Die Elektropolarität histologischer Farbstoffe. Vorläufige Mitteilung.

Von
Rudolf Keller (Prag).

Seit langem bemüht, ein zuverlässiges Verfahren zum mikroskopischen Nachweis der Elektrizität auszuarbeiten, war es mir schon gelungen, eine Methode der Kathoden-, später auch der Anodentinktion zu finden, die scharfe und am Galvanometer verifizierte Bilder lieferte. Ich entdeckte allerhand Übereinstimmungen mit der älteren Literatur und auch mit neueren Schriften, die später erschienen als meine Voraussagungen und genau mit ihnen übereinstimmten, obzwar sie keineswegs von elektrochemischen Gesichtspunkten aus angestellt wurden. Noch sicherer war ich meiner Sache, als sich z. B. bei Pflanzenwurzeln und Holz Widersprüche mit älteren flüchtigen Literaturangaben herausstellten und die Nachuntersuchung am Galvanometer und Elektrometer ergab, dass meine elektrohistologischen Methoden das Richtige ergeben hatten. Ich benutze für Kathoden Schwermetallsalzlösungen (Eisen und Kobalt), die nach dem Abwaschen mit Ferrozyankalium bzw. Schwefelammon die Kathoden blau oder schwarz anzeigen, für Anoden Unnas Methode der Sauerstofforte (RW und NV)¹⁾, ferner Safranin, dessen anodische Tinktion kirschrot ist und einige andere Kontrollmethoden. Meine ältere Eisen-Anoden-Methode²⁾ habe ich wegen der in meinem Buch geschilderten Nachteile aufgegeben.

Trotz aller Übereinstimmungen blieb ein Umstand sehr unbefriedigend, dass nämlich die von den Histologen fast ausschliesslich angewandten Teerfarbstoffe sich nur äusserst gewaltsam in mein System einordnen liessen und dass deshalb die Literatur der älteren Lebendfärbungen nur wenig Brauchbares ergab für die Bestätigung meiner Grundanschauung von der Bedeutung der elektrischen Zelladungen für den Ausfall mikroskopischer Färbungen. Wie alle Welt glaubte ich fest an die Wichtigkeit der Einteilung in basische und saure Farbstoffe.

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. 87, Abt. I, 1915 und spätere Arbeiten.

²⁾ Die Elektrizität in der Zelle, Wien 1918.

Die übereinstimmenden Angaben der Handbücher der organischen Elektrochemie, dass bei der Elektrolyse basische Farbstoffe an die Kathode gehen, und der Lehrbücher der Kolloidchemie, dass basische Farbstoffe zur Kathode wandern, saure zur Anode, begegnete auch bei mir keinem Zweifel, da sie Selbstverständliches zu enthalten schienen. Schliesslich aber entschloss ich mich doch, diese Angaben experimentell nachzuprüfen. Ich hatte eine Anzahl von Pflanzenschnitten zur Hand, die mir als Testpräparate dienten, da mir ihre Elektropolarität aus zahlreichen übereinstimmenden Versuchen mit Metallelektrolysen und mit Galvanometer und Elektrometer ganz zuverlässig vertraut war. Diese Testobjekte nun gaben mit typischen Basenfarbstoffen elektive Anodenbilder, mit gewissen Säurefarbstoffen deutliche und scharfe Kathodenbilder. Ich schritt also zu Wanderungsversuchen unter dem elektrischen Strom.

Diese Versuche machten es zur vollen Gewissheit, dass die Angaben der Lehrbücher falsch waren und dass meine Testobjekte die Elektropolarität der Farbstoffe richtig demonstriert hatten. Ich habe die meisten histologischen Farbstoffe untersucht; die Experimente werden fortgesetzt. Als allgemeine Regel hat sich bereits ergeben, dass die Farbstoffkolloide in wässriger Lösung sich im allgemeinen dem Typus der Eiweisskolloide gemäss verhalten, das heisst, ihre Wanderungsrichtung im elektrischen Feld hängt von der Natur der Lösung¹⁾ ab, sie wandern in basischer Lösung zur Anode, in saurer zur Kathode. Einige, z. B. das vielgebrauchte Methylenblau, zeigen eine Annäherung an den Typus Goldkolloid, indem sie auch in neutraler Lösung zur Anode gehen, einige, z. B. Auramin, sind auch bei 70 Volt elektroneutral.

Aus dieser Regel ergibt sich, dass im allgemeinen eine Neigung der basisch reagierenden Lösungen vorhanden ist, an die Anode zu wandern, also basische Farbstoffe mit Vorliebe eine anodische Tendenz erkennen lassen, ebenso, dass saure Farbstoffe unter Umständen elektive Kathodenbilder ausfärben, ganz im Gegensatz zu der geläufigen Ansicht; dass auch in diesem Falle meine mikroelektrische Methode sich bewährt hatte, wird ihr, wie ich bestimmt hoffe, den Eingang in die histologische Praxis

¹⁾ Nach der Regel von Hardy, Journ. of Physiol. 24 (1899) S. 288, zitiert nach Zsigmondy, Kolloidchemie, Leipzig 1918, S. 59.

ermöglichen. In bezug auf die Elektrohistologie der Pflanze habe ich gegenwärtig einen ziemlich sicheren Überblick über die einzelnen Teile, ausgenommen die Feinheiten des Zellkerns, die sich bekanntlich am lebenden Objekt, das allein für Elektromikroskopie taugt, nicht anfärben lassen. Was das Tier anbelangt, so erhalte ich das Material entweder nicht genügend frisch oder es sind sonstige Umstände, die meine Präparate unschärfer oder ganz diffus erscheinen lassen; nur selten gelingt es mir, die Kathoden und Anoden so scharf herauszubringen, wie die Schöpfer der von mir adaptierten Methoden von Unna, Golodetz und Macallum. Ich kann nur bestätigen, dass diese rein chemisch gedachten Methoden in allen Fällen, wo ich sie kontrollieren konnte, genau dasselbe Bild ergeben haben. Zu den von den chemischen Mikroskopikern und von mir bereits mitgeteilten Bestimmungen, wobei Kaliummorte und Reduktionsorte als Kathoden zu übersetzen sind, Sauerstofforte als Anoden, ist nur hinzuzufügen, dass die Säurezellen des Magens nach meinen sicheren Feststellungen nicht die Belegzellen sind, sondern die Hauptzellen, dass die Brunnerschen Drüsen des Darms entgegen meiner Erwartung anodisch tingieren.

Eine besondere Erwähnung verdienen noch zwei Umstände. Erstens die elektrohistologische Anfärbung des Gegensatzes zwischen Nervenoberfläche und Nervenanschnitt (oder -querschnitt, wie sich die Elektrophysiologie ausdrückt). Wie bekannt, ist makroskopisch die Oberfläche anodisch, der Schnitt kathodisch. Ein Verfahren nun, bei dem der Nerv ausschliesslich von der Oberfläche angefärbt wird, ist Ehrlichs Methylenblau-Injektion ins Blut, welches das Methylenblau in farbloses Leukoprodukt überführt und durch die Ernährungswege an die unversehrte Oberfläche des Nerven heranbringt. Ehrlich hat gleichsam Unnas RW auf natürlichem Wege erzeugt und an Oberflächen herangeführt, also ein Anodenbild erzeugt, ebenso Kreibich¹⁾, der in neuerer Zeit in ganzen Stücken direkt mit RW färbte und ein Anodenbild erzeugte. Demgegenüber hat Unna Querschnitte (Gefrierschnitte) mit demselben RW behandelt und die Schnittflächen weiss in blauer Umgebung, also kathodisch reproduziert. Derselbe Farbstoff RW erzeugt also, je nachdem, ob er

¹⁾ Prager medicin. Wochenschrift, 1913.

auf ganze oder auf angeschnittene Zellen gelangt, in gewünschter Weise Kontrastbilder seiner selbst.

Zweitens habe ich nach der Feststellung, dass die saure oder basische Natur der Farblösung eine so entscheidende Bedeutung für den elektrischen Wanderungssinn hat, systematisch denselben Farbstoff sauer und basisch appliziert. Es ergibt sich ein gewisser Unterschied, das geübte Auge des mit der Elektropolarität der betreffenden Objekte vertrauten Untersuchers sieht sogar hier und da eine Annäherung an das Kathodenbild oder das Anodenbild. Doch ist diese nur sehr schwach angedeutet. Die Ursache liegt wahrscheinlich darin, dass die Zellpole des lebenden Gewebes ihre Ladung, solange sie noch Leben in sich haben, zähe festhalten, also als Kathoden dem Eindringen von Säureanionen, als Anoden umgekehrt dem der Kationen einen gewissen Widerstand entgegensetzen. Schliesslich werden ausser Methylenblau auch zahlreiche andere Farbstoffe wie z. B. Neutralrot, Säurefuchsin an den Kathoden der Zellen durch Reduktionswirkung oder Alkali farblos, also unsichtbar.

Die Gesamtergebnisse meiner diesjährigen Versuche werden unter dem Titel „Neue Versuche über mikr. Elektr.-Nachweis“ demnächst bei Braumüller, Wien, gesammelt erscheinen.