

Aus der Medizinischen Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. med. K. THOMAS)

Zur Histochemie des Zinks*

Von

F. TIMM

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. August 1957)

Auf unserer letzten Tagung habe ich über das Sulfid-Silberverfahren berichtet, gezeigt, daß es möglich ist, die normalen und ungehörigen Ablagerungen von Schwermetallen im Gewebe durch physikalische Entwicklung sichtbar zu machen, und angeführt, daß es im Gewebe chemisch wohldefinierte argyrophile Metallkomplexe gibt, z. B. den Zink-Insulinkomplex in den Inselzellen des Menschen und vieler Tiere, der bei Wiederkäuern nicht im gleichen Maße vorhanden ist⁷.

Die Gesamtmenge Zink im menschlichen Körper wird auf 1,5—4,5 g geschätzt. Sie ist damit ebenso hoch oder gar höher als die des im Körper außerhalb des Blutes vorhandenen Eisens. Der Eisengehalt blutfrei gewaschener Organe beträgt 2,5—5 mg je 100 g Frischgewebe, der Zinkgehalt 3—5 mg³. Demgegenüber sind die anderen Spurenelemente Kupfer, Mangan, Kobalt, Molybdän usw. in erheblich kleineren Mengen im Körper vorhanden, die Gesamtmenge Kupfer im menschlichen Körper liegt bei 150—300 mg¹.

Toxikologisch hat Zink eine gewisse Bedeutung und kann auf Tiere giftig wirken, wenn sie aus verzinkten Gefäßen getränkt werden, wie auch vor der Verwendung von verzinktem Geschirr im Haushalt gewarnt wird. Allgemeineres Interesse hat Zink erst gewonnen, als bekannt wurde, daß es offenbar der integrierende Bestandteil vieler biologisch wichtiger Substanzen ist.

Zink kommt im Körper nur zu einem kleinen Teil als Zinksalz, überwiegend komplex an Proteine, Aminosäuren, Stoffwechselprodukte und ähnliche organische Substanzen gebunden und in manchen Organen und Geweben erheblich angereichert vor.

Systematische Untersuchungen über die Verteilung des Zinks im menschlichen und tierischen Körper fehlen noch. Wir sind mit solchen Untersuchungen im Rahmen der Feststellung der Verteilung der Spurenelemente und des Verbleibs der Schwermetalle im Körper beschäftigt

* Vorgetragen auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin Juni 1957 in Heidelberg.

und haben auf die Schnittveraschung⁵ zurückgegriffen, um einen schnellen Überblick über die Schwermetallverteilung im Gewebe zu erhalten und rasch die Wirksamkeit bestimmter Reaktionen erkennen zu können.

Für die Gewinnung eines Schwermetallaschenbildes ist die Fixierung des Gewebestücks in H₂S-Alkohol empfehlenswert. Dadurch werden die Schwermetalle als Sulfide im Gewebe festgelegt, zugleich wird ein Teil der leichter löslichen Alkali- und Erdalkalisalze aus dem Gewebe entfernt, die sonst leicht, wie bei der Veraschung nativer Gefrierschnitte, zu störenden und umlagernden Schmelzen führen können. Fixierung in Alkohol und noch mehr Fixierung in Formol, bei der es überdies zu einer Säuerung des Gewebes kommt, können Zinkverbindungen herauslösen oder umlagern, saure Fixierungsgemische sind völlig ungeeignet.

Auch im weiteren Verlauf der Anfertigung des Präparates können Zinkverluste eintreten. Zinksulfid ist oxydabel. Strecken und Aufziehen des Schnittes mit Wasser gehen mit Zinkverlusten einher. Paraffin-Schnitte sind daher trocken oder aus Xylol u. ä. aufzuziehen oder auf Paraffinöl zu strecken.

Die Veraschung der Schnitte wird in üblicher Weise im Elektroofen bei 520° vorgenommen und soll nicht über die zur Veraschung notwendige Zeit ausgedehnt werden (40—60 min bei 520°), da Zink bei dieser Temperatur bereits etwas flüchtig ist. Während der Veraschung werden die Sulfide in Sulfate und diese z. T. in Oxyde umgewandelt, Eisen erscheint in der Asche als Eisen-III-oxyd und färbt sie leicht gelblich an. Seine Eigenfarbe läßt es leicht in dem Aschenbild erkennen, es ist darüber hinaus als Rhodanid und Berliner Blau in der Asche dargestellt worden. Was sonst im Schrifttum über den Nachweis von Schwermetallen berichtet wird, ist spärlich⁵. Wie aus der mikrochemischen Analytik bekannt ist, geben aber zahlreiche Schwermetalle mit bestimmten organischen Verbindungen schwerlösliche, tieffarbige, charakteristische Komplexe, Zink z. B. mit Dithizon purpurrotes Zinkdithizonat⁴.

Wir haben bereits früher Magnesiumdithizonat-Lösung zur Identifizierung von Schwermetallablagerungen im Gewebe mit Erfolg benutzt, so der Bleiablagerungen in der Niere und in Hartgeweben, des Zinks in der Prostata und den Langerhansschen Inseln. Es hat sich gezeigt, daß es möglich ist, Schwermetalle als Dithizonate auch im Aschenbild nachzuweisen. Hierfür sind nach unseren Erfahrungen Lösungen von Magnesiumdithizonat, wie sie erhalten werden können durch Auflösen von Dithizon in einer Aufschwemmung von Magnesiumoxyd oder -hydroxyd oder in Magnesiumacetat, besser geeignet als Natrium- bzw. Lithiumdithizonat-Lösung, in denen die sonst recht fest haftenden Aschen sich leicht von der Unterlage ablösen.

In wenigen Minuten färben sich die Aschen entsprechend ihrem Schwermetallgehalt in Magnesiumdithizonatlösung an, und können dann nach Abspülen des überschüssigen Reagens in Glycerin oder Gummirup⁶ montiert werden. Hier halten sie sich gut, in Glycerin weniger.

Wie voranstehend angeführt worden ist, kommt der Zinkgehalt der Gewebe mindestens dem an Eisen gleich. Darüber hinaus findet sich Zink aber in bestimmten Geweben und Gewebsabschnitten erheblich angereichert. Alle anderen Spurenelemente treten mengenmäßig gegenüber Zink erheblich zurück. Die Bauchspeicheldrüse besitzt verhältnismäßig spärlich Eisen, es liegt um 10—15 γ/g Frischgewebe gegenüber einem Zinkgehalt zwischen 30 und 50 γ^2 . Dementsprechend färbt sich

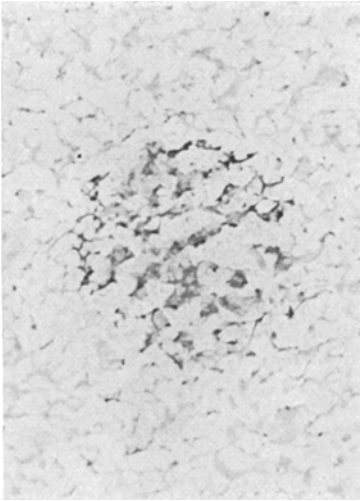


Abb. 1. Dithizon-Aschenbild. Pankreas, Mensch

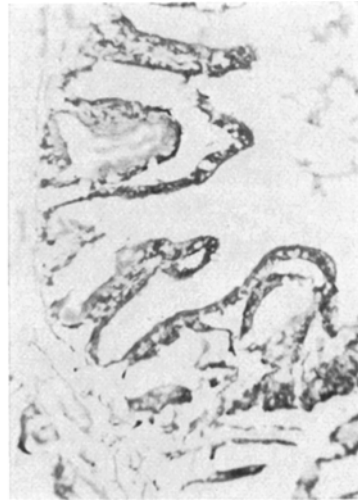


Abb. 2. Dithizon-Aschenbild. Prostata, Hund

das Spodogramm der Bauchspeicheldrüse lebhaft rot an, vor allem erweisen sich die Kernaschen als tiefrot, insbesondere auch die der Bindegewebskerne, so daß das rote Schwermetall-(= Zink)aschenbild ähnlich einer Carminfärbung den Bau des Gewebes wiedergibt. In dieser Aschenstruktur des exokrinen Gewebes sind dichte rote Bezirke vorhanden, die den zinkreichen Inseln entsprechen, die beim Menschen und zahlreichen Tieren vorhanden sind (Abb. 1). Im Aschenbild der Prostata, die zu den zinkreichsten Organen gehört und bis 350 γ/g Frischgewebe enthält, findet sich das Zink in den Epithelzellen angereichert, deren Asche als dichter dunkelroter Saum die Drüsenlichtungen begrenzt, während für Muskulatur und Bindegewebe dasselbe gilt, was bereits für das exokrine Gewebe der Bauchspeicheldrüse ausgeführt worden ist (Abb. 2).

Als weiteres Beispiel sei noch das Schwermetallaschenbild eines experimentellen peritonealen Silikoseknötchens bei der Maus angeführt. Mit Magnesiumdithizonatlösung färbt sich die Asche des Knötchens

rot an, besonders kräftig rot wiederum die Asche der in der Peripherie des Knötchens liegenden Bindegewebszellen. Nach diesem Befund kann auf einen erhöhten Zinkgehalt des Knötchens geschlossen werden, ob er auf zugrunde gegangene eosinophile Zellen zurückzuführen ist oder in anderen Vorgängen beruht, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

In der Gewebsasche sind außer Eisen und Zink gewöhnlich noch andere Spurenelemente vorhanden, wenn auch ihnen gegenüber in erheblich kleinerer Menge.

Auf die Erkennbarkeit des Eisens in der Gewebsasche durch die Eigenfarbe des Eisen-III-oxyds ist bereits hingewiesen worden. Die gelbe Farbe der Asche kann aber durch die rote Farbe des Zinkdithizonats verdeckt werden. Bei längerer Einwirkung von Dithizonatlösungen kann Eisen-III-oxyd auch zu zweiwertigem Eisen reduziert werden, das dann mit Dithizon reagiert. Versuche, Zink gegenüber den anderen Spurenelementen oder neben ihnen nachzuweisen, sind im Gange, ebenso solche, das störende Eisen unter Schonung des Zinks aus dem Gewebe mit Phenanthrolin und ähnlichen Komplex-Bildnern herauszulösen.

Die Beispiele lassen erkennen, daß aus Schwermetallaschenbildern ein rascher Überblick über die Verteilung von Schwermetallen im Gewebe gewonnen werden kann, wie am Beispiel des nächst Eisen häufigsten Schwermetalls im Gewebe, am Zink, zu zeigen versucht worden ist.

Literatur

¹ FLASCHENTRÄGER, B.: Physiologische Chemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951. — HOLTZ, F., u. B. FLASCHENTRÄGER: Mineralstoffe-Zink, Bd. I, S. 226. — ² SCHÜTTE, E.: Mineralstoffwechsel-Zinkstoffwechsel, ebenda Bd. II, I a, S. 674. — ³ Zink Syst. Nr. 32, Erg.-Bd. GMELEINS Handbuch der anorganischen Chemie. Zink in Mensch und Tier, S. 66—76. Weinheim: Verlag Chemie 1956. — ⁴ Nachweis und Bestimmung, ebenda S. 727. — ⁵ HINTZSCHE, E.: Das Aschenbild tierischer Gewebe und Organe. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — ⁶ ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — ⁷ TIMM, F.: Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfid-Silberverfahren. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **46**, 706 (1958).

Prof. Dr. Dr. FRIEDRICH TIMM,
Medizinische Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft,
Göttingen, Bunsenstr. 10