung gelingen. Gleichgerichtete Untersuchungen führte 1926 A. Pischinger (geb. 1899)

fort und machte ähnlich wie Rudolf Keller (geb. 1855) in Prag und seine Mitarbeiter für die Vorgänge beim Färben die Unterschiede der elektrischen Ladungsverhältnisse in den Gewebsbestandteilen verantwortlich.

Die Verschiedenheit der über das Wesen des Färbungsvorganges herrschenden, sich teilweise stark widersprechenden Auffassungen könnte Bedenken aufkommen lassen, ob die Färbung von mikroskopischen Präparaten als wissenschaftliche Hilfsmethode überhaupt Berechtigung habe. Dazu ist vor allem zu betonen, daß selbstverständlich Zell- oder Gewebsbestandteile niemals ausschließlich auf Grund ihrer färberischen Eigenschaften beurteilt werden dürfen. Die Färbung ist stets nur ein Hilfsmittel, um die Strukturen leichter erkennbar zu machen. Gewiß dürfen auf Grund ihrer verschiedenen Färbbarkeit Unterschiede der Substrate angenommen werden, zumal wenn ganz gleichartige Fixations- und

Färbebedingungen eingehalten worden sind. Dagegen würde es z. B. einen groben Fehler bedeuten, allein aus der Gleichheit von Farbwirkungen auch auf die gleiche Beschaffenheit der gefärbten Teile zu schließen; ein solcher Schluß ist nur gerechtfertigt, wenn außer der gleichen Färbbarkeit noch Übereinstimmungen anderer Art eindeutig festzustellen sind, z. B. hinsichtlich der Löslichkeit der Gewebsbestandteile, ihrer Lichtbrechung usw. Wenn man ein gefärbtes Präparat im Sinne des eben Gesagten beurteilen will, muß man sich immer daran erinnern, daß es bis zu seiner Fertigstellung mehr oder minder eingreifende Behandlungen erfahren hat und daß die Möglichkeit der Bildung von Strukturen, die im Leben nicht vorhanden gewesen sind, groß ist. Aus all diesen Gründen sollte ein gefärbtes mikroskopisches Präparat stets mit dem nativen Objekt verglichen werden, wenn man sich vor Trugschlüssen schützen will.



Rasche und nachhaltige
Abschwellung der Schleimhäute
in Nase und Rachenraum

durch **Privin**

bei Rhinitis, Sinusitis, Laryngitis usw.

