

even allows the microscoping of flat parts of the stone of any size. Rocks which are a mixture of clay and salts and may even contain many cavities, cannot, or can only with great difficulty, be prepared as thin sections. With a minimum of time however, "Lack-films" may be prepared.

2. The clastics of salt-containing rocks are often more important for geological analysis than the salt minerals. Therefore, from the solution residua, fine grains are procured by sieving, whereby the search for characteristic particles under the microscope is rendered easy. If such a grain collection contains too many crystals of Anhydrit, the grains may be embedded in Toluidin, from which the visibility of the masses of Anhydrit under the microscope is reduced.

3. It was proved that many composite rocks with a salt matrix are soft enough and also tough enough to allow the cutting of thin plates with an ordinary metal saw. There is no fear of breakage, even when the plate is no thicker than five millimeters. Eventually, they may even get an additional polishing by emery papers of various grades. Water, however, must not be applied. The "thick sections" may be embedded like thin sections and studied under the microscope in a similar way, as they are surprisingly transparent if the Halit-percentage is high enough. In the geological collections they are handier and more characteristic examples than the ordinary material of salt rocks (in many cases hygroscopic).

By these new methods, quite a number of new facts for stratigraphically distinguishing salt-containing stratae had been gained, as, for example, rare microfossils. The "thick section" proves to be specially suited to judge the degree of metamorphosis of salt-containing rocks. The time saved by these methods will probably be of prime importance to everybody making use of them.

Literatur

Borchert H., Die Salzlagerstätten des deutschen Zechsteins. Arch. Lagerstättenforsch. (1940) 67. — Wetzel W., Nitratfreie Salzgesteine in einer nordchilenischen Salzpflanze. Chemie der Erde 11 (1938 a). — Derselbe, Sedimentpetrographische Untersuchungen an deutschen Salzgesteinen. 29. Jber. Niedersächs. geol. Verein. (1938 b).

(Aus dem Institut für Histologie und Embryologie der Universität Graz.
Vorstand: Prof. Dr. C. Zawisch)

FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE STUDIEN AN DER HAUT

Von DORA BOERNER

Mit 1 Abbildung.

Anläßlich von Studien über die Wirkungsart des Zitronensaftes auf die Haut verwendete ich unter anderem fluoreszenzmikroskopische Methoden. Da es sich dabei zeigte, daß man durch diese näheren Einblick in das Wesen gewisser Anteile der Epidermis, besonders des Stratum lucidum, erhält, so sollen die Resultate hier mitgeteilt werden.

Material und Methode

Es wurde ausschließlich an der Pfotenhaut des Meerschweinchens gearbeitet. Hier sei gleich erwähnt, daß die Haut der vorderen Pfotenballen geeigneter für allgemein histologische Untersuchungen ist als jene der rückwärtigen, da in ersterer die an und für sich spärlich vorkommenden Schweißdrüsenausführungsgänge doch etwas häufiger sind als in den rückwärtigen Ballen. Die Haut wurde stets den in Narkose liegenden Tieren entnommen und sofort am Gefriermikrotom im möglichst kalten Raume geschnitten.

Die 10 bis 15 μ dicken Schnitte untersuchte ich teils frisch ohne Zusatzflüssigkeit auf ihre Eigenfluoreszenz, teils prüfte ich den Einfluß von Säure und Alkali sowie jenen

der Temperatur und die Veränderungen, welche durch Austrocknen bewirkt werden, fluoreszenzmikroskopisch. Eine andere Versuchsreihe wurde mittels Fluorochromierung an frischer und an mit 10%igem Formol fixierter Haut angestellt. Die Farblösungen waren mit Phosphatpuffern von verschiedenem pH versetzt.

Erscheinungen der Eigenfluoreszenz am frischen Präparat

Schon STÜBEL 1911 und BOMMER 1926 stellten makroskopisch fest, daß das Stratum corneum der Haut Eigenfluoreszenz besitzt. Neuerdings liegen fluoreszenzmikroskopische Studien hierüber von BEJDL 1949 und STOCKINGER 1949 vor. Diese Autoren arbeiten sowohl an ungefärbtem wie auch an fluorochromiertem Material, BEJDL vor allem am Isolationspräparat (siehe auch die Abbildungen bei PATZELT 1929).

An frischen Hautschnitten leuchtet das Stratum corneum unter dem Fluoreszenzmikroskop in weißblauem bis weißgelblichem Licht. Am stärksten ist die Fluoreszenz des Stratum disjunctum. Dies dürfte auf den geringen Wassergehalt dieser Schichte zurückzuführen sein. Daß durch Austrocknen von Substraten eine Erhöhung der Fluoreszenz erzielt wird, teilen schon STÜBEL 1911 und SJÖSTRAND 1944 mit. Außerdem treten im ganzen Bereich des Stratum corneum dunklere Flecke auf, die vielleicht durch eine stellenweise stärkere Durchfeuchtung bedingt sind.

Das Stratum lucidum leuchtet noch heller in weißblauem Tone. Dieselbe Erscheinung zeigen die Schweißdrüsenausführungsgänge im Bereiche des Stratum corneum. Da nach PATZELT 1926 und HOEPKE 1927 ihre innersten Zellagen Elaidin enthalten, so müssen die Eigenfluoreszenzerscheinungen im Stratum lucidum und in den Schweißdrüsenausführungsgängen wohl auf diese Substanz zurückgeführt werden.

Ein deutlicher Unterschied ergibt sich in der Resistenz der Fluoreszenz des Stratum corneum und der elaidinhaltigen Schichten. Bei ersteren kann man, auch bei höheren Zimmertemperaturen, noch am nächsten Tage Fluoreszenz beobachten; ja, diese ist sogar meist verstärkt, da das Präparat in dieser Zeit austrocknet. Die Fluoreszenz des Elaidins erlischt dagegen sehr bald und ist besonders wenig wärmeresistent. Bringt man dagegen die Haut sofort nach der Entnahme in den Eisschrank und untersucht sie erst am nächsten Tage, so ist nicht nur die Fluoreszenz des Stratum corneum verstärkt, sondern auch das Stratum lucidum leuchtet sehr hell in weißblauem Lichte. Es stimmt dies wieder mit den Untersuchungen SJÖSTRANDS 1944 überein. Dieser Autor gibt an, daß durch Herabsetzen der Temperatur die Eigenfluoreszenz nicht nur verstärkt wird, sondern daß auch bei Temperaturen von -190°C manche Substrate, die sonst keine Fluoreszenz aufweisen, zu fluoreszieren beginnen.

Die große Beeinflußbarkeit der Fluoreszenzfähigkeit des Stratum lucidum durch erhöhte Temperaturen ist aber nicht das einzige Moment, welches auf eine große Labilität des Elaidins schließen läßt. Auch nach Zusatz von 0,1% Essigsäure sowie von 0,05% NaOH erlischt seine Fluoreszenz sofort, während jene des Stratum corneum anfangs nur herabgesetzt wird und erst nach längerer Einwirkungsdauer verschwindet. Daß die Epidermis weitgehend durch Säuren und Alkalien beeinflussbar ist, wurde schon vielfach festgestellt (H. RABL 1897, SCHAFFER 1922, 1927, UNNA 1928 u. a. m.). Insbesondere gibt PATZELT 1926 an, daß durch 10%ige Essigsäure und 5%ige Salpetersäure eine starke Quellung des Stratum lucidum bewirkt wird. Ich selbst erzielte eine vollständige Auflösung dieser Schichte, wenn ich 1%ige Essigsäure oder auch andere 1%ige organische Säuren durch mindestens 24 Stunden auf tote Haut einwirken ließ.

Dem Stratum lucidum wird eine besondere Stellung als Schranke gegenüber dem Eindringen wässriger Lösungen in die Epidermis zugesprochen (WEIDENREICH 1901, MERK 1902, PATZELT 1926, 1929, 1933, HOEPKE 1927, UNNA 1928 und

SCHUMACHER 1925 u. a. m.). Insbesondere wird in diesen Arbeiten auch untersucht, welche Rolle das Stratum granulosum und lucidum bei der Verhornung spielen. Genauer über diese Literatur findet sich bei den genannten Autoren. Neuerdings befaßte sich ZEIGER 1936—1942 anlässlich seiner Untersuchungen über das Ladungsmosaik der Epidermis mit diesen Problemen. Er erkennt dem Stratum lucidum ebenfalls eine ausgesprochene Schrankenwirkung zu und führt diese auf folgende Eigenschaften zurück: Das Stratum lucidum hat 1. eine besonders große Dichte, da es für grobdisperse Farblösungen (Isaminblau und Baslerblau) undurchgängig ist, unabhängig vom pH der Farblösungen, 2. liegt sein IP unter allen Epidermiselementen dem Neutralpunkt am nächsten und 3. ist es schließlich Ca-frei. Inwieweit sich diese Schrankenwirkung mit der Labilität des Elaidins Wärme und Säuren gegenüber in Einklang bringen läßt, soll weiter unten erörtert werden.

Fluorochromierung der unfixierten Haut mit Pyroninlösungen von abgestuften Säuregraden

Pyronin ist bekanntlich ein Indikatorfarbstoff, dessen Umschlagpunkt vom dissoziierten in den molekularen Zustand nach STRUGGER 1941/42 zwischen pH 7 und pH 11,2 liegt. Dieser Autor erzielt folgende Fluoreszenzeffekte der Farblösung, wenn er zur Pyroninlösung (Präparat Hollborn) tertiäres Kaliumphosphat zusetzt: Auf 10 ccm wässriger Pyroninlösung in einer Verdünnung 1 : 20.000

		pH	Fl-Farbe nach 20 Minuten (Farbestimmung nach den Farbtafeln von OSTWALD)
Tertiäres Kaliumphosphat m/15	0,1 ccm	7,47	gelb 2 na
	0,2 ccm	10,06	veilchenblau 10 gc
	0,3 ccm	10,31	ultramarinblau 14 na

Den Umschlagpunkt fand STRUGGER genau bei pH 10,0—10,13 von gelb nach ultramarinblau. Nach Überschreiten des Umschlagpunktes flockte ein Teil der schwerlöslichen Farbbase aus. Nach diesen Resultaten nimmt er an, daß der Farbstoff unter pH 10 ionisiert ist, darüber in molekularem Zustande vorliegt. Die hydrophilen, lipophoben Kationen sind gelb und werden an das Eiweiß des Plasmas elektroadsorbtiv gebunden. Die Moleküle der Farbbase erscheinen im Fluoreszenzlicht blau. Sie sind hydrophob und lipophil, können daher in Substrate lipoider Natur eindringen und lassen diese dann ebenfalls in blauer Fluoreszenzfarbe aufleuchten.

Auf Grund dieser Erkenntnisse STRUGGERS ist es somit möglich, den Lipoidcharakter von Substraten fluoreszenzmikroskopisch nachzuweisen, was für meine Untersuchungen von Bedeutung war.

Ich arbeitete nicht wie STRUGGER mit Pyronin von Hollborn, sondern mit einem alten Präparat von Grübler. Dieses scheint viel stärker dissoziiert zu sein, weshalb meine Resultate insofern von jenen STRUGGERS abweichen, als der Umschlagpunkt weiter gegen die alkalische Seite verschoben ist. Er liegt zwischen pH 11 und pH 12. Verfolgt man die Fluoreszenz-Farbänderungen durch die ganze Reihe von gepufferten Farblösungen im Bereich von pH 2,5 bis pH 12, so ist es auffallend, daß die Fluoreszenzintensität vor dem Umschlagsbereich, also zwischen pH 7 und pH 9, bei gleichzeitigem Dunklerwerden der Farbtöne stark absinkt, um erst nach pH 9 wieder anzusteigen und ein zweites Maximum bei pH 10 bis pH 11 zu erreichen. Ähnliches kommt auch in den Farbangaben von STRUGGER zum Ausdruck. Ich habe versucht, diese Erscheinungen in Form von Kurven derart festzulegen, daß ich die Fluorofarbeffekte und Intensitäten auf der Ordinate, die einzelnen pH-Werte auf der Abszisse auftrug. Die Bestimmung der Farbtöne geschah wie bei STRUGGER nach den Farbtafeln von OSTWALD. Ich bin mir bewußt, daß solche Kurven keinen Anspruch

auf absolute Exaktheit machen können, doch genügen sie meines Erachtens, um über die Farbänderungen sowie über die Fluo-Maxima und -Minima Aufschluß zu geben (Tafel I, kontinuierliche Linie).

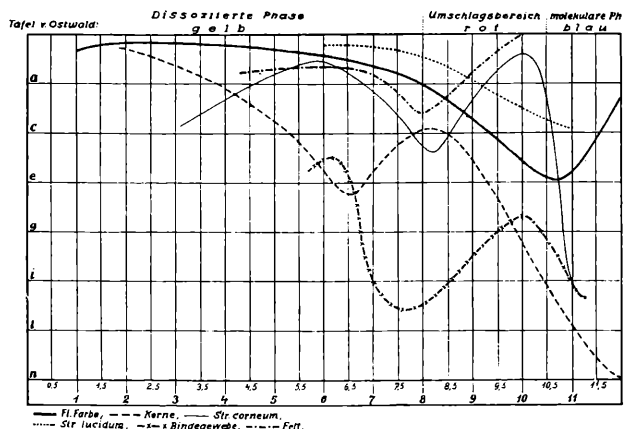


Abb. 1. Diagramm, darstellend die Fluoreszenzeffekte nach Fluorochromierung mit Pyronin bei gestuften p_H -Werten.

Bei den ersten Fluorochromierungen, welche ich im Sommer ausführte, wurden die verschiedenen Säuregrade der Pyroninlösungen empirisch dadurch hergestellt, daß zu einer wässrigen Pyroninlösung 1 : 500: 1. 0,1% Essigsäure; 2. Aqua fontis von etwa p_H 6,5; 3. mit NaOH alkalisiertes Aqua destillata und 4. 0,05% NaOH zu gleichen Teilen zugesetzt wurde. Die Resultate stimmten im großen und ganzen mit jenen überein, die ich später mit phosphatgepufferten Pyroninlösungen erzielte. Es ergab sich folgendes:

Pyronin und 0,1% Essigsäure:

Kerne = gelblichrosa; Stratum corneum = grünlichblau; Stratum lucidum = nicht abgrenzbar.

Pyronin und Aqua fontis:

Kerne = stumpf rostrot; Stratum corneum = leuchtend gelb; Stratum disjunctum = heller gelb; Stratum lucidum = stärker leuchtend grüngelb; Zellplasma im Stratum Malpighii = schwach gelblich; Fett = blau.

Pyronin und alkalisiertes Aqua destillata:

Kerne heben sich vom Plasma nicht ab; Stratum corneum = gelblich; Stratum disjunctum = heller; Stratum lucidum = hellgelb; Zellplasma des Stratum Malpighii = blau-braun; Interzellularspalten = blaurosa; Fett = ultramarinblau.

Pyronin und 0,05% NaOH:

Kerne = ausgelöscht; Stratum corneum proximal = trübblau; Stratum disjunctum = hellblau mit rosa gesäumten Zellen; Zellplasma im Stratum germinativum = blau; Fett = ultramarinblau.

Im Gegensatz zu den später zu besprechenden Befunden mit gepufferten Pyroninlösungen flaut die Fluoreszenz um p_H 6 herum ab, um dann vollständig zu verschwinden. Das Stratum lucidum leuchtet nur in einem sehr eng begrenzten p_H -Bereich. Dieses schnelle Verschwinden der Fluoreszenz ist wohl auf die p_H -Labilität der Farblösung dem frischen, noch reaktionsfähigen Gewebe gegenüber zurückzuführen.

Im Herbst standen mir Phosphatpuffer zur Verfügung, welche wegen ihres großen p_H -Bereiches und weil nur im sauersten Bereiche Salzsäure verwendet wird, für fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen am geeignetsten zu sein scheinen (Halogene setzen nach SJÖSTRAND 1944 die Fluoreszenz herab). Ich stellte die bei REICHERT 1944 nach STAMPE angegebene Phosphatpufferreihe von p_H 2,5 bis p_H 11,14 in doppelter Konzentration her und verwendete, um p_H 12 zu erzielen, tertiäres Phosphat allein. Diese Lösungen wurden zu gleichen Teilen mit wässriger

Pyroninlösung 1 : 5000 versetzt. Die niedrige Farbkonzentration wählte ich deshalb, weil der stark saure Farbstoff sonst in den höheren pH-Bereichen die Pufferung durchschlug. Die Färbedauer betrug 3 Stunden. Nach dieser Zeit hatte sich ein Färbungsgleichgewicht eingestellt, so daß sich die Fluoreszenzfarben dann, auch bei längerem Verweilen in der Farblösung, nicht mehr änderten. Gespült wurde kurz mit den entsprechenden Pufferlösungen.

Das auffallendste Ergebnis war, daß alle Anteile der Haut, ebenso wie die Farblösung allein, ein doppeltes Maximum in bezug auf die Fluoreszenzstärke aufwiesen. Das erste lag ziemlich weit im sauren Bereich, das zweite gegen den Neutralpunkt zu. Das heißt, bevor der Umschlag der Farblösung vom dissoziierten in den molekularen Zustand erfolgt, tritt ein Abfall der Fluoreszenzintensität ein (Tafel I). Da, wie schon gesagt, die Farblösung selbst dasselbe Phänomen aufweist, so ist diese Erscheinung wohl auf die Farbeigenschaft zurückzuführen.

Die Befunde an den Kernen zeigen Eigenheiten, die nach Färbung mit gepufferten Farben bei Taglichtmikroskopie nicht so deutlich zum Ausdruck kommen. Ihre Fluoreszenz beginnt bei pH 2,05 mit einem hellgelblichrosa. Aufleuchten zarter Strukturen. Bei pH 3,51 werden diese dichter und sind tieforange gefärbt. Je mehr man sich dem Neutralpunkt nähert, um so mehr verdichten sie sich, bis der ganze Kern schließlich homogen rostrot erscheint. ZEIGER 1936 findet den IP der Kerne des Stratum Malpighii bei pH 2,3. Es muß hier in Betracht gezogen werden, daß es sich bei ZEIGER um fixiertes Material handelt, doch würde die von ihm verwendete Formolfixierung eher nach der sauren Seite verschieben. Der Hauptgrund, daß die Strukturen im Fluoreszenzlicht früher aufleuchten, dürfte darin zu suchen sein, daß hier schon viel feinere Anfärbungen infolge der Intensität der Leuchtkraft wahrgenommen werden können. Die immer stärkere Verdichtung der Kernstrukturen sind vielleicht dadurch bedingt, daß die verschiedenen Kernproteine (Thymonukleinsäure, Ribosenukleinsäure, Nukleohiston usw.) nicht den gleichen IP besitzen, so daß erst nach und nach alle Bestandteile zur Darstellung kommen. Untersuchungen hierüber mangeln mir, da es mir bis jetzt nicht gelungen ist, diese Substanzen rein zu erhalten. Die zwei Maxima der Fluoreszenz liegen bei den Kernen bei pH 3,5 und pH 8,22 (Tafel I, strichlierte Linie).

Das Stratum corneum beginnt erst bei pH 3,51 schwach graugrünlich zu fluoreszieren. Möglicherweise ist dies auf den Gehalt an Salzsäure in den zwei sauersten Puffergemischen zurückzuführen, da ja, wie schon erwähnt, SJÖSTRAND eine Herabsetzung der Fluoreszenz durch Halogene feststellen konnte. Auch meine Befunde der Eigenfluoreszenz zeigen, daß Säuren im negativen Sinne die Fluoreszenz beeinflussen (S. 238). Von pH 3,5 an nimmt die Fluoreszenz an Stärke ständig zu und bekommt einen immer tieferen goldgelben Farbton. Es leuchten, ebenso wie bei der Eigenfluoreszenz, nicht alle Schichten gleich stark. Am intensivsten fluoresziert das Stratum disjunctum und die Lage über dem Stratum lucidum (Stratum superbasale von ZEIGER 1936). Auch lassen sich ebenso wie bei der Eigenfluoreszenz im ganzen Bereich des Stratum corneum dunklere, schwach violett erscheinende Flecke erkennen. Die Ursache dürfte auch hier in verschieden starker Durchfeuchtung zu suchen sein. Bei pH 7,11 flaut die Fluoreszenz wieder ab, um erst bei pH 10,15 etwas stärker zu werden. Ihr Sitz hat sich jetzt aber geändert. Es sind nicht mehr vor allem die Zellkörper, welche hervorleuchten, sondern die Zellkomponenten enthaltende Interzellularsubstanz. Diese sendet ein purpurrosa Licht aus, während der Zelleib schwache Mauvetönung aufweist. Es wird gezeigt werden, daß sich das Stratum Malpighii in den hohen pH-Bereichen ähnlich verhält. Es soll weiter unten darauf eingegangen werden.

Das Stratum lucidum leuchtet trotz seiner Eigenfluoreszenz erst etwa bei pH 7,11 hellgelb auf. Es dürfte wiederum die Säurewirkung in den tiefen pH-Bereichen als Ursache in Betracht kommen. Außerdem stimmt das erste Aufleuchten des Stratum

lucidum mit dem von ZEIGER 1936 ermittelten IP bei pH 7,5 überein. Bei pH 8,22 erfolgt ein Farbumschlag in ein tiefes Blutrot, und es werden einzelne Tropfen sichtbar, die bei pH 10,15 besonders deutlich erkennbar sind. Oberhalb dieses pH -Bereiches verlöscht die Fluoreszenz dieser Schichte allmählich, so daß bei pH 12 das Stratum corneum durch ein schmales dunkles Band vom Stratum Malpighii getrennt ist (Tafel I, kleinstriechlierte Linie).

Die Fluoreszenz der Zellen des Stratum Malpighii beginnt bei pH 5,3 und bleibt durchwegs recht schwach. Sie wechselt von mauve über bräunlich nach olivgrün, wird bei pH 7,63 ganz stumpf, um erst darüber wieder in veilem Tone etwas deutlicher zu werden. Während im sauren Bereich vor allem das Plasma fluoresziert und die Interzellularspalten unsichtbar bleiben, treten letztere im alkalischen Bereich in deutlich zitronengelbem Lichte hervor. Ab pH 10,15 nehmen sie purpurrosa Tönung an. Ich möchte annehmen, daß es sich hier, ebenso wie beim Stratum corneum, um Fettsubstanzen handelt, die sich mit der molekularen Phase des Pyronin färben. Zu erwähnen ist noch, daß sich, wie dies auch SCHMIDTMANN 1925 und ZEIGER 1936 angeben, Zellplasma und Kerne in den proximalen Schichten des Stratum corneum anders verhalten als in den distalen. In diesen ist durchwegs die Fluoreszenz eine viel geringere, was wohl durch die Vorbereitung der Zellen zur Verhornung zu erklären ist.

Über das Bindegewebe kann ich nur aussagen, daß es in dem stark durchfeuchteten Zustand, in dem es sich in meinen Präparaten befand, sehr schwach fluoresziert. Es wird bei pH 5,81 in grünbraunem Tone sichtbar, verschwindet bei pH 7,36 fast ganz, um dann erst bei pH 8,22 in etwas hellerem, blauvioletttem Tone wieder hervorzutreten. Über pH 11 bleibt es ausgelöscht.

Das Fett wird nur von der molekularen blauen Phase des Pyronins tingiert. Bei pH 3,5 erscheint es, wahrscheinlich beeinflusst durch die Plasmahülle, in den Fettzellen grünblau, wird aber im weiteren Verlauf der pH -Reihe immer intensiver ultramarinblau. Im alkalischen Bereiche sind manche Fettzellen und auch freie Fetttropfen rosa. Ich führe dies auf Zersetzungserscheinungen des Fettes durch Alkaliwirkung (Hydrolyse ?) zurück.

Untersuchungen an Haut, die nach Fixierung mit 10% Formol mit Pyronin fluorochromiert wurde

Diese Kontrollversuche wurden mit derselben Pufferreihe, die ich bei den unfixierten Präparaten verwendete, angestellt. Hier fiel also vor allem der Einfluß der noch aktiv reaktionsfähigen Substrate weg. Grundsätzlich verhalten sich die meisten Bausteine der Epidermis im fixierten Präparate gleich wie im unfixierten. Ein Unterschied zeigt sich nur darin, daß im fixierten Hautschnitte die Farbtöne weniger gesättigt und die Fluoreszenz etwas schwächer sind. Ferner kommen die Helligkeitsmaxima und -minima nicht so deutlich zum Ausdruck. Ein besonderes Verhalten zeigt nur die fetthaltige (Faktor F) Interzellularsubstanz von Stratum corneum und Malpighii sowie das Stratum lucidum und granulosum, welch letzteres im unfixierten Präparate fluoreszenzmikroskopisch nicht erfaßbar ist. Die Interzellularsubstanz der genannten Schichten leuchtet ab pH 10,15 viel stärker, und die Fluoreszenz nimmt gegen pH 12 an Intensität zu, während der Farbton sich jenem des Fettes nähert. Das gleiche gilt für das Stratum lucidum bzw. für das Elaidin. Dieses zeigt schwache Fluoreszenz ab pH 7,63, um dann bis pH 11 wieder zu verschwinden; das heißt, es läßt sich in diesem pH -Bereich nicht von den angrenzenden Schichten unterscheiden. Erst bei pH 11 tritt wieder Fluoreszenz auf, aber diesmal in grauvioletttem Farbtone. Darüber nimmt sie an Intensität stark zu und spielt immer mehr ins Blaue.

Über die chemische Natur des Stratum lucidum gehen die Ansichten seit jeher auseinander (siehe Literaturangaben bei PATZELT 1926, HOEPKE 1927, UNNA

1928 u. a.). Von den meisten Autoren wird angenommen, daß im Elaidin eine Lipoidkomponente vorhanden ist, doch war es bis jetzt nicht möglich, diese mit Sicherheit nachzuweisen. Nach meinen fluoreszenzmikroskopischen Erfahrungen möchte ich glauben, daß durch die Formolfixierung der Lipoproteidkomplex, den das Elaidin enthalten soll, gesprengt wird, so daß, besonders in den hohen pH -Bereichen, in denen vielleicht auch die Alkaliwirkung mitspielt, die Lipoidkomponente in Freiheit gesetzt wird und dadurch fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen werden kann. Ähnlich dürfte es sich mit den zwischenzelligen Fettsubstanzen im Stratum corneum und Stratum Malpighii verhalten. Es widersprechen diese Tatsachen der allgemein anerkannten Schrankenwirkung des Stratum lucidum nicht. Man muß nur annehmen, daß diese durch den Lipoproteidkomplex hervorgerufen wird. Nach Sprengung desselben dürfte sie zum mindesten herabgesetzt sein. Da ich die notwendigen grobdispersen Farbstoffe bis jetzt nicht erhalten konnte, fehlt mir aber der Beweis hierfür.

Das Stratum granulosum ist auch im fixierten Präparate nicht mit Sicherheit fluoreszenzmikroskopisch nachweisbar. Lediglich oberhalb von pH 11 tritt es als dunkler Streifen zwischen Stratum lucidum und Stratum Malpighii hervor.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1. Der Abfall der Fluoreszenzintensität, den das Pyronin und fast alle Anteile der Haut vor dem UP des Farbstoffes zeigen, dürfte auf einer Eigentümlichkeit des Farbstoffes beruhen.

2. Alle Bausteine der Epidermis zeigen in den einzelnen pH -Bereichen charakteristische Fluoreszenzfarbänderungen.

3. Das Elaidin des Stratum lucidum und der Schweißdrüsenausführungsgänge ist höheren Temperaturen und Säure- wie Alkaliwirkung gegenüber sehr labil. Sein Verhalten im alkalischen Bereich nach Formolfixierung und Fluorochromierung scheint die Annahme, daß es eine Fettkomponente enthält, zu bestätigen.

4. Auch zwischen den Zellen des Stratum Malpighii und Stratum corneum scheinen Fette vorhanden zu sein, da sie über pH 11 rötlichblau fluoreszieren.

5. Die Methode der Fluoreszenzmikroskopie läßt nicht nur histologische Details der Epidermis durch die Verschiedenheit der Fluoreszenzfarbtöne besonders deutlich hervortreten, sondern sie stellt auch einen viel feineren Indikator für die Bestimmung von pH -Werten dar als die Pufferfärbungen der gewöhnlichen Mikroskopie.

6. Sie gewährt manchmal auch die Möglichkeit, Schlüsse auf den chemischen Charakter von Substraten zu ziehen, die sonst mit anderen histologischen Methoden nicht faßbar sind.

Summary

Fixed and unfixed skin from the paw of guinea pigs was cut with the freezing microtome. The sections were examined for their qualities of autofluorescence and for fluorescence after treatment with fluorochromes.

The following results were obtained.

1. There is a decrease of fluorescence intensity near the point of dissociation of the stain. This decrease concerns all parts of the epidermis and is especially marked when pyronine is used. This seems to be due to a specific quality of the stain.

2. The various components of the epidermis show quite specific changes in intensity of fluorescence in correspondence with the various ranges of pH .

3. The elaidine of the stratum lucidum of the excretory ducts of the sweat glands, when submitted to an increase of temperature or to a treatment with acids and alkali, is shown to be a very labile substance. It seems to contain a lipid component. This opinion of various authors is corroborated by the changes the elaidine undergoes on the alkaline side of the pH after fixation with formaline and subsequent staining with fluorochromes.

4. Fatty components seem to be present also between the cells of the stratum Malpighii and of the stratum corneum because at pH 11 they show a reddish-blue fluorescence. Different lipids may be concerned.

5. Fluorescence microscopy shows the histological details of the epidermis very clearly by way of the various tones of colour.

6. In addition, fluorescence microscopy sometimes permits conclusions to be drawn on the chemical character of substances. This result cannot be obtained by other histological methods.

Literatur

Beidl W., *Mikroskopie* 4 (1949): 28. — Bommer S., *Derm. Wsch.* 82 (1926): 37. — Hoepke H., *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* III/1. Springer, Berlin 1927. — Merk L., *Wsch. med. Wsch.* (1902). — Patzelt V., *Z. mikroskop.-anat. Forsch.* 5 (1926): 371; ebd. 17 (1929): 253. — Derselbe und Pernkopf E., *Die Haut- und Geschlechtskrankheiten* 1. 1933. — Reichert C., *Fluoreszenzmikroskopie mit Fluorochromen*. Wien 1944. — Rabl H., *Arch. mikroskop. Anat.* 48 (1897): 430. — Schaffer J., *Lehrbuch der Histologie und Histogenese*. Engelmann, Leipzig 1922. — Derselbe, *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* II/1. Springer, Berlin 1927. — Schmidtmann M., *Z. ges. exp. Med.* 45 (1925). — Schumacher P. und Unna P. G., *Lebensvorgänge in der Haut des Menschen und der Tiere*. Deuticke, Leipzig-Wien 1925. — Sjöstrand F., *Acta anat. Suppl. ad* 1 (1944): 1. — Stockinger L., *Mikroskopie* 4 (1949): 53. — Strugger S., *Flora, neue Folge*, 35 (1941/42): 101. — Stübel H., *Pflügers Arch. ges. Phys.* 142 (1911): 1. — Unna P. G., *Histochemie der Haut*. Deuticke, Leipzig-Wien 1928. — Weidenreich F., *Arch. mikroskop. Anat.* 57 (1901): 583. — Zeiger K., *Z. mikroskop. Anat.* 23 (1936): 431; ebd. 24 (1936): 11. — Derselbe, *Physikochemische Grundlage der histologischen Methodik*. Steinkopf, Dresden-Leipzig 1938. — Derselbe, *Schr. Königsbg. Gelehrten Ges., Naturwiss. Kl.* 18 (1942): 31.

(Aus der chirurgischen Universitätsklinik Bologna. Direktor: Prof. G. G. Forni)

BEITRAG ZUM STUDIUM DER TUMORZELLEN IM ELEKTRONENMIKROSKOP

Von LUIGI PIACENTINI

Vortrag, gehalten bei der Zweiten Österreichischen Krebstagung in Graz
am 25. und 26. Mai 1950

Mit 5 Abbildungen

Das Elektronenmikroskop (E.-M.) gestattet mit seinen weit über denen der optischen Mikroskope liegenden Vergrößerungsmöglichkeiten und seiner hundertmal höheren Auflösungsfähigkeit die Durchführung genauer Untersuchungen biologischer Art und die Erreichung wahrhaft wertvoller Ergebnisse. Die Forschungen dieser Art werden immer intensiver, und die betreffenden Veröffentlichungen nehmen an Zahl dauernd zu, wenn sie auch bei dem augenblicklichen Stand der Methode noch nicht in jedem Fall endgültige Deutungen und Schlüsse zulassen.

Das E.-M., das sich auf von den gewöhnlichen optischen Vergrößerungsgeräten ganz verschiedene physikalische Prinzipien stützt, setzt auch in der Vorbereitung des zu prüfenden Materials eine vollkommen andere Technik voraus. Es setzt den Forschungsmöglichkeiten gewisse Grenzen, vor allem im Hinblick auf die Notwendigkeit, das für den Durchgang der Elektronen unerläßliche hohe Vakuum zu schaffen, die gebräuchlichen Objektträger auszuschließen und sich nicht der gewöhnlichen histologischen Schnitte zu bedienen, da nur Schnitte mit einer Stärke von Bruchteilen eines Mikrons, die nur mit Hilfe eines Ultramikrotoms erhalten werden können, elektronendurchlässig sind. Wenn man die neueren Arbeiten vor allem auf dem Gebiet der Mikrobiologie und der normalen und pathologischen Zytologie prüft, so kann man gerade das Bestreben der Forscher feststellen, eine bessere Vorbereitungstechnik zu finden, durch die man vermeiden will, daß die Fixierungs- und Montagemethode des zu prüfenden Materials in irgendeiner Weise verändert wird.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1950

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Boerner Dora

Artikel/Article: [Fluoreszenzmikroskopische Studien an der Haut. 235-242](#)