Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Gewebselemente auf färberischem Wege.

IV. An Kaninchenembryo.

Von

Masaji Seki und Yoshi Kohashi.

(Aus dem Anatomischen Institut der Medizinischen Fakultät
zu Okayama, Japan.)

In vorhergehender Arbeit (1940) haben wir an Hühnerembryo den isoelektrischen Punkt (pHi) des Cytoplasmas und Kerns verschiedener Zellarten auf färberischem Wege bestimmt, deren Strukturdichte und Lipoidgehalt nicht besonders gross ist. Dabei wurde das Mittel der pH-Werte, die der Mitte der Chromatokrise (d. h. des sprunghaften Färbungsabfalls) mit saurem Ponceau P. R. bzw. basischem Toluidinblau entsprachen, als der isoelektrische Punkt genommen. Wir führten weiterhin analoge Untersuchungen an Kaninchenembryo aus, auf das wir im folgenden eingehen werden.

Über den Stand des Brunstzyklus orientierte man sich durch die Veränderungen des Scheidenausstriches. Es wurde Embryo 6, 8, 10, 14, 18 und 30 Tage nach der Empfängnis mit oder ohne Fruchthüllen in 95%igem Alkohol bzw. 10%igem Formalin fixiert. Die zu untersuchenden Gewebsstücke wurden durch die Dekalin-Methylbenzoatmethode in Paraffin eingebettet, in genau 10 μ dicke Schnitte zerlegt und in Puffergemischen bestehend aus Phthalat und HCl bzw. NaOH mit Ponceau P. R. und Toluidinblau gefärbt. Die Färbestärke liess sich mit Hilfe einer Farbenskala bestimmen.

I. Resultate.

1. Keimblätter.

Die Messergebnisse über drei Keimblätter sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Daraus ergibt sich, dass das pHi des Cytoplasmas und des Kerns des äusseren, inneren und mittleren Keimblattes der Reihe nach immer etwas höher ist, und dass ihr Wert mit dem Alter zunimmt.

2. Fruchthüllen, Placenta und Uterusepithel.

Bei Durchsicht der Tabelle 2 erregen folgende Tatsachen unsere Aufmerksamkeit:

1. Die Epithelzellen des Dottersackes und der Allantois zeigen schon in den Frühstadien einen hohen pH-Wert. Die Dottersackepithelien gehören zu unseren amphoteren oder amphophilen Zellen und enthalten neben basophilen auch reichlich acidophile Plasmasubstanzen (1933), obzwar dies sich bloss aus dem pH-Wert nicht schliessen lässt (1937). Bei niederen Tieren ist übrigens der Dottersack seit den frühesten Stadien bekanntlich in voller Tätigkeit.

Tabelle 1. pHi der Keimblätter, nach Alkoholfixierung.

	Cytoplasma bzw. Kern	Alter		
		6 T.	8 T.	10 T.
Ektoderm	P. K.	4,2 3,5	4,5 3,6	4,7 3,7
Entoderm	P. K.	4,4 3,6	4,7 3,8	4,7 3,8
Mesoderm	P. K.		4,8 3,8	

Tabelle 2. pHi der Zellen der Fruchthüllen u. a., nach Alkohol- und Formalinfixierung.

	Cytoplasma bzw. Kern	Alkoholfixierung					Formalinfixierung		
		Alter					Alter		
		6 T.	8 T.	10 T.	14 T.	18 T.	10 T.	14 T.	18 T.
Amnion	P.	4,6	4,7	4,7	4,7		4,5	4,5	4,4
	K.	4,0	4,0	4,2	4,1		3,6	3,6	3,7
Chorion laeve	P.	4,5	4,6	4,7				4,4	4,5
	K.	4,1	4,0	4,0				3,7	3,6
Placenta, Langhans-Zellen	P.	4,5		4,4	4,3		4,3	4,3	4,4
	K.	3,9		4,1	4,2		3,9	3,6	3,9
Placenta, Syncytium	P.	4,6		4,6	4,9		4,5	4,5	4,6
	K.	3,7		3,6	3,8		3,3	3,4	3,5
Dottersack	P.	4,8	4,7	4,7	4,7	4,8	4,4	4,4	4,6
	K.	3,6	3,8	3,8	3,9	3,9	3,6	3,6	3,7
Allantois	P.	4,7	5,0	4,7	4,9		4,5	4,5	4,6
	K.	3,8	4,0	4,1	4,1		3,8	3,8	3,9
Uterus, Deckepithel 1 ¹⁾	P.	4,8	4,7	4,7	4,6	4,7	4,5	4,5	4,5
	K.	3,8	3,6	3,9	3,8	3,9	3,8	3,6	3,5
Uterus, Deckepithel 2 ²⁾	P.	4,4	4,2	4,4	4,4		4,2	4,3	4,3
	K.	3,5	3,5	3,8	3,6		3,5	3,4	3,6
Uterus, Drüsenepithel	P.	4,8		4,5					
	K.	3,8		3,7					

1) In der Nähe der Placenta.

2) In der entfernten Stelle von der Placenta.

2. Das Cytoplasma des ausgebildeten Syncytiums der Chorionzotten hat ein höheres pHi im Vergleich zu demjenigen der Langhans-Zellen. Das pHi seines Kerns ist dagegen kleiner. An der Schranke zwischen dem

Embryo und dem mütterlichen Gewebe hält das Syncytium ja unmittelbare Fühlung mit Nährstoffen und eventuell fremden giftigen Körpern und gehört auch zu den amphoteren Zellarten.

3. Das Deckepithel des Uterus ist in der Nähe der Placenta von einem grösseren pHi als in der davon entfernten Stelle.

3. Verschiedene Organe.

Zur Tabelle 3 ist Folgendes zu erwähnen :

1. Entsprechend den früheren Beobachtungen an Hühnerembryo (1940) erhöht sich das pHi der meisten Gewebsbestandteile kontinuierlich mit der Entwicklung. Die rascheste Erhöhung vollzieht sich bei den Linsenfasern,

Tabelle 3. pHi der Gewebs Elemente verschiedener Organe von Embryo, nach Alkohol- und Formalinfixierung.

		Alkoholfixierung			Formalinfixierung		
		Alter			Alter		
		14 T.	18 T.	30 T.	14 T.	18 T.	30 T.
Ösophagus, Epithel	P. K.		4,5 3,7	4,6 3,8	4,3 3,4	4,4 3,5	4,5 3,6
Ösophagus, Submucosa			4,8	5,0	4,5	4,6	4,7
Ösophagus, Muskulatur				4,6			4,7
Dünndarm, Epithel	P. K.	4,7 3,4	4,9 3,6	4,9 3,7	4,5 3,4	4,6 3,4	4,7 3,6
Dünndarm, Submucosa		4,9	4,9	5,0	4,4	4,5	4,7
Dünndarm, Muskulatur				4,8			4,6
Leberzellen	P. K.		4,5 3,6	4,6 3,9	4,4 3,3	4,4 3,4	4,5 3,6
Trachea, Knorpel			4,8	4,0		4,5	4,0
Lunge, Alveolarwand			4,6	4,7		4,4	4,5
Harnkanälchen	P. K.		4,6 3,6	4,8 3,7	4,3 3,3	4,4 3,5	4,6 3,6
Rückenmark, graue Subst.		5,1	4,8	4,8	4,7	4,6	4,5
Rückenmark, weisse Subst.		4,9	4,8	4,7	4,6	4,6	4,5
Linsenfasern	P. K.	4,8 3,7	5,2 3,8		4,4 3,3	5,0 3,6	
Unterhautbindegewebe		4,7	4,9	5,2	4,2	4,5	4,7
Aortenwand		4,4	4,5	4,6	4,1	4,2	4,3
Venenwand		4,6	4,7	4,8	4,2	4,4	4,6

indem das pHi vom 14. bis zum 18. Tage um 0,4 nach Alkohol- und um 0,6 nach Formalinfixierung steigt.

2. Am 30. Tage zeigen die Kollagenfasern, besonders diejenigen vom Unterhautgewebe, den grössten pHi-Wert. Daran schliessen sich die Darmepithelien, die Harnkanälchen und die glatte Muskulatur.

3. Das pHi der Knorpelgrundsubstanz der Trachea rückt mit der Entwicklung beträchtlich nach der stärker sauren Seite. Dasjenige der grauen und weissen Substanz des Rückenmarkes scheint sich auch ein wenig danach zu verschieben. Ob die letztere Verschiebung auf Vermehrung der nervösen oder gliösen Elemente oder aber auf Veränderungen ihrer chemischen und physikalischen Beschaffenheiten beruht, wollen wir vorläufig dahinstellen.

II. Zusammenfassung.

Die wichtigsten Ergebnisse lassen sich folgendermassen zusammenfassen :

1. Der isoelektrische pH-Wert der Zellen der Keimblätter von Kaninchenembryo ist : Mesoderm > Entoderm > Ektoderm.

2. Die Epithelzellen des Dottersackes und der Allantois sowie das Syncytium der Chorionzotten haben einen verhältnismässig hohen pHi-Wert.

3. Bei der hyalinen Knorpelgrundsubstanz rückt das pHi im Gegenteil zu den meisten Gewebsbestandteilen mit der Entwicklung nach der stärker sauren Seite. Dies ist, wenn auch in viel geringerem Masse, der Fall sowohl bei der grauen, als auch bei der weissen Substanz des Rückenmarkes.

Literaturverzeichnis.

Seki, M.: Zur Kenntnis der intra- und supravitalen Färbung. I. Färberischer Beweis für die Reichlichkeit von basischen Substanzen in den Histiocyten und Retikuloendothelien. Z. Zellforsch. 19 (1933).

———: Contribution à l'étude des colorations intra- et supravitales. X. Signification de la colorabilité des histiocytes et des réticuloendothéliums. Bull Histol. appl. 14 (1937).

Seki, M. u. K. Chin: Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Gewebelemente auf färberischem Wege. III. An Embryo von Huhn. Okajimas Fol. anat. jap. 19 (1940).