

Als in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts die Trennung des anatomischen und des physiologischen Unterrichtes erfolgte, stand die Histologie zwischen diesen beiden Fächern, sie wurde teils von Anatomen, teils von Physiologen vertreten. Hieraus wird es verständlich, daß in der histologischen Forschung neben der rein morphologischen auch die funktionelle Betrachtungsweise stets ihre Bedeutung behielt. Dieser Arbeitsrichtung gehört u. a. auch die Histochemie an, deren Ziel es ist, die chemische Zusammensetzung der einzelnen Gewebs- und Organbestandteile aufzuklären. Die histochemischen Untersuchungen werden an mikroskopischen Präparaten ausgeführt und bilden eine wichtige Ergänzung zu den physiologisch-chemischen Forschungen, die ja immer nur ein Gewebe oder Organ im ganzen, nicht aber seine Bauelemente betreffen können. Dem Charakter der Abhandlungen dieser Nummer entsprechend, werden aus dem umfangreichen Gebiet der Histochemie hier nur die wichtigsten der mit Farberscheinungen verbundenen Reaktionen genannt und mit den Jahreszahlen ihrer Einführung belegt.

In ähnlicher Weise wie die Fixationstechnik (s. S. 3082) entstanden auch die histochemischen Untersuchungsverfahren, sie entwickelten sich aus der Verwendung von «indifferenten» Flüssigkeiten und chemischen Reagenzien, durch die die Lichtbrechung der Gewebe geändert und damit Einzelheiten ihrer Struktur besser sichtbar gemacht werden sollten. Als «indifferente Zusatzflüssigkeiten» benutzte man anfänglich Speichel, Blutserum oder Glaskörperflüssigkeit; ein Ersatz für diese ist das von Max Schultze im Jahre 1864 empfohlene Jodserum, das ist Amnionwasser von Wiederkäuerembryonen, dem etwas Jodtinktur zugefügt wird, um es vor schneller Zersetzung zu schützen. Heinrich Frey (1822–1890) führte schon im Jahre 1863 Jod als gebräuchliches Reagens zum Nachweis von Stärke an; er kannte auch dessen Verwendung zum Nachweis von Amyloid und von Zellulose. Auffälligerweise erwähnt Frey den schon 1857 von Claude Bernard (1813–1878) erbrachten Nachweis von Glykogen durch Jod nicht, wie denn überhaupt auch im späteren deutschsprachigen Schrifttum Claude Bernard unverdienterweise kaum je als Entdecker

der Jodreaktion zum histochemischen Glykogennachweis genannt wird. Leider ist die Jodreaktion des Glykogens sehr vergänglich; sie wurde daher durch andere Farbreaktionen ersetzt, die jedoch immer durch die Bernardische Methode nachgeprüft werden müssen.

Ob die Bestsche Karminfärbung zum Glykogennachweis (1906) als eine echte histochemische Reaktion anzusehen ist, ist noch ungeklärt. In der Hand eines geübten Mikrotechnikers genügt sie zweifellos den Anforderungen der normal- und pathologisch-histologischen Untersuchung. Allerdings hat sie den Nachteil, daß bei ihr die Färbung durch Differenzierung, also durch Ausziehen überschüssigen Farbstoffes, zustande kommt. Da es aber dem Ermessen des einzelnen überlassen ist, wann die Differenzierung unterbrochen werden muß, besteht immer die Möglichkeit von Täuschungen. Demgegenüber ist die Bauersche Reaktion zum Polysaccharidnachweis (1933) wegen ihrer Sicherheit und Einfachheit zu empfehlen: Durch eine leichte Oxydation mittels Chromsäure wird das Glykogen in eine noch nicht näher bekannte wasserunlösliche Verbindung umgewandelt, die bei Behandlung mit fuchsin-schwefliger Säure eine rötlich-violette Färbung annimmt. Auch hier empfiehlt es sich, die Bernardische Jodreaktion stets zur Kontrolle daneben auszuführen.

Die Bauersche Reaktion ist eine Abänderung der im Jahre 1924 publizierten Nuclealreaktion von Robert Feulgen und H. Rossenbeck. Diese dient zum Nachweis der Thymonucleinsäure, die besonders im Chromatin der Kerne tierischer Gewebe vorkommt. Im Prinzip beruht die Nuclealreaktion darauf, daß die in der Nucleinsäure vorhandenen Purinbasen durch eine schwach saure Hydrolyse abgespalten werden, die frei gewordenen Aldehydgruppen werden dann durch fuchsin-schweflige Säure als stark rötlich-violette Färbung nachgewiesen. Es ist ein charakteristischer Zug in der Entwicklung der modernen histologischen Technik, daß heute an Stelle der Kernfärbung schon von vielen Forschern die Nuclealreaktion benutzt wird, d. h. eine histochemische Methode wird den Färbeverfahren vorgezogen.

Wie im geschichtlichen Rückblick über die Anwendung natürlicher Farbstoffe auf



Max Schultze (1825-1874), Anatom in Halle und Bonn, forderte chemische Kenntnisse als eine notwendige Voraussetzung für histologische Studien. Nach einer Lithographie.

Seite 3076 berichtet wurde, kann Krapp oder dessen wirksames Prinzip, das Alizarin, als Reagens zum Calciumnachweis dienen. Es bildet mit dem im Gewebe vorhandenen Kalk einen Farblack, der z. B. von Grandis und Mainini schon 1900 benutzt wurde, um über die Verteilung von Calciumsalzen in den Geweben Aufschluß zu gewinnen. Diese Methode ist jedoch im ganzen wenig empfindlich und auch nicht absolut spezifisch, denn besonders das Eisen kann gleichfalls mit Alizarin einen Lack bilden, dessen Farbton von dem des Kalk-Alizarin-Lackes nur wenig abweicht; im mikroskopischen Präparat ist jedenfalls die Differenz der Farben nur schwer unterscheidbar und damit die Spezifität der Methode fraglich.

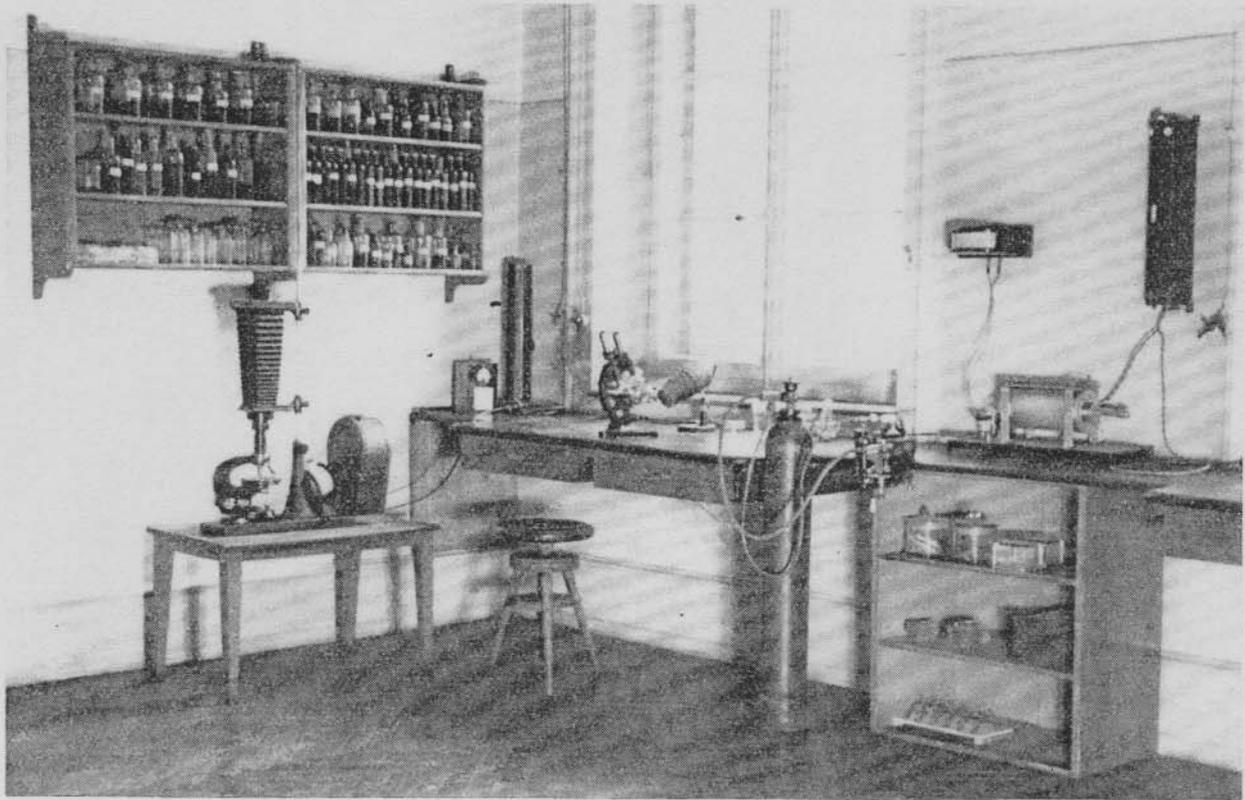
Wenig geklärt ist der Mechanismus des Calcium-Nachweises mit Pyrogallol, der im Jahre 1883 von Fr. Merkel (1845-1919) angewendet wurde, um die Bildungsstätten der im Speichel vorhandenen Kalksalze nachzuweisen. Eigene Untersuchungen haben gezeigt, daß Merckels Befunde zwar im Prinzip zu bestätigen sind, daß jedoch sein Verfahren nur wenig empfindlich ist. In dieser Beziehung ist die 1922 von A. Crétin eingeführte Reaktion zuverlässiger; bei ihr entsteht wahrscheinlich ein Lack vom Typus des Gallocyanins.

Mit dieser Methode erhält man auch noch in den Zellkernen positive Calciumbefunde; sie hat aber den Nachteil, daß sie diffizil ist. Weitere Reaktionen zum Calciumnachweis, z. B. die von A. B. Macallum aus dem Jahre 1912, sind keine eigentlichen Farbreaktionen, denn bei ihnen wird der als Gips ausgefällte Kalk nur indirekt, in Form des schwarzen Bleisulfides, nachgewiesen.

Entsprechend seiner großen Bedeutung im tierischen Organismus ist auch das Eisen schon früh Gegenstand histochemischer Untersuchungen gewesen. Soweit es in ionisierter Form vorkommt, war der Nachweis leicht zu führen; er gelang 1845 Julius Vogel (1814 bis 1880) und 1866 Max Perls (1843-1881). Von Perls stammt der Eisennachweis durch die Berlinerblau-Reaktion, mit der das im Tierkörper meist vorhandene dreiwertige Eisenion erkannt werden kann; diese Methode wird heute noch benützt und ist bei sachgemäßer Anwendung von hoher Spezifität. J. Vogel wies das Eisen im menschlichen Körper in der Form des Sulfides nach. Läßt man nach der Bildung von Eisensulfid als weiteres Reagens noch eine saure Lösung von Ferricyankalium einwirken, wie das Tirmann 1898 tat, so entsteht Turnbells Blau; auch diese Reaktion ist sehr spezifisch und praktisch frei von Fehlerquellen, die Präparate blassen jedoch allmählich ab. Auf einem anderen, schon oben erwähnten Prinzip (siehe S. 3087) beruht der Nachweis ionisierten Eisens in der Form eines schwarzen Hämatein-Eisenlackes (A. B. Macallum 1892).

Eisen in organisch gebundener Form ist mit färberischen Methoden nicht zuverlässig zu erkennen; dazu muß die 1833 von F. V. Raspail eingeführte und 1923 von Albert Policard (geb. 1881) wieder entdeckte Mikroveraschung herangezogen werden, denn im Aschenbild sind alle Eisensalze bei der Untersuchung im Dunkelfeld durch ihre orangefarbene Farbe leicht erkennbar. Der Unterschied in der Menge des so nachweisbaren Gesamteisengehaltes und des im ionisierten Zustand z. B. als Berliner Blau oder als Turnbells Blau feststellbaren Eisens ergibt dann den Gehalt an organisch gebundenem Eisen.

Die beschriebenen Eisenreaktionen haben eine gewisse Bedeutung, z. B. bei der Unterscheidung der Pigmentablagerungen im tierischen Körper: Sie ermöglichen es, hämoglobino gene Pigmente an ihrem Eisengehalt sicher



*Arbeitsplatz für histochemische Untersuchungen im Anatomischen Institut der Universität Bern. Rechts an der Wand eine Mikroveraschungsapparatur mit Einstellungs- und Meßgeräten; an die Kohlensäureflasche sind mit doppelter Leitung das Gefriermikrotom und die Tiefkühlvorrichtung des Messers angeschlossen; links auf dem niedrigen Tischchen die Einrichtung zur Mikrophotographie. Photo: E. Hintzsche, Bern.*

zu erkennen und z. B. vom Melanin zu trennen. Auch für die Melaninbildung wurde übrigens ein interessanter histochemischer Nachweis von Bruno Bloch (1878–1933), Zürich, im Jahre 1917 beschrieben, der hier als Beispiel einer Fermentreaktion angeführt sei. Durch Einlegen von Hautstückchen in eine Lösung von Dioxyphenylalanin (abgekürzt Dopa Reagens) konnte Bloch das Vorhandensein einer Dopaoxydase in den Zellen wahrscheinlich machen, die aus dem Reagens durch Oxydation das schwarzbraune Melanin entstehen läßt. Die Reaktion ist nur positiv in gewissen Epithelzellen der Haut und führte zu der Auffassung der ausschließlich epithelialen Genese des Pigments.

Zum Schluß sei noch auf die Verwendung histochemischer Methoden in der Hormon- und Vitaminforschung hingewiesen. F. G. Jacob Henle (1809–1885) kennzeichnete die schon früher bekannt gewesene Chromaffinität des Nebennierenmarkes im Jahre 1865 als eine spezifische Reaktion. Ihre Deutung wurde erst möglich, nachdem der Wirkstoff des Nebennierenmarkes, das Adrenalin, rein dargestellt worden war. Mulon führte 1905 den Nachweis, daß die Chromaffinität tat-

sächlich eine spezifische Adrenalinreaktion ist. Aus der jüngsten Zeit endlich stammt die Vitamin-C-Reaktion von Giroud und Leblond (1934), die auf einer im Dunkeln ausgeführten Reduktion von Silbernitrat beruht. Die Spezifität dieser Methode wurde schon von Szent-György nachgewiesen, dem die erste Reindarstellung des Vitamin C gelungen ist.

Mit Untersuchungen dieser Art baut die histochemische Forschung jetzt noch alte Arbeitsmethoden weiter aus, die vor der Entwicklung der histologischen Färbetechnik allein zu mikroskopischen Studien benutzt wurden. Neue, verfeinerte Arbeitsweisen sind eingeführt worden, so etwa auf dem Gebiete der Lebendbeobachtung, der Polarisations-, Ultraviolett- und Fluoreszenz-Mikroskopie, aber die Histochemie kann diesen als gleichwertig zur Seite gestellt werden; seit einiger Zeit erfreut sie sich wieder vermehrter Beachtung. Schon die wenigen angeführten Beispiele werden auch dem mit dieser Arbeitsweise wenig Vertrauten zeigen, daß der Ausbau der Methoden zur qualitativen chemischen Analyse auch Fortschritte der histochemischen Kenntnisse ermöglicht hat und noch weiterhin erwarten läßt.