

ZUR HISTOCHEMIE DES PERILEMMAS

P. RÖHLICH

(Eingegangen am 28. Februar 1956)

Den sich mit der Physiologie der peripheren Nerven beschäftigenden Forschern ist das Problem der peripheren Nervenbarriere wohlbekannt. Aus zahlreichen experimentellen Angaben geht hervor, dass die in die Umgebung des Nerven eingeführten Lösungen erst nach einer gewissen Zeit — oft erst nach Stunden — zwischen die Nervenfasern eindringen. Wahrscheinlich ist diese Diffusionsbarriere auf Grösse und Form des vom Nervenstamm abgeleiteten Aktionsstroms von Einfluss. Es bestand die praktische Notwendigkeit, diese vermutlich in der Bindegewebshülle vorhandene Barriere auszuschalten; so führte TASAKI (1939) die Technik der Isolierung der markhaltigen Nervenfasern ein, die von A. v. MURALT (1946) und STÄMPFLI (1946, 1952) weiterentwickelt wurde.

Es besteht jedoch kein Zweifel, dass die Barriere, so störend sie auch bei nervenphysiologischen Untersuchungen wirkte, für die Stabilisierung des zum physiologischen Nervenzustand erforderlichen Milieus von Wichtigkeit sein dürfte.

Den Histologen interessiert vor allem die morphologische Seite des Problems, nämlich die Frage, welchem histologischen Element des Nerven die Barrierewirkung zugeschrieben werden kann. In einer vorangegangenen Arbeit (RÖHLICH und WEISS, 1955) vermochten wir nachzuweisen, dass für die Barrierewirkung die an der Innenfläche des Perineuriums vorhandene Membran verantwortlich zu machen sei, die wir als Perilemma bezeichneten. Das Perilemma besteht aus zwei ganz flachen zusammenhängenden Zellschichten, zwischen denen sich eine homogen erscheinende Basalmembran befindet (Abb. 1).

Hiernach ergab sich die Frage, ob die Barrierefunktion mit irgendeiner chemischen oder strukturellen Eigentümlichkeit des Perilemmas in Zusammenhang gebracht werden kann. Die submikroskopische Struktur des Perilemmas behandelten wir in einer anderen Mitteilung (RÖHLICH, 1956), während wir in der vorliegenden Abhandlung die histochemische Untersuchung des Perilemmas besprechen wollen.

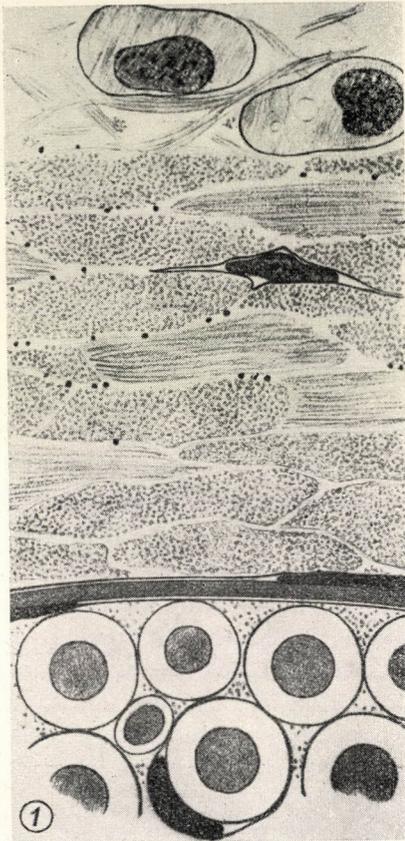


Abb. 1. Schema der peripheren Nervenüllen der Ratte. Von oben nach unten : ein Stück der lockeren Bindegewebsscheide, pralle Bindegewebsscheide, Perilemma, Nervenfasern

Material und Methode

Wir untersuchten den Nervus ischiadicus und Plexus brachialis von Ratten und Meer-schweinchen sowie die Zweige dieser Nerven. Die Materialien wurden, wenn nicht anders ange-geben, in Bouin-Lösung fixiert.

Perjodsäure-Schiff-(PAS-) Reaktion. Die deparaffinierten Schnitte wurden 2, 5, 10 bzw. 15 Minuten mit 0,3%iger Perjodsäure-Lösung oxydiert, gewaschen, $\frac{1}{2}$ —1 Stunde im Schiff-Reagens behandelt, in 3mal gewechseltem SO_2 -haltigem Wasser gespült, erneut gewaschen, entwässert und bedeckt. Die Kernfärbung nahmen wir nach der PAS-Reaktion teilweise mit Weigertschem Eisenhämatoxylin vor.

Metachromasie. Nach Deparaffinierung wurden die in Helly-Flüssigkeit fixierten, in Paraffin eingebetteten Materialien für 10 Minuten in 0,04%ige Toluidinblau-Lösung pH 4 gelegt. Nach Spülung mit dest. Wasser untersuchten wir die Schnitte bedeckt in Wasser.

Methylenblau-Extinktion (DEMPSEY und SINGER, 1949). Die deparaffinierten Schnitte legten wir 24 Stunden bei Zimmertemperatur (20°C) in 0,0005 M Methylenblau-Lösungen mit verschiedenem pH. Das pH der Lösungen betrug 3,6—7 (Essigsäure-Azetatpuffer). Nach raschem Waschen wurden sie bedeckt in Wasser untersucht.

Alcianblue-Methode (STEEDMAN, 1950) gelangte nach PEARSE (1954) zur Anwendung.

Tetrazoniumreaktion (DANIELLI, 1947). Die Reaktion wurde nach PEARSE (1954) aus-geführt, mit der Modifikation, dass wir zur Farbvertiefung statt H-Säure wassergesättigte β -Naphtol-Lösung mit pH 9 verwendeten.

Lipoidnachweis. 1. *Sudanschwarz B-Färbung.* Die Sudanfärbung erfolgte an formalinfixierten Gefrierschnitten, als Lösungsmittel diente 50%iger Alkohol. 2. *Berg-Reaktion* (1951). Die 20 Minuten mit Coffein-Benzpyren-Lösung behandelten Gefrierschnitte wurden bedeckt in Wasser mit dem Zeisschen Lumineszenzmikroskop untersucht.

Lipoidextraktion und Enzymverdauung. Die Lipoidextraktion erfolgte nach BAKER (1946) in warmem Pyridin sowie nach der von uns vereinfachten Keiligschen Methode (1944). Im letzteren Fall wurden die nicht fixierten Nerven 24 Stunden lang in einem kochenden Methylalkohol-Chloroform-Gemisch extrahiert.

Speichelverdauung: Die Schnitte wurden bei 37° C 2, 4 und 24 Stunden mit Speichel inkubiert. Hyaluronidaseverdauung: In 1 mg/ml Hyaluronidase enthaltender pH 6,5 Lösung inkubierten wir die Schnitte bei 37° C 12 und 24 Stunden. Die Hyaluronidase war das Präparat »Hyalurase K 1004« der Chemischen Fabrik Gedeon Richter, Budapest.

Neben den erwähnten histochemischen Reaktionen nahmen wir auch einige eher als histologische Methoden zu bezeichnende Reaktionen vor, nämlich die Lilliesche (1951) Allochrom-Färbung (PAS-Weigertsches Eisenhämatoxylin-Methylblaupikrinsäure) und die Gomori-sche Aldehyd-Fuchsinfärbung nach der Modifikation von GABE (1953).

Zur Darstellung der Gitterfasern benutzten wir die Methoden von GOMORI, PAP und FOOT (ROMEIS, 1948).

Ergebnisse

Auf den ersten Blick fällt auf, dass das Perilemma eine stark positive PAS-Reaktion ergibt (Abb. 3). Wird gleichzeitig auch die Kernfärbung vorgenommen, sind die an den beiden Seiten der homogenen PAS-positiven Membran befindlichen abgeflachten Kerne deutlich zu sehen (Abb. 2). Auch das zu den Kernen gehörende Zytoplasma wird sichtbar, wenn sich die Zellschicht — wahrscheinlich infolge der bei der histologischen Aufarbeitung erlittenen Einwirkungen — von der Basalmembran löst (Abb. 4). Hierbei lässt sich beobachten, dass das Zytoplasma der Zellen eine zwar schwache, aber ebenfalls positive Reaktion gibt. Die Bindegewebshülle des Nerven ist beinahe völlig negativ, nur auf der Oberfläche der groben Kollagenfaserbündel befindet sich ein sehr feiner PAS-positiver Belag. Ausser dem Perilemma geben noch die Membrana elastica der Gefässe, die Randabschnitte der Markscheiden und das Zytoplasma einzelner lockerer Bindegewebszellen positive Reaktion.

Hiernach ergibt sich die Frage, zu welcher Gruppe der PAS-positiven Gewebskomponenten die Perilemmasubstanz gehört. In Anlehnung an PEARSE (1954) haben wir diese Substanzen auf nachfolgender Tabelle zusammengefasst. Im weiteren verfolgen wir die Methode, die einzelnen Gruppen der Tabelle auf Grund der für sie charakteristischen histochemischen Reaktionen einzeln auszuschliessen und so den Kreis der in Frage kommenden Substanzen immer mehr einzuschränken.

I. Polysaccharide	Glykogen	
II. Mukopolysaccharide	a. saure	b. neutrale
	Chondroitinschwefelsäure	N. m. p. s. des Schweinemagenschleims
	Hyaluronsäure	
	Heparinmonosulfat	

 III. Muko- und Glykoproteine

IV. Glykolipide

 Zerebroside
 (Inositol-Phosphatide)

V. Ungesättigte Fettsäuren
und Phospholipide
 Lezithin, Kephalin, Phosphatidyl-Serine,
 Sphingomyelin

Wie aus der Tabelle hervorgeht, bestehen die beiden letzten Gruppen aus Lipoiden. Deren Anwesenheit kann daher ausgeschlossen werden, wenn die nach der Lipoidextraktion vorgenommene PAS-Reaktion positiv ausfällt. Nach der Lipoidextraktion blieb die Intensität der Perilemma-PAS-Färbung unverändert, lediglich die Färbung der Markscheiden wurde schwächer. Die positive PAS-Reaktion ist demnach nicht auf die Anwesenheit von Glykolipiden, ungesättigten Fettsäuren und Phospholipiden zurückzuführen.

Polysaccharide (I. Gruppe) können ebenfalls nicht anwesend sein, da die PAS-Reaktion auch nach 2, 4 und 24stündiger Speichelverdauung positiv ausfiel.

Für saure Mukopolysaccharide (Gruppe IIa) sieht man Metachromasie, Methylenblau-Extinktion unter pH 4 und Alcianblue-Färbung als bezeichnend an. Wir fanden, dass das Perilemma in allen drei Fällen negative Reaktion gab. Nur die Gefäßwand, die Granula der Mastzellen und das Zytoplasma einiger Bindegewebszellen färbten sich metachromatisch. Die Methylenblau-Extinktion trat bei pH 5 ein, von Alcianblue wurde das Perilemma nicht gefärbt. Hyaluronidase-Verdauung (12 und 24 Stunden) war auf die PAS-Reaktion ohne Einfluss, was ebenfalls gegen die Anwesenheit der zu dieser Gruppe gehörenden Hyaluronsäure und gegebenenfalls der Chondroitinschwefelsäure spricht.

Charakteristische histochemische Methoden für die verbliebenen neutralen Mukopolysaccharide (Gruppe IIb) sowie Muko- und Glykoproteide (III. Gruppe) sind heute nicht bekannt, so dass wir hinsichtlich dieser Gruppen noch keine Unterschiede festzustellen vermögen.

Proteine. Von den Eiweissreaktionen nahmen wir die Tetrazoniumreaktion vor, wobei das Perilemma positiv reagierte. Die Positivität der Reaktion bedeutet gleichzeitig, dass das anwesende Eiweiss Tyrosin, Tryptophan und Histidin enthält.

Lipide. Sudanschwarz wird vom Perilemma schwer aufgenommen, die Farbe wird erst nach 60 Minuten Färben deutlich. Bei der Bergschen Coffein-Benzopyren-Reaktion weist das Perilemma deutlich wahrnehmbare gelbliche Fluoreszenz auf (Abb. 6). Die Autofluoreszenz des Perilemmas kann vernachlässigt werden.

Schliesslich sei erwähnt, dass bei Anwendung der *Lillieschen* Allochrom-Methode die rote Farbe des Perilemmas nach der PAS-Reaktion auf Wirkung von Methylblau erhalten bleibt und sieht nicht in Blau umwandelt. Vom *Gomorischen* Aldehyd-Fuchsin wird das Perilemma nicht gefärbt, weder bei vorheriger Oxydation noch ohne diese, lediglich die in den Randabschnitten der Bindegewebshülle verlaufenden elastischen Fasern färben sich.

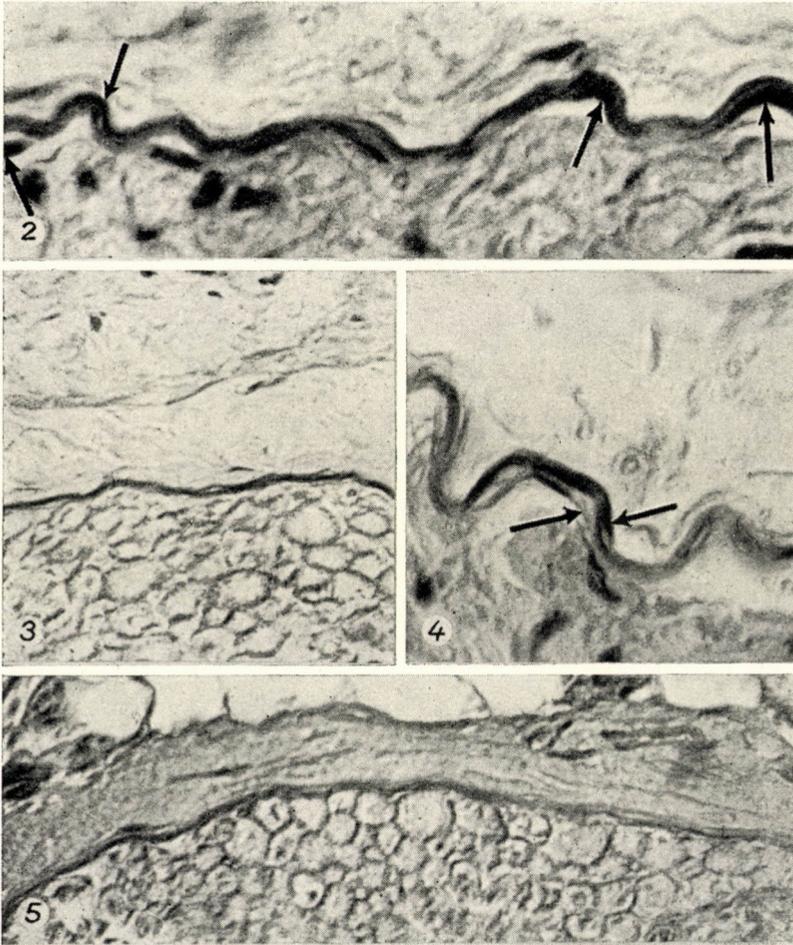


Abb. 2. PAS-Reaktion, *Weigertsche* Eisenhämatoxylin-Kernfärbung. Fixierung nach *Orth*. Querschnitt durch den Nervus ischiadicus der Ratte. Immersionsvergrößerung. Die Pfeile bezeichnen die Kerne

Abb. 3. PAS-Reaktion. Fixierung nach *Bouin*. Querschnitt durch den Nervus ischiadicus der Ratte

Abb. 4. PAS-Reaktion. *Weigertsche* Eisenhämatoxylin-Kernfärbung. Fixierung nach *Orth*. Querschnitt durch den Nervus ischiadicus der Ratte. Immersionsvergrößerung. Die Pfeile zeigen die sich von der Basalmembran ablösende Zellschicht

Abb. 5. Tetrazoniumreaktion. Fixierung nach *Bouin*. Querschnitt durch den Nervus ischiadicus der Ratte

Da es den Anschein erweckte, als ob das Perilemma histochemisch der Basalmembran der Nierentubuli nahestehe, suchten wir das gegebenenfalls vorhandene Gitterfasernetz durch Gitterfaser-Imprägnation nachzuweisen. Die *Gomori*-, *Pap*- und *Foot*-sche Imprägnation ergab das gleiche Bild: in der Ebene des Perilemmas war ein feines, aus sehr dünnen Fasern bestehendes Netz zu sehen. Bei stärkerer Vergrößerung konnte festgestellt werden, dass das Gitterfasernetz mit einer homogenen färblosen Membran zusammenhängt und entweder in dieser oder auf ihrer Oberfläche liegt. In einigen Fällen führten wir nach der Imprägnation die PAS-Reaktion durch; hierbei färbte sich die homogene Membran rot, woraus wir schliessen, dass es sich um die Basalmembran des Perilemmas handelt.



Abb. 6. Bergsche Benzpyren-Fluoreszenzmethode. Querschnitt durch den Nervus ischiadicus der Ratte. Das am Rand des Nervenfasersstranges verlaufende Perilemma gibt positive Reaktion. PL = Perilemma.

Besprechung

Wie aus vorstehenden Befunden hervorgeht, gehört die PAS-positive Substanz entweder zur Gruppe der neutralen Mukopolysaccharide oder der Muko- bzw. Glykoproteide, die wir mit histochemischen Methoden noch nicht zu unterscheiden vermögen. Da jedoch ein neutrales Mukopolysaccharid tierischen Ursprungs bisher nur im Schweinemagenschleim nachgewiesen wurde, erscheint es nicht wahrscheinlich, dass diese Substanz im vorliegenden Fall in Frage kommen könnte. Weiterhin ergibt sich die Frage, ob es überhaupt einen Sinn hat, das neutrale Mukopolysaccharid und das Mukoproteid histochemisch scharf zu unterscheiden; laut MEYER (1938) sind beide Kohlenhydrat-Eiweisskomplexe, deren Kohlenhydratkomponente im allgemeinen aus Hexose und Hexosamin aufgebaut ist. Muko- und Glykoproteide unterscheiden sich voneinander lediglich in ihrem Hexosamingehalt, und dieser Aufteilung kommt in erster Linie biochemisch-präparative Bedeutung zu. Wir sehen also, dass ein wesentliches Aufbauelement des Perilemmas aus einem an Eiweiss gebundenen höheren polymeren Kohlenhydrat besteht, das wir als Mukoproteid bezeichnen. Diese Auffassung wird noch dadurch bestärkt, dass die als Eiweissreaktion zu bewertende Tetrazoniumreaktion ebenfalls positiv ausfällt.

Interessant ist die Beobachtung, dass das Perilemma, wie aus der Sudan-schwarz-Färbung und *Bergs*chen Reaktion hervorgeht, Lipide enthält. Hiermit steht unser polarisationsoptisches Untersuchungsergebnis (RÖHLICH, 1956) in Einklang, wonach die negativ-molekuläre Doppelbrechung der Membran auf die Anwesenheit asymmetrischer, mit Lipoidextraktion extrahierbarer Moleküle zurückgeführt werden kann, deren Längsachse senkrecht zur Membranebene liegt. Hier müssen wir ebenfalls an Lipide denken. Das anwesende Lipoid ist demnach nicht ungeordnet, sondern orientiert in das Perilemma eingebaut, in ähnlicher Weise, wie dies bei der Zellmembran, roten Blutkörperchenmembran, Markscheide usw. beschrieben wurde. Es kann kein Zweifel bestehen, dass die Permeabilität der gegebenen Struktur durch die orientiert gelagerten Lipoidmoleküle wesentlich beeinflusst wird. Dies ergibt sich daraus, dass lipophile Substanzen rasch durch diese Gebilde treten, nicht so wie die Elektrolyte, denen gegenüber die Membran selbst stundenlang resistent bleibt. In diesem Zusammenhang verweisen wir auf eine frühere Beobachtung (RÖHLICH und WEISS 1955), wonach Ferri-Ionen in der mit Äther gesättigten Lösung die Perilemma-Barriere etwa neunmal rascher durchbrechen, als wenn wir einfache Ferri-chlorid-Lösung benutzen. Ebenso wurde nachgewiesen, dass die Wirkung von Äthylalkohol und Azeton am Nerven sehr rasch zustande kommt (OVERTON, 1904; FENG und LIU, 1949; KRNIJEVIĆ, 1954) und dass der Durchtritt von K^{42} -Ionen durch die Barriere durch Chloroform wesentlich erleichtert wird (KEYNES und STÄMPFLI, 1949). Die Rolle der Lipide in der Diffusionsbarriere der peripheren Nerven führt bereits zu der viel allgemeineren Permeabilitätsfrage, mit der wir uns hier nicht befassen wollen (s. ausführlich bei FREY—WYSSLING, 1955).

Schliesslich sei erwähnt, dass sich das Perilemma histochemisch ähnlich verhält wie andere Basalmembranen, z. B. die der Nierentubuli und der Bowmanschen Kapsel. Wahrscheinlich gilt diese Ähnlichkeit auch für die submikroskopische Struktur (ROLLHÄUSER, 1954; RÖHLICH, 1956). Der Gedanke an diese Analogie hatte uns veranlasst, den Versuch zu machen, ein dem in den Basalmembranen der Niere anzutreffenden Gitterfasernetz ähnliches auch hier nachzuweisen. Wie erwähnt, ist dies auch mehr oder weniger gelungen. Neben dem Gitterfasernetz fanden wir eine homogene Membran, die PAS-positive Reaktion gab. Diese doppelte Struktur der Basalmembran ist heute bereits eine bekannte Tatsache (LILLIE, 1952; ROBB—SMITH, 1952). Von Interesse ist die Frage, ob in der Funktion der beiden ähnlich aufgebauten Basalmembranen ein Unterschied besteht, und wenn ja, in welcher Hinsicht. Bei der Klärung dieser Frage müsste man naturgemäss berücksichtigen, dass die Basalmembran des Perilemmas von zwei Seiten mit einer vollständig zusammenhängenden Zellschicht bedeckt ist, welche die Permeabilität der Basalmembran wahrscheinlich stark beeinflusst.

Zusammenfassung

In einer vorangegangenen Arbeit wurde nachgewiesen, dass die bei peripheren Nerven vorhandene Diffusionsbarriere aus der an der Innenfläche der Bindegewebshülle des Nerven befindlichen Membran — dem Perilemma — besteht. Vorliegende Abhandlung beschäftigt sich mit der histochemischen Untersuchung des Perilemmas.

Das Perilemma gibt positive Perjodsäure-Schiff-Reaktion. Auf Grund anderer histochemischer Reaktionen (Metachromasie, Methylenblau-Extinktion, Alcianblue-Färbung, Lipoid-Extraktion, Enzymverdauungen) wird angenommen, dass für die positive Reaktion ein Mukoprotein verantwortlich gemacht werden kann. Die Anwesenheit einer Eiweisskomponente geht aus der positiven Tetrazoniumreaktion hervor. Nach der Sudanschwarz B-Färbung und positiven Bergschen (Coffein-Benzpyren-) Reaktion enthält das Perilemma eine auch histochemisch nachweisbare Lipoidmenge. Die Bedeutung der Anwesenheit von Lipoiden wird kurz besprochen.

*

Auch an dieser Stelle sei Prof. Dr. I. Törö für seine wertvollen Hinweise und Dr. T. Barka für seine bereitwillige Hilfe vielmals gedankt.

LITERATUR

1. BAKER, J. R.: (1946) The histochemical recognition of lipine. *Quart. J. micr. Sci.* **85**, 409—470. — 2. BERG, N. O.: (1951) A histological study of masked lipids. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* **90**. — 3. DANIELLI, J. F.: (1947) zit. PEARSE, A. G. E. — 4. DEMPSEY, E. W., SINGER, M.: (1946) Observations on the chemical structure of the thyroid gland at different functional stages. *Endocrin.* **38**, 270—295. — 5. FREY-WYSSLING, A.: (1955) Permeabilitätstheorien. Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. In *Protoplasmatologia II/a/2*. Springer, Wien. 170—174. — 6. GABE, M.: (1953) Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine-paraldehyde. *Bull. Micr. Appl. Ser.* **2—3**, 153—162. — 7. KEILIG, I.: (1944) Über Spezifitätbreite und Grundlagen der Markscheidenfärbungen. (Nach Untersuchungen an fraktioniert extrahierten Gehirnen.) *Virchows Arch.* **312**, 405—420. — 8. LILLIE, R. D.: (1951) The allochrome procedure. A differential method segregating the connective tissues, collagen, reticulum, and basement membranes into two groups. *Amer. J. clin. Pathol.* **2**, 484—488. — 9. LILLIE, R. D.: (1952) Staining of connective tissue. *A. M. A. Arch. Pathol.* **54**, 220—233. — 10. MEYER, K.: (1938) zit. PEARSE, A. G. E. — 11. MURALT, A. V.: (1946) Die Signalübermittlung in Nerven. Basel. — 12. PEARSE, A. G. E.: (1954) Histochemistry, Theoretical and Applied. Churchill, London. — 13. ROMELS, B.: (1948) Mikroskopische Technik. Leibniz, München. — 14. RÖHLICH, P., WEISS, M.: (1955) Studies on the histology and permeability of the peripheral nervous barrier. *Acta Morph. Hung.* **5**, 335—347. — 15. RÖHLICH, P.: (1956) Polarisationsoptische Untersuchungen an der Diffusionsbarriere der peripheren Nerven. *Z. mikr. anat. Forsch.* **62**, 114—124. — 16. STÄMPFLI, R.: (1946) Untersuchungen an der einzelnen lebenden Nervenfasern des Frosches. *Helv. Physiol. Acta* **4**, 411. — 17. STÄMPFLI, R.: (1952) Bau und Funktion isolierter markhaltiger Nervenfasern. *Ergebn. Physiol.* **47**, 170—161. — 18. STEEDMAN, H. F.: (1950) zit. PEARSE, A. G. E. — 19. TASAKI, I.: (1939) Electric stimulation and the excitatory process in the nerve fiber. *Amer. J. Physiol.* **125**, 380. — 20. FENG, T. P., LIU, Y. M.: (1949) The connective tissue of the nerve as effective diffusion barrier. *J. Cell. Comp. Physiol.* **34**, 1—16. — 21. KEYNES, R. D., STÄMPFLI, R.: (1949) Cit. STÄMPFLI 1952. — 22. KRNJEVIC, K.: (1954) Some observations on perfused frog sciatic nerve. *J. Physiol.* **233**, 338—356. — 23. OVERTON, E.: (1904) Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. *Pflügers Arch.* **105**, 176—209. — 24. ROLLHÄUSER, H.: (1954) Polarisationsoptische Untersuchungen am Nierenparenchym. *Festschr. f. W. J. Schmidt*, 177—187.

О ГИСТОХИМИИ ПЕРИЛЕММЫ

П. РЕЛИХ

В своей прежней работе автор выявил, что диффузионным барьером у периферических нервов является мембрана, находящаяся на внутренней поверхности соединительнотканной оболочки нерва — то есть перилемма. В настоящей статье автор занимается гистохимическим исследованием перилеммы.

Перилемма дает положительную периодокислотную реакцию Шиффа. На основе других гистохимических реакций (метахромазия, экстинкция метиленового синего, окраска гипоцианевой синькой, экстрагирование липоидов, энзимное переварение) автор того мнения, что ответственным за положительную реакцию является мукопротеид. Присутствие белкового компонента выявляется положительной тетразониевой реакцией. Согласно окраске судановым черным В и положительной реакции Берга (коффеин-бензпирен) перилемма содержит гистохимически выявляемое количество липоидов. В дискуссии автор вкратце излагает значение присутствия липоидов.

ON THE HISTOCHEMISTRY OF THE PERILEMMA

P. RÖHLICH

It has been shown in an earlier work that the diffusion barrier in the peripheral nerve is formed by the perilemma, the membrane lining the internal surface of the connective tissue sheath of the nerve. In this paper, histochemical studies of the perilemma are reported.

The perilemma gives a positive periodic acid-Schiff reaction. On the basis of other histochemical reactions (metachromasia, methylene blue extinction, alcian blue staining, lipid extraction, enzymatic digestion) it is believed that a mucoprotein can be held responsible for the positive PAS-reaction. As determined by Sudanblack B staining and by the positive Berg's coffeine-benzpyrene reaction, the perilemma contains histochemically demonstrable amounts of lipid. The significance of the latter is briefly discussed.

Dr. Pál RÖHLICH, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58. Ungarn.