

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Histochemie der Haut

Unna, Paul Gerson

Leipzig [u.a.], 1928

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Shelf Mark: Ui VI 1849

Einleitung.

[urn:nbn:de:hbz:38m:1-125247](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:38m:1-125247)

Einleitung.

An das chemische Studium der einzelnen Zellbestandteile ist man bisher noch wenig herangetreten. Nur die Chemie der Kerne hat, da diese leicht zu isolieren sind, bereits bedeutende Fortschritte gemacht, aber auch nur, soweit die Nukleoproteide derselben in Betracht kommen; die übrigen Eiweiße des Kernes sind auch noch sehr wenig studiert worden. Die Nukleoproteide verdanken diesen Vorzug allein der in ihnen enthaltenen Nukleinsäure und deren leichter Färbbarkeit mit basischen Farben, wodurch ihre Lage innerhalb des Kernes genau präzisiert werden kann. Das Kernkörperchen, das neben wenig Nukleoproteiden noch mehrere andere Eiweiße enthält, ist auf seine chemische Struktur hin bisher nur wenig bearbeitet worden. Ebenso steht es um die chemische Kenntnis des Zellprotoplasmas. Man hat sich damit begnügt, es als diffus, und zwar mit sauren Farben diffus färbbare Substanz den mit basischen Farben färbbaren Nukleoproteiden gegenüberzustellen und hiernach ganz allgemein die Farben in kernfärbende und diffus- oder plasmafärbende einzuteilen. Man übersah dabei, daß auch ein sehr wichtiger Teil des Protoplasmas, das Granoplasma, mit basischen Farben färbbar ist und daß andererseits auch im Kerne noch zwei andere Eiweiße vorhanden sind, die, basischer Natur, zu ihrer Färbung saurer Farben bedürfen. Die Einteilung der Farben in kernfärbende und plasmafärbende muß daher in Zukunft ganz aufgegeben werden. Sie hat nur in die Irre geführt und der genaueren Erforschung der Zellchemie lange hindernd im Wege gestanden. Wir sind jetzt soweit, daß wir die zur Charakteristik der Zellbestandteile notwendigen Farben nach den verschiedenen Eiweißen, zu denen sie eine chemische Verwandtschaft besitzen, einteilen können, und diese Einteilung ist natürlich eine rein chemische. So ist beispielsweise in der Pappenheim-Unna-Färbung Methylgrün der Nukleoproteidfärber, Pyronin der Zytose- und Globulinfärber, in der Bordo-Hämatein-Färbung Bordo der Platin-, Hämatein der Mesoplastinfärber.

Den ersten wichtigen Schritt auf dem Wege der Zellchemie verdanken wir Paul Ehrlich, der uns lehrte, daß die Eiweiße teils saurer, teils basischer Natur sind und daß erstere sich mit basischen, letztere mit sauren Farben färben lassen. Auf diesem Wege war die Möglichkeit gegeben, einen Eiweißbestandteil der Zelle nach dem anderen zunächst tinktoriell zu charakterisieren und damit seine Lage und sein Verhältnis zur Umgebung festzulegen.

Für die Erkenntnis seiner chemischen Beschaffenheit war damit allerdings noch wenig gewonnen. Um diese zu erkennen, mußte ein exakter Weg gefunden werden, der der gewöhnlichen chemischen Analyse angepaßt war, und das konnte nur der einer systematischen Folge von Lösungsversuchen sein. Lö-

sungen einzelner Zellbestandteile waren schon vielfach versucht worden und hatten auch schon einzelne Ergebnisse gezeitigt. Die Genauigkeit solcher Versuche war aber früher dadurch beeinträchtigt, daß sie nicht mit geeigneten Färbungen kombiniert wurden, deren vollkommenes Versagen erst die vollkommene Lösung des fraglichen Eiweißes anzeigt. Dieser Weg, zu einer exakten Methode ausgebaut, war der zweite große Fortschritt auf dem Gebiete der Zellchemie; es ist die Methode der Chromolyse¹⁾.

Dieselbe besteht in einer systematischen Folge von Lösungsversuchen an einem durch spezifische Färbungen gut charakterisierbaren Zellelement. Ohne eine solche Chromolyse wird man schwerlich in die Chemie der einzelnen Zellbestandteile eindringen können.

Aber schon ehe dieser Weg mit Erfolg beschritten wurde, hatte es sich gezeigt, daß die Ehrlichsche Einteilung nicht ausreichte und daß mit der bloßen Scheidung in saure und basische Eiweiße die Fülle und Verschiedenheit der natürlich vorkommenden Zelleiweiße nicht erschöpft sei. Es war die Anwendung einiger an der äußeren Haut zuerst makroskopisch erprobten Sauerstoffreagenzien auf Gefrierschnitte der Haut, welche zeigte, daß der Sauerstoff, dieses biologisch stets vorhandene und doch bis dahin sehr vernachlässigte Zellelement, von den einzelnen Bestandteilen der Zelle in sehr verschiedener Weise aufgenommen, festgehalten und verbraucht wird. Mit der Verfolgung dieser Reaktionen wuchs mit einem Male die Untersuchung über die Histochemie der toten Haut hinaus zu einer Histochemie der lebenden, und wir hatten nun nicht mehr bloß nach der Säure und Basizität des einzelnen Zellelementes zu fragen, sondern auch nach seinem Verhältnis zum Sauerstoff. Dieses war der dritte große Fortschritt, den die Zellchemie neuerdings erfuhr. Es ist die neue, umwälzende Lehre von den Sauerstofforten und Reduktionsorten des Gewebes.

Die Entdeckung der Sauerstofforte, die natürlich an überlebendem, unfixiertem Gewebe gemacht wurde, und ihre konsequente Verfolgung an Gefrierschnitten zeigte nun aber außerdem, daß das alte Dogma, der Färbung müsse eine Fixation des Gewebes vorhergehen, unhaltbar geworden war. Gerade die bisher stets gesuchte und so oft als unmöglich hingestellte Lebendfärbung des nicht fixierten Gewebes wurde nicht nur Tatsache, sondern die tägliche Erfahrung wies auch den einfachen Weg, um bei jedem beliebigen Gewebe die „Lebendfärbung“ mit der bisher geübten „Totfärbung“ zu vergleichen und aus der Verschiedenheit der beiden gefärbten Bilder Schlüsse auf die charakteristischen und wesentlichen Faktoren des Lebensvorganges zu ziehen. Es bedarf dazu nur der Färbung eines Gefrierschnittes und seines Vergleiches mit einem Schnitt desselben Gewebes, der vorher durch Alkohol in Zelloidin oder Paraffin gebracht und dadurch abgetötet worden ist. Dieser wird dann mit einem solchen Färbemittel (Rongalitweiß oder Neutralviolett) gefärbt, das nur am lebenden Material bestimmte Farbenunterschiede erzeugt. Das Ausbleiben dieser Färbung beweist dann die vorhergegangene Abtötung des Gewebes.

¹⁾ P. G. Unna, Chromolyse. Sauerstofforte und Reduktionsorte. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden (Abderhalden), Abt. V, Teil 2, Heft 1. Urban & Schwarzenberg, Berlin und Wien 1921.

War aber die Fixierung durch Eiweiß fällende Mittel (Formalin, Metallsalze) auch gar nicht nötig, so entfiel damit der wichtigste Einwand, der bisher für die chemische Erforschung der Zelleiweiße berechtigterweise gegen diese gemacht war, daß nämlich unsere gefärbten Zellbilder der lebenden Zelle überhaupt nicht mehr entsprächen, daß ganz andere chemische Verbindungen an ihre Stelle getreten seien. Mit dem Fortfall der Fixationsprozeduren, dem vierten großen Fortschritt, und ihrem Ersatz durch bloßes Gefrieren, wurde die chemische Erforschung der Zelle plötzlich auf ganz einfache und chemisch durchsichtige Maßnahmen reduziert. Es handelte sich jetzt nur noch darum, das vereiste, unfixierte Material mit einem spezifischen Farbenindex zu versehen, um zu erkennen, ob einige und welche der angewandten Lösungsmittel die spezifisch färbbaren Zellteile aufzulösen imstande sind, was zu sicheren Schlüssen auf ihre chemische Natur berechtigt.

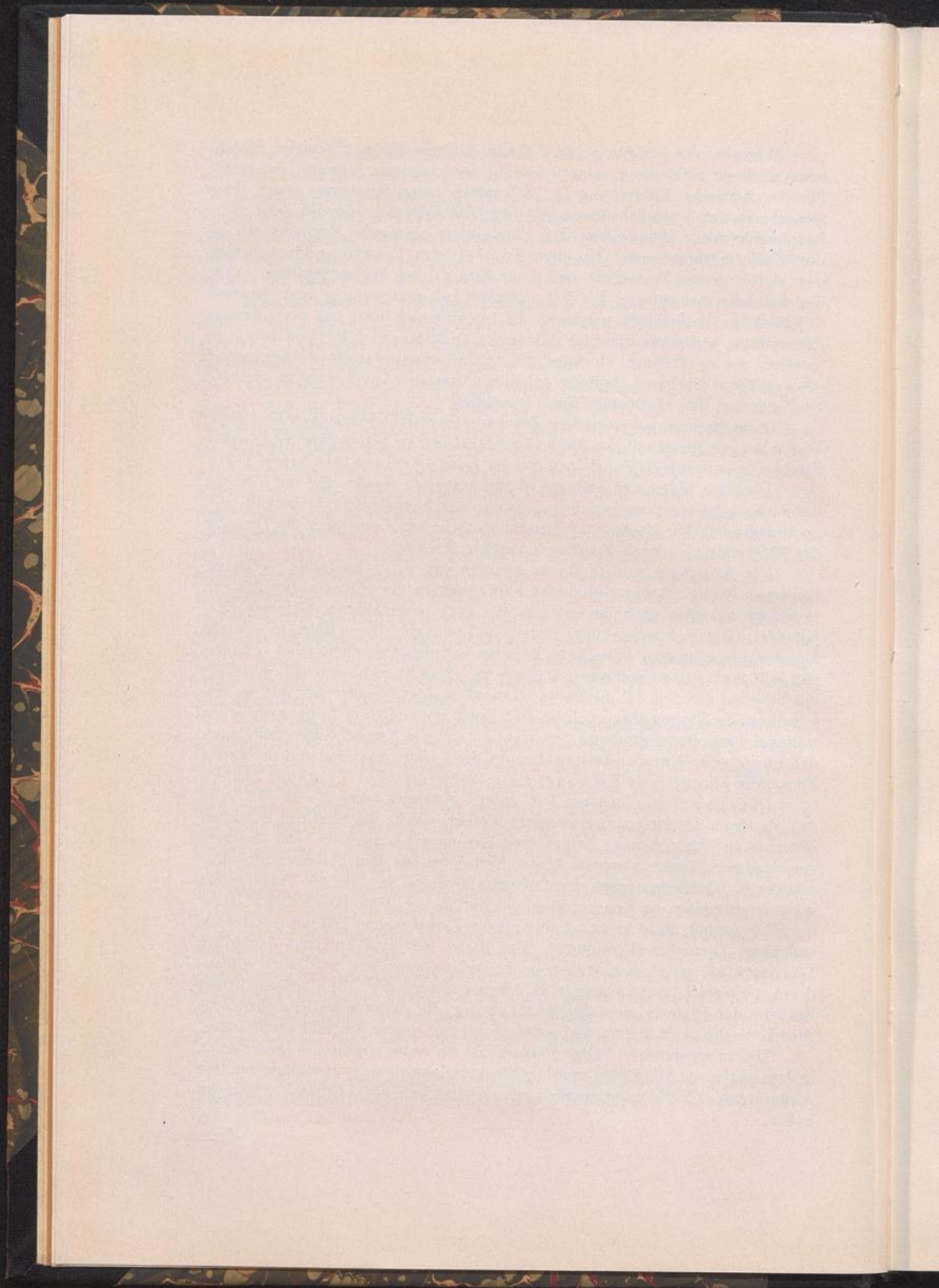
Unser Studium jedes einzelnen Zellelementes zerfällt demnach in zwei Teile. Wir haben uns zuerst mit der Färbung desselben in lebendem und totem Zustande zu beschäftigen, sodann mit der Lösung seiner färbbaren Teile.

Über das Wesen der Färbung ist viel gestritten worden und der Vorgang der Färbung ist von manchen Seiten als ein sehr komplizierter hingestellt, viel zu kompliziert. Die Sache ist doch sehr einfach, wenn man sich die Deutung der Färbung nicht durch Fixationen unnötig erschwert.

Alle Färbungen sind in ihrem Anfange rein physikalische Vorgänge, bei denen der in Lösung befindliche Farbkörper in die gröberen und feineren Poren des Gewebes eindringt und sich hier nach physikalischen Gesetzen (Kapillarität, Oberflächenanziehung) verteilt und anhäuft. Diese rasch, in wenigen Minuten, erreichte erste Phase jeder Färbung hat noch kein chemisches Interesse und läßt noch keine chemischen Schlüsse zu. Wäscht man innerhalb derselben das Substrat mit dem für die Farbe gebrauchten Lösungsmittel gut aus, so verschwindet die Farbe nahezu vollständig. Doch gewöhnlich nicht ganz, da schon während dieses ersten Stadiums Substrat und Farbe sich so nahe gekommen sind, daß chemische Verwandtschaften ins Spiel treten und nun erst die zweite Phase, die eigentliche Färbung, ein rein chemischer Vorgang, beginnt.

Diese bedarf einer längeren Zeit, unter Umständen sogar 24—48—72 Stunden, da sie in der fortgesetzten Auslese besteht, welche die einzelnen Strukturelemente auf die in Lösung befindlichen Farbmoleküle ausüben. Die chemisch verschiedenen Strukturelemente überwinden dabei das dem Färbeakt entgegenarbeitende Lösungsbestreben des flüssigen Mediums, in dem die Farbe gelöst war. Je schwächer die Konzentration der Farblösung, desto länger dauert daher der Färbeprozess, desto feiner ist aber oft die Farbensauslese und desto fester die endgültige chemische Verbindung. Die Farbe läßt sich nun mit demselben Lösungsmittel, gewöhnlich Wasser, nicht mehr auswaschen, wohl aber mit anderen stärkeren Lösungsmitteln, z. B. Alkohol, Säuren usw., die in diesem dritten Stadium der Färbung, dem der Entfärbung, die zuerst getroffene chemische Auslese modifizieren können und meistens auf eine engere Auswahl beschränken.

Das so entstandene fertige Präparat ist ein neues chemisches Individuum, in dem bestimmte Affinitäten einzelner Strukturelemente sich mit wahlverwandten Affinitäten der Farblösung ausgeglichen, neutralisiert, also chemisch verbunden haben.



A. Darstellung der sauren Zelleiweiße durch basische Färbungen.

Die heutige Kenntnis der Histochemie des Protoplasmas beruht auf der erfolgreichen Färbung desselben mit basischen Farben, nachdem die frühere Darstellung mit sauren Farben (Eosin, Pikrokarmin, van Gieson) sich in dieser Beziehung unfruchtbar erwiesen hatte. Die darin wirksamen sauren Farben (Eosin, Pikrinsäure) färben nämlich nur einen Teil des Protoplasmas, seine Grundlage, das Spongionplasma, einen Eiweißkörper von noch unbekannter Zusammensetzung und basischer Reaktion. Derselbe ist allen tierischen Zellen eigen und von sehr einheitlichem Charakter. Der zweite, vielgestaltigere Anteil des Protoplasmas ist im Gegensatz dazu ein saurer Eiweißkörper, in fast allen Zellen in verschiedener Menge und charakteristischer Anordnung vorhanden und bereits nach seinen chemischen Eigenschaften so gut bekannt, daß er einer bestimmten Eiweißgruppe zugeordnet werden konnte. Ich habe ihn das Granoplasma genannt; zusammen mit dem Spongionplasma bildet er das tierische Protoplasma.

I. Farbenindex des Granoplasmas: Blaues Polychrom.

Die Entdeckung des Granoplasmas (1891)¹⁾ verdanken wir der Anwendung der „polychromen Methylenblaulösung“, einer Farblösung, welche aus dem Methylenblau durch Kochen mit Kalikarbonat entstand und dessen Polychromie durch die Anwesenheit von Methylenviolett und basischem Thiazinrot²⁾ bedingt war. Diese äußerst stark basische Farblösung wurde allmählich das Hauptfärbemittel aller sauren Eiweiße. Ihr verdanken wir auch die Entdeckung der an dem sauren Granoplasma reichen Plasmazellen. Es zeigte sich übrigens bald, daß das dem Methylenblau nahverwandte Toluidinblau jenes mit Vorteil teilweise zu ersetzen imstande war, so daß die Mischung beider Farben noch farbkraftigere Bilder lieferte. Wir benutzen daher jetzt eine alkalische Farbmischung, die durch Kochen beider Farbstoffe zugleich mit Pottasche hergestellt wird, unter dem Namen „Blaues Polychrom“.

Man löst von beiden Farbstoffen 0.5 g in wenig 75%igem Alkohol auf, gießt beide Lösungen zusammen in 100 cm³ einer 1%igen Pottaschelösung und kocht diese Mischung unter beständigem Rühren 2 Minuten lang. Nach dem Erkalten wird die Mischung filtriert.

¹⁾ P. G. Unna, Über Plasmazellen, insbesondere beim Lupus. Monatshefte für praktische Dermatologie, 1891, Bd. 12, S. 296.

²⁾ P. G. Unna und Baudisch, Thiazinrot. Dermatologische Wochenschrift, 1919, Bd. 68, S. 49.