

(Aus dem Pathologischen Institut des Städtischen Rudolf Virchow-Kranken-
hauses zu Berlin [Prosektor: Dr. E. Christeller].)

Über Eisenreaktion am Malaria pigment.

Von

Dr. Edmund Mayer.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juni 1922.)

Pigmentforschung und Malaria literatur bis zum Jahre 1921 berichten übereinstimmend, daß Malaria pigment (Mp.) keine der üblichen histochemischen Eisenreaktionen gibt. Manche Autoren bezeichnen das Mp. auch kurzweg als „eisenfrei“ (Schmorl [10], Askanazy [2]), was natürlich nicht im analytisch-chemischen Sinne gemeint ist. Die negative Eisenreaktion war mitbestimmend für die Beibehaltung des Namens „Melanin“. So heißt es in *Ascoli* 1915 erschienem Malaria werk (1): „Weil das Mp. schwer löslich ist und weil es nicht die mikro-chemischen Eisenreaktionen gibt, wird es melanotisches Pigment (Pigmento melanico) oder Melanin genannt.“

Ascoli benutzt also die histochemischen Eigenschaften als oberstes Einteilungsprinzip. *Hueck* (7a und b) dagegen teilt zunächst nach dem morphologisch-histogenetischen Prinzip in hämoglobinogene und autochthone Pigmente ein und bildet dann die Untergruppen nach dem histo-chemischen Verhalten. *Askanazy* (2) versucht, Histogenese und Histo-chemie gleichzeitig zur Geltung zu bringen, und nennt das Mp. „Hämamelanin“ (zum Unterschied vom „Histomelanin“).

In der Tabelle aus *Huecks „Pigmentstudien“* (7a), die im Handbuch von *Krehl-Marchand* 1921 wieder abgedruckt wurde, ist nun bei den histochemischen Untergruppen der hämoglobinogenen Pigmente das Mp. und das Hämatoidin als „negativ gegen Eisenreagenzien“ eingetragen, im Gegensatz zum Hämosiderin, das als „stets positiv“ bezeichnet ist.

Um so bemerkenswerter war die Mitteilung von *Seyfarth* (11) auf der Pathologentagung in Jena, daß

1. Eisen durch Abspaltung aus dem Mp. frei werden kann und daß
2. dieses Eisen zwar nicht mit den üblichen Eisenreaktionen, aber mit Hilfe von Modifikationen derselben dargestellt werden kann.

Wohl hatte *Hueck* (7a) bereits früher in Mp.-haltigen Zellen diffuse Blaufärbung beobachtet; er sah diese als Hämosiderinreaktion an, zog aber auch eine Abspaltung von Eisen aus dem Mp. in Betracht. Doch schien ihm der (analytisch-chemische) Eisengehalt des Mp. noch nicht erwiesen und damit die erste Voraussetzung der Abspaltung von Eisen noch nicht gegeben.

Die spektroskopische Untersuchung durch *Seyfarth* führte zur Bestätigung der Ergebnisse von *Carbone* (5) und *Brown* (4), daß das Mp. im wesentlichen aus Hämatin besteht, also eine Abbaustufe des Hämochroms darstellt, wo dies „eine Spaltung in den eisenfreien und eisenhaltigen Teil noch nicht erfahren hat“.

Dagegen forderten die histochemischen Befunde *Seyfarths* aus verschiedenen Gründen zur Nachuntersuchung auf.

Seyfarths Material bestand nämlich aus den Organen zweier künstlich mit *Tertiana* infizierter Paralytiker, und der Autor selbst hatte bei persönlicher Rücksprache die Möglichkeit offen gelassen, daß der Nachweis abgespaltenen Eisens am Pigment von *Quartana* oder *Tropica* weniger gut gelingen könnte. Ist doch nach den Angaben von *Golgi* (6) das Pigment bei den verschiedenen Malariaformen schon morphologisch nicht ganz gleichartig.

Für unsere Untersuchungen standen 4 im *Rudolf Virchow*-Krankenhaus seztierte Fälle zur Verfügung, die übrigens sämtlich erst durch die Obduktion als Malaria entlarvt worden waren. Fall 1 starb im März 1920 unter den klinisch-funktionellen Zeichen der akuten gelben Leberatrophie; die biliös-komatöse Form macht *Tropica* wahrscheinlich. Fall 2 starb im März 1922, war nie aus Deutschland herausgekommen und hatte die charakteristische Tropicafieberkurve. Fall 3 wurde im Mai, Fall 4 im Juni 1922 seziert; bei beiden gelang der Nachweis von Tropicaparasiten (Halbmonden!) im Leichenblut. Es handelt sich bei unserem Material in 2 Fällen um sichere *Malaria tropica*, in den beiden anderen mit größter Wahrscheinlichkeit um die gleiche Form.

Seyfarth fand gleich den früheren Untersuchern, daß das Mp. sich gegenüber der gewöhnlichen Berlinerblaureaktion negativ verhält, kam jedoch durch Veränderung der üblichen Methoden zu folgenden Ergebnissen.

Wird eine Lösung des Mp. eingeleitet und vor dem Eintreten der *völligen* Lösung eine Eisenreaktion angestellt, so bilden sich blaue „Höfe“ um die Pigmentkörnchen.

Die Kombination zwischen Lösung und Reaktion besteht entweder darin, daß man in der Berlinerblaureaktion die wässrige Salzsäure, von welcher das Mp. nicht angegriffen wird, durch alkoholische Salzsäure (2–5%) ersetzt, in der sich das Mp. allmählich löst. Oder man wendet die von *Hueck* angegebene Modifikation der Turnbullblaureaktion

an (Schwefelammonium, dann Ferricyankalium + Salzsäure) und läßt dabei das Schwefelammonium so lange einwirken, bis sich das Pigment zu lösen *beginnt*.

Das Auftreten der blauen „Höfe“ bedeutet nach *Seyfarth* eine Abspaltung von histochemisch faßbarem Eisen aus dem Mp.

Unter Anwendung obiger Technik zeigten sich bei unseren teils sichereren, teils wahrscheinlichen Tropicafällen die gleichen blauen „Höfe“, wie in dem Tertianamaterial von *Seyfarth*: ein Vergleich unserer Präparate ergab die völlige Übereinstimmung.

Wie aus dem Prinzip der Methode hervorgeht, tritt die Reaktion nicht auf, ehe das Pigment nicht durch das Lösungsmittel angegriffen ist. Andererseits ist eine Beziehung der blauen Farbe zu den Pigmentkörnern nicht mehr festzustellen, wenn letztere völlig gelöst sind. Der Spielraum zwischen diesen zwei Punkten ist nun ganz außerordentlich wechselnd, von wenigen Minuten bei Gefrierschnitten bis zu Stunden bei Celloidinschnitten. Aber auch innerhalb des Spielraumes, zwischen Anfang und Ende der Auflösung, ist der Augenblick, in dem die Eisenreaktion angestellt wird, nicht gleichgültig. Vielmehr gibt es für die hinreichende Lockerung ohne zu starke Fortschwemmung des gelösten Pigments eine Art Optimum, welches nicht nur für Gefrier-, Paraffin- und Celloidinschnitte verschieden ist, sondern auch bei gleicher Vorbehandlung von Fall zu Fall und Organ zu Organ etwas schwankt. Außerdem werden bei Innehaltung gleicher Zeiten an Schnitten desselben Blockes mit der Turnbullblaureaktion nicht immer die gleichen Ergebnisse erzielt, was sich durch die starke Veränderlichkeit des Schwefelammoniums erklärt: dieses läßt oft an Wirksamkeit nach, bevor noch Farbänderung oder Ammoniakgeruch die Zersetzung ankündigt.

Die Reaktion ist in einigen Fällen an fast allen Pigmentkörnern eines Schnittes vorhanden, in anderen Fällen nur an wenigen. Ton und Stärke der blauen Farbe schwanken ebenfalls, manchmal innerhalb eines Schnittes, zwischen hellem, etwas grünlichem Wasserblau, leuchtendem Himmelblau und dunklem Ultramarin (Abb. 3, 2, 4).

Ein Nachteil langer Fixation wurde von uns (im Gegensatz zu *Seyfarth*) nicht bemerkt. Im Fall 1 wurden bereits gefärbte Celloidinschnitte benutzt, die im März 1920 fixiert worden waren und nun nach über zwei Jahren aus dem Balsam wieder gelöst wurden. Auch an diesen Schnitten gelang die Reaktion recht gut.

Ungefähr gleichzeitig mit der *Seyfarthschen* Mitteilung erschien in Indien eine Arbeit über Mp. von *Charu Chandra Basu* (5). Diesem Autor war es nicht gelungen, eine Eisenreaktion am Mp. auszulösen, obwohl er unter anderen Versuchen auch alkoholische Säuren mit anschließender Berlinerblaureaktion anwandte. Offenbar hat er die Zeiten nicht genügend variiert, denn er hat zwar das gänzliche Verschwinden des Pigments, aber nicht den Beginn der Auflösung beobachtet.

Wir kommen zur genaueren morphologischen Betrachtung der Reaktion.

Vorausgeschickt sei, daß das Mp. bekanntlich 1. feinkörnig in den parasitenbefallenen Erythrocyten liegt (endoglobulär), 2. feinkörnig, grobkörnig oder auch klumpig in Makrophagen (endocellulär) gespeichert wird; 3. ab und zu feinkörnig oder klumpig frei in der Blutbahn angetroffen wird. Hier ist zunächst von dem grobkörnigen und klumpigen Pigment in den Makrophagen die Rede, dem allein *Seyfarths* Untersuchungen galten.

Worin besteht nun das Wesen der blauen „Höfe“?

Bei schwachen Vergrößerungen und an Stellen mit undeutlichen Zellterritorien sieht es in der Tat so aus, als ob die blaue Farbe ohne gesetzmäßige Begrenzung das Mp. umgibt, so daß der Ausdruck „Hof“ ganz berechtigt erscheint (Abb. 1). Betrachtet man jedoch Stellen, an denen die pigmenthaltigen Zellen isoliert liegen und daher ihre Grenze deutlich erkennen lassen, so stellt sich heraus, daß stets die Form des blauen „Hofes“ durch die Zellgrenze bestimmt wird: bei isolierten Makrophagen im Knochenmark, Milz und Leber ist die Form rundlich, oft kreisrund, bei den *Kupfferschen* Sternzellen häufig ganz deutlich dreieckig und dreizipfig (Abb. 6).

Anders ausgedrückt: das bei der beginnenden Lösung oder Lockung der Pigmentkörper frei gewordene Eisen diffundiert in das Cytoplasma der pigmenthaltigen Zelle bis zur Zellgrenze. Der Zellkern bleibt frei.

Diese diffuse Blaufärbung der Mp.-haltigen Zellen, die Bildung der *Seyfarthschen* „Höfe“ stellt den häufigsten Typus der Reaktion dar (Abb. 1–4).

Außerdem läßt sich jedoch noch eine andere — von *Seyfarth* nicht beschriebene — Erscheinung beobachten, nämlich eine Umwandlung der braunschwarzen Pigmentkugeln in homogene dunkelblaue (Abb. 6) und noch häufiger in smaragdgrüne (Abb. 5) Kugeln. Da diese blauen und grünen Kugeln nicht so dunkel sind wie das braunschwarze Pigment und am Rande oft heller schimmern als in der Mitte, so wirken sie durchsichtig und man kann auch von „Tropfen“ sprechen.

Die verschiedenen Arten der Reaktion finden sich nun in jeder möglichen Kombination:

1. Braunschwarze Pigmentklumpen, morphologisch kaum verändert, oder auch stark gelockert, staubartig, inmitten der diffus blauen Zelle.
2. Umwandlung des Pigments in blaue oder grüne Kugeln, ohne Blaufärbung des Zelleibs.
3. Auftreten der blauen oder grünen Kugeln, dazu diffuse Blaufärbung des Zelleibs.

Diese verschiedenen Bilder finden sich zum Teil nebeneinander in ein und demselben Schnitt. Schon hieraus geht hervor, daß wir nicht

durch weitere technische Verbesserungen eine bestimmte Art der Reaktion erzwingen können, daß vielmehr die Beschaffenheit des Mp. in *einem* Präparat nicht einheitlich ist. Besonders schlagend ist das Beispiel der Abb. 4: zwei unmittelbar benachbarte *Kupffersche* Sternzellen von gleicher Größe enthalten ungefähr gleichviel grobkörniges

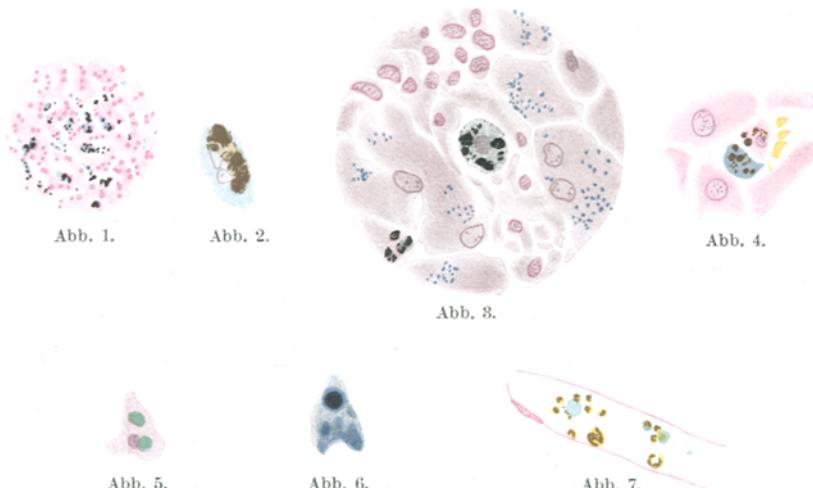


Abb. 1. Leber, Übersichtsbild. Leitz Obj. 3, Ok. 8. Vergrößerung der Originalzeichnung 100 fach.
Abb. 2. Mehrkerniger Makrophage in der Leber, besonders reich an Pigment, mittelstarke Eisenreaktion. Leitz Imm. 1/16, Ok. 1. Vergrößerung der Originalzeichnung 680 fach.

Abb. 3. Leber mit Hämosiderose der Leberzellen. Mp-haltiger Makrophage mit schwacher Eisenreaktion, links unten Mp. ohne Reaktion. Leitz Imm. 1/16, Ok. 1. Vergr. d. Originalzeichnung 680 fach.

Abb. 4. Leber ohne Hämosiderose der Leberzellen; zwei Mp-haltige Kupffersche Sternzellen, die eine mit besonders starker, die andere mit negativer Eisenreaktion. Leitz Imm. 1/16. Ok. 1. Vergr. d. Originalzeichnung 680 fach.

Abb. 5. Kupffersche Sternzelle, Malaria pigment in blaugrüne Kugeln umgewandelt, keine Diffusion von Eisen in den Zelleib. Leitz Imm. 1/16, Ok. 1. Vergr. d. Originalzeichnung 680 fach.

Abb. 6. Kupffersche Sternzelle, Malaria pigment in dunkelblaue bzw. blaugrüne Tropfen umgewandelt, dazu Diffusion von Eisen in den Zelleib. Leitz Imm. 1/16, Ok. 1. Vergr. der Originalzeichnung 680 fach.

Abb. 7. Hirnrindencapillare, Beschreibung im Text. Leitz Imm. 1/16, Ok. 1. Vergr. d. Originalzeichnung 680 fach.

Die Zeichnungen wurden von Frau Marie Simon-Berlin mit Benutzung des Abbeschen Zeichenapparates angefertigt. Die Originalzeichnungen sind bei der Reproduktion auf $\frac{3}{4}$ verkleinert worden.

Mp.; aber die eine zeigt stärkste diffuse Dunkelblaufärbung, die andere völlig negative Reaktion.

Daß Mp. eisenhaltig im analytisch-chemischen Sinne ist, war durch die von *Carbone* und *Brown* festgestellte Hämatinähnlichkeit wahrscheinlich gemacht. Diese Annahme ist durch *Seyfarths* Nachprüfung, wie bereits erwähnt, weiterhin gestützt worden, indem auch er in einer alkoholisch-alkalischen Lösung von Mp. aus der Milz das Spektrum

des alkoholisch-alkalischen Hämatins nachwies. Trotzdem geben *Brown* und *Seyfarth* zu, daß das Mp. nicht einfach identisch mit Hämatin ist. So erklären sich auch *Huecks* zurückhaltende Worte, daß „wir einigen Grund zu der Annahme haben, daß das Hämomelanin eisenhaltig ist, wenn auch nur „maskiertes Eisen enthaltend“.“

„Maskiert“ ist histochemisch das Eisen, das überhaupt keine Reaktion gibt und zwar weil es „fest“, nämlich hæmoglobinartig, gebunden ist.

Unter diesen Umständen hielt es *Seyfarth* für nötig, zu beweisen, daß der blaue „Hof“ wirklich vom Mp. herrührt und sich nicht etwa „Hæmosiderin mantelartig um Malaria pigmentkörnchen herum ablagert.“ Die Möglichkeit eines solchen Einwandes besteht um so mehr, als nach der bereits zitierten Bemerkung von *Hueck* Hæmosiderin in den gleichen Zellen vorkommt, wo auch das Hämomelanin liegt, und „man in diesen Zellen das Hæmosiderin meist in Form einer diffusen Eisenreaktion erkennen“ wird. Um zu zeigen, daß der blaue „Hof“ nicht Hæmosiderin ist, benutzt *Seyfarth* ein weiteres histochemisches Merkmal des Hæmosiderins, nämlich seine Löslichkeit in wässerigen Säuren. Er kam zu dem Ergebnis, daß die blauen „Höfe“ um die Mp.-Körnchen ebenfalls auftreten, wenn die Schnitte zuvor mit 2proz. Oxalsäurelösung behandelt, also hæmosiderinfrei gemacht worden sind.

Auch wir fanden, daß Oxalsäurevorbehandlung die Blaufärbung Mp.-haltiger Zellen nicht unbedingt verhindert. Nur sinkt bei sehr langer Einwirkung der Oxalsäure die Zahl der blauen „Höfe“. In manchen Fällen waren noch nach 18stündiger Oxalsäurebehandlung einige „Höfe“ zu erzielen, in anderen Fällen jedoch nicht mehr. Wir sehen übrigens auch hieran, daß das Mp. in ein und demselben Schnitt trotz gleicher Fixation usw. nicht ganz einheitliche Beschaffenheit zeigt.

Dieses Merkmal des Hæmosiderins — die Löslichkeit in wässriger Säure — ist also bezüglich der blauen „Höfe“ nicht ohne weiteres zu gebrauchen: es ist weder glatt positiv noch einfach negativ.

Zwischen der Menge des körnigen Leberzellhæmosiderins einerseits und der Intensität der blauen Farbe bei Mp.-haltigen *Kupferschen* Sternzellen andererseits besteht keine erkennbare Beziehung; doch ist diese morphologische Feststellung für die histochemische Betrachtung ohne Wert, wenn man mit *Hueck* auf reinliche Scheidung der Methoden sieht.

Aber gerade, wenn man sich streng im *Hueckschen* Sinne an die histochemischen Merkmale hält, so muß man sagen, daß den blauen „Höfen“ das Hauptmerkmal des Hæmosiderins fehlt: die von *Seyfarth* und mir bisher beschriebene Blaufärbung Mp.-haltiger Zellen erfolgt im allgemeinen *nicht* bei Anwendung von Ferrocyanalium + wässriger Salzsäure, die Zellen verhalten sich negativ gegenüber der *gewöhnlichen* Berlinerblaureaktion.

Diese Erörterung könnte wie Haarspalterei aussehen: es handelt sich aber nur um das Festhalten eines verabredeten Merkmals. Was um so nötiger ist, als man von der *Neumannschen* (9) Definition des Hämosiderins als eines Pigmentes, welches erstens durch gelbe oder braune Farbe und zweitens durch die Eisenreaktion ausgezeichnet ist, bereits das erste Merkmal hat fallen lassen. *Hueck* spricht auch dort von Hämosiderin, wo diffuse Eisenreaktion auftritt, ohne daß vorher etwas Gelbes oder Braunes zu sehen war (*Quinckes* „ungefärbte Eisenalbuminate“). Da über die chemische Natur des Hämosiderins im analytischen Sinne nichts Sichereres bekannt ist, so droht ohnehin ein völliges Verschwinden des Begriffes „Hämosiderin“. Schon werden Stimmen laut, die „Hämosiderose“ wieder durch „Siderose“ ersetzen möchten (*Thannhauser* [12]), was aber auch nicht wünschenswert ist, da das Wort „Siderose“ unterdessen für exogene Eisenablagerung vergeben ist.

Wir sehen, daß den Mp.-haltigen Zellen das eine Merkmal des Hämosiderins — „*stets positive*“ Eisenreaktion — fehlt und daß das zweite Merkmal — Löslichkeit der sich blaufärbenden Substanz in wässerigen Säuren — in einigen Fällen vorhanden ist, in anderen nicht. Die blauen „Höfe“ können also keineswegs als Hämosiderin angesprochen werden.

Somit komme ich, wenn auch auf etwas anderen Gedankengängen, zur völligen Übereinstimmung mit *Seyfarth*, daß die blauen „Höfe“ nur aus dem Mp. abgespaltenes Eisen sein können.

Sollten Mp.-haltige Zellen beobachtet werden, die sich schon mit der gewöhnlichen (wässerigen) Berlinerblaureaktion diffus färben, so steht es im Belieben des einzelnen, ob er hier *autolytische* Abspaltung von Eisen aus dem Mp. annehmen oder lieber das „diffuse Hämosiderin“ verteidigen will.

Den endgültigen Beweis für die Eisenhaltigkeit des Mp. erblicke ich in dem Auftreten der blauen und grünen Kugeln. Die Umwandlung des braunschwarzen Mp. in derartige Gebilde ist ja nichts anderes als eine positive histochemische Eisenreaktion des Malaria pigments selbst; sie wirkt noch überzeugender als die bisherigen „Indizienbeweise“: als der Nachweis des in die beherbergende Zelle diffundierten Eisens und als die spektroskopische Identität mit dem eisenhaltigen Hämatin.

Wenn wir uns jeder Erörterung über die Art der Bindung des Eisens im Mp. enthalten, so hat das folgende Gründe. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem histochemischen Nachweis des Eisens, macht also lediglich Aussagen über seine Reaktionsbereitschaft im Mp. Wir stehen aber auf dem Standpunkt von *Hueck* (7b), „daß der Schluß von der Reaktionsbereitschaft des Eisens auf die Art seiner Bindung völlig unzulässig ist“. Die Art der Bindung darf nur auf Grund physi-

kalisch-chemischer Untersuchungen beurteilt werden, und hier komplizieren sich die Fragestellungen immer mehr. *Hueck* sagt z. B. über das Hämosiderin (bzw. Eisenoxydhydrat), es sei an eiweiß- oder fettähnliche Körper vielleicht nur physikalisch adsorbiert. Aber schon der Begriff der „physikalischen Adsorption“ ist nicht mehr einheitlich, und seine Abgrenzung gegenüber der „chemischen Bindung“ nicht einfach. So unterscheidet *L. Michaelis* (8) in der Festschrift für *O. Hertwig* sowohl indifferente und elektrolytartige Adsorbenda, mithin vier Möglichkeiten der Adsorption, die alle für histochemische Reaktionen und Gewebsfärbungen in Betracht kommen. Bei dieser Sachlage wird ein Urteil über die Art der Bindung von Eisen im Hämoglobin, Hämosiderin oder im Malaria pigment vor der Hand kaum zu gewinnen sein.

Dagegen lassen sich aus der morphologisch-histogenetischen Untersuchung des Mp. und seiner Eisenreaktion noch einige Folgerungen ziehen.

Die blauen „Höfe“ und die Umwandlung in blaue oder grüne Kugeln haben wir bisher nur an Mp.-haltigen Makrophagen (einschließlich den *Kupfferschen* Sternzellen) geschildert, also am endocellulären Pigment. Am endoglobulären Pigment gelang nun der Eisennachweis nicht (mit *einer* Ausnahme), weder mit den üblichen noch mit den modifizierten Methoden. Der Zeitraum zwischen Beginn einer Lösung und völligem Verschwinden des Pigments ist natürlich bei dieser ganz feinkörnigen Form sehr klein, doch läßt sich stets ein Augenblick abpassen, in dem das Pigment merklich vermindert ist. In der Milz und im Knochenmark ist besonders gut Gelegenheit, die positive Reaktion an Makrophagen und die negative an roten Blutkörperchen unmittelbar nebeneinander zu beobachten, was gegen technische Mängel spricht. Nur in einem der zahlreichen Hirnschnitte, die untersucht wurden, fand sich das in Abb. 7 wiedergegebene Bild: die Umrisse der von den Parasiten ihres Hämoglobins beraubten Erythrocyten sind nicht mehr erkennbar, das jedem Erythrocyten zugehörige Pigmenthäufchen verrät jedoch seine Stelle. Das Pigment zeigt an den meisten Häufchen keine Eisenreaktion, nur ein einziges hat einen blauen „Hof“, ein zweites ist in eine smaragdgrüne Kugel umgewandelt. Außerdem sieht man einen Pigmenthaufen von etwa Erythrocytengröße und einen ebenso großen diffus türkisblauen Kreis mit einigen Pigmentstäubchen. Dazu kommt noch ein winziges smaragdgrünes Tröpfchen. Diese ausnahmsweise positive Reaktion, die sich nur in einer einzigen Capillare eines einzigen Hirnschnittes fand, bestärkt uns darin, daß keine technische Zufälligkeit vorliegt, daß vielmehr das Eisen des endoglobulären Mp. auch nach begonnener Lösung des Pigments in der Regel nicht reaktionsfähig wird.

Es besteht also ein Unterschied zwischen dem endocellulären und dem endoglobulären Mp. Nach allgemeiner Annahme pigmentieren sich die Makrophagen durch Phagocytose von parasitenhaltigen Erythrocyten oder von Pigment aus zerfallenen Erythrocyten bzw. Parasiten. Man kann demnach sagen, daß im allgemeinen das Eisen im Mp. erst nach Aufnahme des Pigments durch Makrophagen in die reaktionsfähige Form übergeführt werden kann.

Es lag nahe, auch das mit dem Mp. histochemisch bisher identische Formalinpigment nach der *Hueck-Seyfarthschen* Methode auf reaktionsfähiges Eisen zu prüfen, sowohl aus theoretischen Gründen als auch zum Zwecke der Differentialdiagnose. Es wurde Formalinpigment in parenchymatösen Lungenblutungen untersucht. Alkoholfixiertes Material diente als Kontrolle. Auch hier wurde in allen möglichen Phasen der lösenden Schwefelammoniumwirkung die Turnbullblaureaktion angestellt. Das Ergebnis war bisher stets negativ.

Für die Differentialdiagnose zwischen Mp. und Formalinpigment kann die modifizierte Eisenreaktion von Bedeutung sein, wenn *nur* formolfixiertes Material vorhanden ist. Zwar wird die Reaktion kaum zur Unterscheidung des Formalinpigmentes vom endoglobulären Mp. brauchbar sein, obwohl gerade hier die Verwechslungsmöglichkeit am größten ist. Aber in Fällen, bei denen das endocelluläre Pigment nicht so massig ist, daß es schon morphologisch als Mp. sicher erkennbar ist, wird durch die modifizierte Eisenreaktion eine Entscheidung möglich.

Zusammenfassung.

1. Die *Seyfarthschen* Befunde an Pigment von *Malaria tertiana* bestätigen sich auch am Pigment von *Malaria tropica*.

2. Die von *Seyfarth* beobachteten blauen „Höfe“, die durch Kombination von Lösungsmitteln mit Eisenreaktionen erzielt werden, werden auch von uns als Eisen aufgefaßt, das aus dem Malaria pigment abgespalten ist; die „Höfe“ kommen dadurch zustande, daß das abgespaltene Eisen in den Leib der pigmenthaltigen Zelle bis zur Zellgrenze diffundiert.

3. Gelegentlich wandeln sich bei obiger Technik Malaria pigmentkörner in blaue oder grüne Kugeln um, wodurch der Eisengehalt des Pigments unmittelbar bewiesen wird.

4. Während das Eisen im endocellulären Mp. dem reaktionsfähigen Zustande bereits nahe ist, läßt sich das Eisen im endoglobulären Pigment fast niemals zur Reaktion bringen.

5. Formalinpigment scheint sich auch gegenüber der mit Lösungsmitteln kombinierten Eisenreaktion negativ zu verhalten. Dieser Um-

stand kann für die Differentialdiagnose zwischen Formalinpigment und endocellulärem Malaria pigment benutzt werden.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ *Ascoli, Vittorio*, La Malaria. Turin 1915. — ²⁾ *Askanazy*, Aschoffs Lehrbuch der pathologischen Anatomie. 4. Aufl. 1919. Bd. I, S. 239 u. 257. — ³⁾ *Brown, W. H.*, Malaria pigment. Journ. of the exp. med. **13**. 1911. — ⁴⁾ *Carbone*, Giorn. d. r. Acad. di med. di Torino **39**, Ser. 3. 1891. — ⁵⁾ *Charu Chandra Basu*, Observations on the chemical behaviour of malarial pigment with a note on the nature of pigment found in the liver of Kala-Azar cases. The Indian Journ. of med. Vol. II, No. I 1921. — ⁶⁾ *Golgi, E.*, Sullo sviluppo de' parassiti malarici nella febre terzana. Arch. per le sc. med., Vol. XIII, 1889; zit. nach *Barbacci*, Zentralbl. f. Path. **3**. 1892. — ^{7a)} *Hueck, Werner*, Pigmentstudien. Beitr. z. allg. Path. u. pathol. Anat. **54**. 1912. — ^{7b)} *Hueck, Werner*, Die pathologische Pigmentierung. Handb. d. allg. Path. von *Krehl-Marchand* **3**, 2. Abt. 1921. — ⁸⁾ *Michaelis, L.*, Der heutige Stand der allgemeinen Theorie der histologischen Färbung. Arch. f. mikrosk. Anat. **94**. 1920. (Festschr. f. O. Hertwig.) — ⁹⁾ *Neumann, E.*, Blut und Pigmente. Jena 1917. — ¹⁰⁾ *Schmorl, G.*, Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 10. u. 11. Aufl. Leipzig 1921. — ¹¹⁾ *Seyfarth, Carly*, Pathologisch-anatomische Befunde nach Malariainfektionen bei Paralytikern. Chemische Untersuchungen des Malaria pigments. Verhandl. d. Dtsch. Pathol. Ges., 18. Tagung, Jena 1921. — ¹²⁾ *Thannhauser, S. J.*, Über die Bildung des Gallenfarbstoffes im menschlichen Organismus. Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 17.