

Rückblicke auf Theorie und Praxis der farbigen Konservierung.

Von

Prof. Dr. Carl Kaiserling,
Königsberg i. Pr.

(Eingegangen am 6. Januar 1922.)

Es sind nunmehr 25 Jahre verflossen, seit die Verfahren zur Konservierung anatomischer Präparate mit Erhaltung der natürlichen Farben bekannt gegeben wurden. Von diesen sind erhalten geblieben die von Jores und Kaiserling angegebenen. Bis heute haben sich meine ersten Präparate in nicht merklicher Weise verändert, ihr Blutrot, ihre Transparenz und Eigenfarbe und nach einigen Stichproben auch ihre histologische Struktur sind gut erhalten, so daß zu erwarten ist, daß sie auch noch länger dauern werden. Wesentliche Verbesserungen der Methoden sind mir nicht bekannt geworden, nur eine starke Verwässerung der ersten Formalinsalzlösung und die Empfehlung des essigsauren Natriums statt des teureren essigsauren Kaliums durch L. Pick. Eine von Jores empfohlene Abänderung der ersten Lösung mit Chloralhyrat und Weglassung der Alkoholnachbehandlung hat sich nicht bewährt und konnte es nicht, da sie den Kernpunkt der ganzen Methode, die zweckmäßige Umwandlung des Blutfarbstoffes, ausschaltete.

Über die theoretischen Grundlagen des Verfahrens hatte ich seinerzeit Mitteilung gemacht und u. a. kurz beschrieben, welche Veränderungen das Blut durch Formalingemische und Alkoholnachbehandlung erfährt, soweit das Spektroskop Aufklärung geben konnte. Schon 1897 hatte ich erkannt, daß mit dem Blutfarbstoff etwas Besonderes vorging, dessen Aufklärung mir mit meinen Hilfsmitteln nicht möglich war. Darauf hatte ich nur die spektroskopischen Erscheinungen kurz beschrieben, aber die Blutfarbstoffe nicht benannt. Später hat Puppe die dem gerichtlichen Mediziner gewohnte spektroskopische Untersuchung aufgenommen und geglaubt, daß durch Formalin saures Hämatin und durch die Alkoholnachbehandlung alkalisches Hämatin aus dem Hämoglobin (Hb.) entstünde, nachdem schon ein Jahr vorher Benedicenti die gleiche Anschauung vertreten hatte. Ihnen schloß sich Ziemke an, der aber bei Verwendung von Pick'scher Lösung 1 Methb. erhielt. Erst das Jahr 1905 brachte einen Fortschritt, indem Taka yama die Umbildung des Hb. durch Formalin in Methb. und dessen Umbildung durch Alkohol in Kathämoglobin an Tierblut feststellte. Da die Arbeit unter dem

Titel: „Beiträge zur Toxikologie und gerichtlichen Medizin“ erschien, blieb sie anscheinend in weiten Kreisen unbekannt, und auch ich lernte sie erst während des Krieges durch die Güte meines pharmakologischen Freundes Fühner kennen. Nun erst sah ich ein Ergebnis, dem ich mich nach meinen Erfahrungen anschließen konnte. Zwar wird sich die Frage, die viel verschränkter ist, als sie anfangs aussieht, erst dann erschöpfend lösen lassen, wenn neben der rein okularen Spektroskopie auch die Spektrophotographie des Ultravioletts und die genaue chemische Analyse zur Durcharbeitung herangezogen werden, aber es ist heute noch viel unwahrscheinlicher als früher, wo die finanzielle Engherzigkeit durch die finanzielle Zerrüttung ersetzt ist, daß ich meine vorhandene spektroskopische Apparatur durch die Quarzoptik ergänzen kann und hierorts sich ein mitarbeitender physiologischer Chemiker findet. Ich möchte aber das 25jährige Jubiläum der Methode nicht vorüber gehen lassen, ohne noch einmal auf ihre Theorie, soweit sie für die praktische Handhabung des Verfahrens von Bedeutung ist, nach dem Stande des jetzt Erreichbaren zurückzukommen. Es ist eine immer wieder zu machende Erfahrung, daß Methoden, die einigen Erfolg versprechen, gerne angewendet, aber als eine subalterne Technik gewertet werden, während ihre Aus- und Durcharbeitung mehr wissenschaftliche Kenntnisse erfordern als andere Arbeiten fachüblichen Inhaltes. Ich war gelegentlich einer zusammenfassenden Darstellung der Konservierungstechnik veranlaßt, die alten Versuchsergebnisse wieder hervorzusuchen, und durch neue zu ergänzen. Dabei hatte ich das Glück, in der Medizinalpraktikantin Elisabeth Söcknick eine ebenso verständige wie fleißige Mitarbeiterin zu finden und so der Sache abzugewinnen, was mit meinen bescheidenen und den noch dürftigeren Hilfsmitteln meines Institutes erreichbar war.

Bei der Untersuchung der Blutfarbstoffe gingen wir aus vom filtrierten, normalen Leichenblute aus dem Herzen. Sein Farbstoffgehalt wurde gleich 100 gesetzt, wobei in keiner Weise an einen chemisch oder calorimetrisch festgestellten Gehalt gedacht ist. Als Spektroskope dienten uns zwei Handspektroskope von Schmidt und Hänsch, eines mit Vergleichsprisma und eines mit Wellenlängenskala, das meinem damaligen Assistenten Dr. Christeller zu eigen war und mein Mikrospektroskop von Carl Zeiß. Gearbeitet wurde bei gutem Wetter bei zerstreutem Tageslichte, sonst bei Gasglühlicht. Dies empfiehlt sich um so mehr, als bei dunstiger, feuchter Luft bei 635 ein Streifen im Tageslichte auftritt, der mit Blutabsorptionen zusammenfällt. Die Lösungen wurden in Reagensgläsern von 1,5 cm Durchmesser untersucht, die durch ihre Linsenwirkung eine sehr helle Spaltbeleuchtung erzeugen. Selbstverständlich waren die Instrumente stets peinlich genau fokussiert und nach der Natriumlinie justiert. Das Formalin war 40% von Schering, das ich stets bei der Konservierung benutze.

Es wurde nun zunächst geprüft, wie reines Formalin auf Blutfarbstofflösung wirkt. Als solche wurde eine 2 proz. gewählt mit deutlichem Oxyhb.-Spektrum (Streifen: 589—573, 556—530, Endabsorption von 470 an) und tropfenweise reines Formalin zugesetzt. Die Streifen werden, wie es schon Benedicenti beschreibt, blässer, schmäler, die Lösung trübe, und nach 1 Stunde ist kein Streifen mehr zu sehen. E. Söcknick fand aber bei Zusatz von 20—30 Tropfen Formalin einen linienartigen Streifen im Rot bei 640 (Gaslicht), nach 24 Stunden aber auch dann keinen Streifen mehr, der Farbstoff war braunflockig ausgefallen. Die Bedeutung des Absorptionsstreifens ist noch nicht genügend aufgeklärt. Nun wurden 4 proz. Blutlösungen mit gleichen Mengen Formalin (F) in abnehmender Konzentration auf 2% Farbstoffgehalt verdünnt. Nach einer Stunde ergibt: F 40% im Rot einen schwachen Streifen bei 640 bis 630, im Grün nichts, Endabsorption bei 450, Farbe der Lösung braun; F 20% und 15% im Rot wie vorher, Grün 580—570, 550—530, Ende bei 450, Farbe rötlichbraun; F 10% Rot feine Linie bei 640, Grün 589—574, 555—530, Ende 470, F 5—1% im Rot nichts, sonst wie bei F 10%. Diese Streifen von 10—1% sind aber die Oxyhb.-Streifen, die Wirkung ist also noch zu gering. Nach dreimal 24 Stunden waren die Lösungen alle klar, nur in der 15 proz. schwammen einige Flocken, die Farbe hellbraun, spektroskopisch war nur der Rotstreifen erkennbar. Bei stärkeren Ausgangslösungen bekamen wir um so stärkere Niederschläge, je konzentrierter sie waren, während andere Untersucher braune Lösungen beschreiben. Auch früher habe ich gelegentlich und ausnahmsweise klare Lösungen mit den Streifen des Methb. erhalten und dabei notiert: systematisch Zeit, Konzentration, Alter des Blutes und Zusatzart prüfen. Das steht noch aus, aber in diesen Momenten stecken wahrscheinlich die mancherlei Unstimmigkeiten, die bei den verschiedenen Untersuchern und zu verschiedenen Zeiten bei dem gleichen Arbeiter auftreten. Dazu kommt, daß vermutlich der Niederschlag den Farbstoff mitreißt, und man müßte Versuche machen die vermutlich eiweißartigen Niederschläge zu vermeiden, um gute spektroskopische Reaktionen zu erhalten. In frischem Blute tritt in der Regel ein Niederschlag auf. Vermischt man unverdünntes Blut mit der gleichen Menge von Formalin in verschiedener Konzentration, so ergab sich — je 5 ccm — bei F 40% nach 2 Minuten, bei 20% nach 15, bei 15% nach 30, bei 10% nach 45, bei 5% nach 1—3 mal 24 Stunden eine starre Gallerte, bei 1% blieb das Blut flüssig. Die Farbe wurde bei F 40% sogleich dunkelbraun, nach 10 Min. mißfarben graubraun. Bei den anderen Versuchen ging die Farbenveränderung langsamer, aber ebenso vor sich, und auch das flüssig gebliebene Blut war nach 4 Tagen grau. Um diese Galleren zu spektroskopieren, wurden kleine Teile zwischen Objektträger und Deckglas in eine hinreichend dünne Schicht ausgebreitet, nur muß man schnell

arbeiten, denn bei F 40% verläuft die Reaktion in 2—3 Min. Das blaue Ende hellt sich, während noch die Farbe rötlich ist, auf, es tritt ein Streifen bei 515—485 auf, dann verschmälern sich die Grünstreifen, der Blaustreifen verschwindet, indem die Farbe in Grau umschlägt, der Rotstreifen tritt auf, und nach völlig ausgebildeter Graufärbung ist in der Regel auch der Rotstreifen verschwunden. Am schönsten studiert man diesen Umwandlungsvorgang, indem man einen dicken, gut zusammenhängenden Blutausstrich auf einem Objektträger antrocknet. Dieser gibt das Oxyhb.-Spektrum. Nun bringt man das Präparat in 10 proz. Formalin und untersucht alle 2—3 Minuten nach flüchtigem Abtrocknen. Zunächst geht die Endabsorption von 470 auf 425 zurück, bei 515—485 tritt im Blau ein Streifen auf, dann ändern sich die Oxyhb.-Bänder von 589—574 auf 585—570 und 555—530 auf 552—530. Nun erscheint eine feine Linie im Rot bei 640, die nach einer halben Stunde breit und kräftig von 640—625 reicht. Die Endabsorption beginnt jetzt schon bei 515, so daß der Blaustreifen darin liegt und nur noch drei Streifen vorhanden sind. Es ist interessant festzustellen, daß bei anderer Dicke immer leichte Verschiebungen in den Absorptionen festzustellen sind. So haben wir bei Gefrierschnitten eines 24 Stunden in 10% Formalin fixiertem Cruorgerinnsels von 40 μ Dicke ein vierstreifiges Spektrum gefunden: 640, 580 bis 575, 550—530, 510—490. Nach dreimal 24 Stunden Fixationsdauer sieht man nur den Rotstreifen von 645—630, das andere ist gleichmäßig verdunkelt und nach 4 Wochen war bei Tageslicht auch der Rotstreifen undeutlich, doch ließen sich bei intensiver künstlicher Beleuchtung noch die drei ersten Streifen und eine Endabsorption bei 500 feststellen. Ein gleiches Ergebnis brachte die Untersuchung einer dunkelroten Milz. Man kann übrigens diese Spektren auch sehr bequem so studieren, daß man ein objektives Spektrum in der Objektebene erzeugt, wie es z. B. sehr schön mit dem Spektropolarisator unter Verwendung einer kleinen Bogenlampe möglich ist.

Dieses vierstreifige Spektrum des Formalinblutes halten wir für das des Methämoglobins. Wird nun dieses Blut mit Alkohol versetzt, entsteht ein flockiger, lebhaft roter Niederschlag, fixierte Gerinnsel oder Organe werden in wenigen Minuten lebhaft rot und geben eine zweistreifige Absorption in Spektrum von 575—555 und 545—520 und Endabsorption bei 500. Läßt man den Alkohol länger, bis 24 Stunden wirken, tritt noch eine schwache Absorption vor dem ersten Streifen bei 585, in dickeren Schichten bei 590 auf und ein Schatten zwischen den Hauptstreifen. Dieses zweistreifige Spektrum, das ich schon seit meinen ersten Untersuchungen kenne, aber damals nicht recht zu deuten vermochte und daher auch nicht benannte, ist fast genau entsprechend dem von Arnold 1899 als neutrales Hämatin beschriebenen Blutfarbstoffe (576—556, 546—516). Denselben Farbstoff untersuchte van

Klaveren, der ihn im Eiweißgehalt gleich dem Oxyhämoglobin, im Eisengehalte aber von 0,322% auf 0,264% vermindert fand und ihm wegen des vermuteten Abbaues des Hb. den Namen Kathämoglobin gab. Diesen Namen behielt Takayama bei und wir folgen ihm darin, da für die Farbenkonservierung jedenfalls die Farbe nach Abbau aussieht, so erfreulich sie auch ohne direkten Vergleich mit frischen Präparaten ist. Auch das von Nencki und Sieber beschriebene Parhämoglobin ist nach Takayama mit dem Kathämoglobin gleich. Wir haben das Kathämoglobin, nach den Angaben dieses Forschers über Methämoglobin, erhalten durch Zusatz eines kleinen Krystals von Ferricyankalium zu seiner 2 proz. Lösung von Oxyhämoglobin aus menschlichem Blute, durch Beigabe des gleichen Volumens 96 proz. Alkohols hergestellt und das beschriebene Spektrum ebenfalls erhalten. Die geringen Abweichungen gegen Takayama (574—557, 544—521) und Arnold (575—556, 546—516) dürften mit leichten Verschiedenheiten der Konzentration und der subjektiven Auffassung des ja nicht scharfen Absorptionsbeginnes zu erklären sein. Wir sehen in der Darstellung dieses Kathämoglobins aus dem Formalinblute den sichersten Anhalt, daß dieser Farbstoff Methämoglobin ist und nicht, wie Puppe u. a. annehmen, saures Hämatin, dessen Absorptionen Ziemke und Müller bei 644—634, 586—574, 552—537, 518—489 angeben. Da die anderweit angegebenen Streifen merklich voneinander abweichen, stellten wir uns saures Hämatin her, indem wir zu 50 cem 4 proz. Blutlösung 5 cem 10 proz. Essigsäure gaben, und erhielten in Reagensglasdicke ein noch anderes Spektrum: 658—632, 595—580, 565—540, bei 470 Endabsorption, das erste Band kräftig, das zweite schwach, das dritte mittelstark. So schien uns die Unterscheidung durch das Spektroskop vorläufig noch zu unsicher. Ebenso zweifelhaft erwies sich die Bildung von Hämochromogen durch Reduktion aus dem Formalinblut. Die systematischen Untersuchungen E. Söcknicks zeigten, wie sie in ihrer Dissertation u. a. a. O. darlegt, daß die Herstellung von Hämochromogen ganz von der Wirkungsstärke der Reduktionsmittel abhängig und somit keine eindeutige Reaktion ist. Kurzdauernde Einwirkung des Reduktionsmittels ergaben reduziertes Hb., starke Hämochromogen. Versucht wurden verschiedene Sorten Schwefelammonium, Stokesches Reagens und Hydrazinhydrat. Ganz besonders lehrreich waren die Versuche mit Blutgerinnseln, die 2 Tage in Formalin fixiert waren. Der Rand war in 2 mm Dicke braun, das Zentrum nur rotbraun. Reduziert mit Schwefelammonium ergab der Rand Hämochromogen, die Mitte reduziertes Hb. Stokesches Reagens wirkt schwächer und gibt oft nur reduziertes Hb., wo Schwefelammonium schon Hämochromogen erzeugt. Als aber ganz frisches Ammoniak zur Herstellung des Stokeschen Reagens verwendet wurde, ergab es ebenfalls Hämochromogen auch an dem gleichen Objekte, das bei

Verwendung eines mit älterem Ammoniak hergestellten Reagens nur red. Hb. lieferte. Das energische Hydrazinhydrat erzeugt sogar bis zur Verdünnung auf 20% selbst aus Oxyhämoglobin direkt Hämochromogen. Es scheint daher die Reduktion des Formalinblutes ungeeignet, um zu entscheiden, welches der Ausgangsstoff ist. Und gerade auf dieser Reduktion beruht vorwiegend die Entscheidung bei den forensischen Autoren.

Aber Blut ist ein besonderer Saft, das beweist auch die Behandlung mit Formalin. Wie schon eben gesagt wird: eine schmale Randzone in Blutgerinnseln und blutreichen Organen durch Formalinbehandlung braun. Bei Behandlung mit Alkohol bleibt dieser Rand braun und gibt dauernd das Methb.-Spektrum, während in der Mitte Kathämoglobin auftritt. Je länger nun die Stücke in Formalin bleiben, um so mehr wandelt sich unter vorläufigem Bestehenbleiben der Randzone auch die Mitte in dauerhaftes Methämoglobin um, das durch Alkohol nicht mehr völlig in Kathämoglobin überführbar ist und daher auch keine leuchtende Rötung mehr gibt, sondern braunrot bleibt. Nach 3—4 Wochen ist das Präparat durch und durch gleichmäßig geworden und für die Farbenwiederherstellung ganz verloren. Daher habe ich seinerzeit schon dringend empfohlen, nie länger als irgend nötig zu fixieren, die Oberfläche nachher möglichst abzutragen oder durch eine mit Blut untermischt Gelatineschicht zu schützen. Es gibt jedenfalls leicht, schlecht und gar nicht mehr umwandelbares Methämoglobin, Modifikationen oder Bindungen, denen mit der Spektroskopie nicht beizukommen ist. Sie sind die Ursache vieler infolge mangelhafter Beaufsichtigung verdorbener oder unschöner Präparate, sie sind auch die Ursache, daß mit reinem Formalin fixierte Organe nachträglich nicht mehr durch Alkohol farbig gemacht werden können. Auch die Formalinsorten sind verschieden, gebrauchte und frische Lösungen wirken verschieden stark. Läßt man den Alkohol zu lange wirken, schwindet die Farbe um so schneller, je weniger Blut in den Organen ist, das Kathämoglobinspektrum wird durch einen Schatten zwischen den Streifen verwaschen und schließlich ganz undeutlich. Sehr trübe Erfahrungen habe ich durch die Verwendung von Brennspiritus gemacht. Hat man durch Abtragen der äußersten Schichten das Präparat angefrischt oder neue Schnitte hindurchgelegt, so müssen diese Teile nochmals in Alkohol kommen, um eine gute Kathämoglobinbildung zu erreichen.

Was sollen nun die 2—5 proz. Salzzusätze zur ersten Formalinlösung wie Kochsalz, Magnesiumsulfat, Natriumsulfat (Jores), Kalium acetic. und nitric. (Kaiserling), künstliches Karlsbadersalz (Pick)? Systematische Zusätze dieser Salze zu 1% Blutlösung ergeben die Bildung von Gemischen von reduziertem Hb., Methämoglobin und Oxyhämoglobin. Nur Kalium nitricum bildet schon nach 24 Stunden stark Methämoglo-

bin, die anderen erst in längerer Zeit von 4—7 Tagen. Das reduzierte Hb. entsteht lediglich durch langes Stehen. Diese Verbindungen sind alle sehr labil, da man meist nach kräftigem Schütteln wieder Oxyhämoglobin enthält. Chloralhydrat 10% (Jores) reduziert nicht, sondern konserviert das Oxyhämoglobin. Es wird daher zweckmäßig, wie das Heller vor langen Jahren schon tat, zum Abspülen und Frischerhalten der bei der Sektion erhaltenen Organe verwendet. Eine Beschleunigung der erwünschten Methämoglobinbildung führt nur das Kal. nitric. herbei, so daß dieses Salz sehr wesentlich ist.

Von den Salzformalinlösungen der verschiedenen Autoren wirkt am schnellsten die Kaiserlingsche. An Blutgerinneln geprüft bewirkt sie in 24 Stunden, was die anderen erst in 2—4 Tagen erreichen, die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin. Bei der Umwandlung des mit Formalinsalzgemischen gewonnenen Methämoglobins in Kathämoglobin ergibt sich beim Vergleiche mit dem durch reines Formalin gewonnenen, daß das erstere viel lebhafter rot als das mehr nach Braun hin neigende zweite.

Eine weitere Wirkung des Salzzusatzes zur ersten Lösung ist eine wesentliche Verzögerung der Härtung der Organe. Blutgerinnsel waren für das Gefriermikrotom gut schnittfähig: in 20% Formalin nach 2 Tagen, in Kaiserling I nach 7 Tagen, in 10% Formalin nach 4, in Jores I nach 20, in 5% Formalin nach 8, in Pick I (5%) überhaupt nicht. Wer also lockere blutreiche Organe wie Lunge, Milz u. dgl. mit dem Gefriermikrotom sicher schneiden will, möge sich an die 20 proz. Formalinlösung und mindestens 2tägige Fixationsdauer halten. Schwächere Lösungen sind, wie das nach und nach anerkannt wird, weniger geeignet als Härtungs- und auch Fixierungsmittel. Auch bei den Formalinsalzlösungen tritt der schmale braune Rand auf, der bei Alkoholnachbehandlung weniger schön rot wird als wie die darunter gelegenen Teile. Jedenfalls verzögern die Salzzusätze die Härtung und Blutfarbstoffumwandlung und ermöglichen so eine tiefer reichende histologische Fixierung und eine längere Erhaltung des umwandlungsfähigen Zustandes des Blutfarbstoffes. Sie sind also ganz abgesehen von ihren physikalisch-chemischen Wirkungen durchaus wesentlich.

Schließlich sei noch bemerkt, daß die 20 proz. reine Formalinlösung auch die geringste Hämolyse bewirkt. Lösungen unter 15% wirken zunehmend stärker hämolytisch, über 20% wird die Umwandlung des Methämoglobins in Kathämoglobin stark beeinträchtigt, so daß 20% die beste Verdünnung ist. Ebenso ist von den Salzformalinlösungen die Kaiserlingsche die am wenigsten blutlösende. Der von Jores bei seiner später fallengelassenen Ersatzmethode empfohlene Zusatz von 10% Chloralhydrat verhindert die Hämolyse ganz bedeutend, leider aber auch, wie gesagt, die Methämoglobinbildung. Vielleicht läßt sich —

Versuche sind im Gange — durch stärkere Verwendung von Methämoglobinbildnern in Verbindung mit Chloralhydrat namentlich für zarte und blutarme Organe die erste Fixierlösung noch verbessern. Mancherlei andere Versuche haben in der Zwischenzeit nichts Brauchbareres ergeben, als es die alten Methoden taten.

Die Aufbewahrungslösigkeit aus Glycerin, Kal. bzw. Natr. acetic. und Wasser verändert die Kathämoglobinfarbe und sein Spektrum nicht mehr merklich und erhält sie, soweit ich hier nachprüfen konnte, mindesten 10 Jahre. Leider kann ich meine 25jährigen Präparate jetzt nicht nachprüfen, aber ich bin überzeugt, daß sie ebenso wie ihre Blutfarbe auch ihre sonstigen Qualitäten erhalten haben, einschließlich der histologischen Brauchbarkeit. Über Glycerinersatz konnte ich keine Erfahrungen sammeln, da meine Bemühungen darum dauernd vergeblich waren.

So läßt sich zusammenfassend sagen, daß die Methoden der farbigen Konservierung sich dauernd bewährt haben und besonders die von mir auf Grund alter systematischer Versuche und der Kontrolle durch das Spektroskop, jetzt nach 25 Jahren nachgeprüft, bestätigt und teilweise ergänzt, empfohlene Kombination sich als die verhältnismäßig günstigste auch in der Praxis bewährt hat. So möge sie denn, bis etwas Besseres sie überflüssig macht, auch den Instituten, denen sie heute noch unbekannt ist, weiter Vorteile für die Sammlungen und den Anschauungsunterricht bringen.

Literaturverzeichnis.

- Jores, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 7; Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1913. — Kaiserling, Berl. klin. Wochenschr. 1896; Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. 147. 1897; Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1899. — Pick, Berl. klin. Wochenschr. 1900. — Puppe, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 1899. — Benedicenti, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. 1897. — Ziemke, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 1904. — Takayama, Beiträge zur Toxikol. und gerichtlichen Medizin. Stuttgart 1905. — Söcknick, E., Dissertation, Königsberg 1921. — Arnold, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 29. 1899. — van Klaveren, Ibid. 33. 1901.