

(Aus dem Pathologischen Institut der Reichsuniversität Leiden [Direktor: Prof.
Dr. N. Ph. Tendam].)

Über den Chemismus und die Biologie des menschlichen Hautpigments.

Von

Priv.-Doz. Dr. G. O. E. Lignac,
Konservator-Prosektor.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juli 1922.)

In der ersten Abteilung dieser Arbeit möchte ich die verschiedenen, zu unserem Dienste stehenden Methoden zur Aufklärung der chemischen Zusammensetzung des Hautpigmentmoleküls gesondert besprechen, ihre Vor- und Nachteile prüfen; die zweite Abteilung gibt eine Darstellung über die Stelle, wo das Hautpigment im menschlichen Körper gebildet wird und über die Schicksale des gebildeten Hautpigments. Damit verknüpfen sich die Fragen nach der Herkunft der Mutterstoffe dieses Pigments, nach einer intravitalen Fermentwirkung und nach der Bedeutung des Hautmelanins für den Körper*).

Das Haut- und Cutis- resp. Haarpigment wird mit dem Pigment der Retina und Chorioidea, dem Pigment der Ganglienzellen (Substantia nigra usw.), dem Pigment der weichen Hirnhäute zu den Melaninen (*μέλας* = schwarz) gerechnet. Diese Pigmente unterscheiden sich durch bestimmte chemische Reaktionen scharf von den anderen uns bekannten endogenen Pigmenten.

Mit *Kobert* unterscheiden wir folgende Melanine:

1. Das Melanin, das unter normalen Umständen gebildet wird. Nur von diesem menschlichen Melanin ist in dieser Arbeit die Rede;
2. das unter pathologischen Umständen gebildete Melanin;
3. das künstlich erzeugte Melanin.

Wir müssen diese drei Arten scharf trennen. Nicht nur morphologische, sondern auch chemische Übereinstimmung müssen wir fordern, sollen wir zwei oder mehr Pigmente gleichstellen. Das hat man jedoch nicht immer bedacht.

*) Auf eine geschichtliche Darstellung muß und kann ich hier verzichten. Dafür weise ich auf meine holländische Arbeit hin „Over vorming en afbraak van huidpigment“ (Leiden 1922).

Welche Untersuchungsverfahren zur Bestimmung des chemischen Baues des Hautpigments stehen uns zu Gebote?

An erster Stelle die a priori leicht zum Ziele führende Methode der Isolierung des Hautmelanins und die chemische Analyse des möglichst rein dargestellten Pigments;

2. die vergleichende Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der pflanzlichen und tierischen Farbstoffe, womöglich mit bindenden Schlüssen für den Chemismus des menschlichen Hautmelanins [*Otto von Fürth* und Mitarbeiter¹];

3. der Nachweis eines spezifischen Oxydationsferments in der Epidermis [*Bruno Bloch* und Mitarbeiter²];

4. die Bestimmung der physiko-chemischen Eigenschaften der Mutterstoffe (das farblose Präpigment, öfters fälschlich mit dem Worte „Propigment“ bezeichnet) und des Hautpigments selbst, in Zusammenhang betrachtet mit dem, was die Farbstoffchemie uns über die mögliche, chemische Konstitution solcher organischen Farbstoffe lehrt. Diese Methode ist von mir angewendet.

Erste Methode. Bevor ich zur Besprechung dieser Methode schreite, möchte ich erst die physiko-chemischen Eigenschaften des Hautmelanins, wie man solche bei den histochemischen Untersuchungen bestimmen kann, hervorheben. Die amorphen, gelblichbraunen Teilchen sind gänzlich unlöslich in indifferenten Lösungsmitteln, den starken mineralischen und organischen Säuren (mit Ausnahme der alles vernichtenden Salpetersäure), den Alkalien und eiweißspaltenden Fermenten gegenüber äußerst resistent. Diese Farbstoffteilchen sind in stände eine wäßrige $\frac{1}{2}$ proz. AuCl_3 -Lösung, eine wäßrige $\frac{1}{2}$ proz. AgNO_3 -Lösung zu reduzieren, Osmium unter gewissen Umständen aus einer wäßrigen OsO_4 -Lösung zu fällen; diese Teilchen werden von Oxydationsmitteln sowie von einer 3proz. H_2O_2 -Lösung und von Chlor entfärbt. Ich gebrauche immer den neutralen Ausdruck Teilchen statt Körnchen, zumal wir nicht wissen, ob diese Farbstoffteilchen den festen Stoffen oder vielmehr den Dispersoiden (Kolloiden), ihrer festen Phase (Suspensoiden) oder ihrer flüssigen Phase (Emulsoiden) zugehören. Wären die Farbstoffteilchen wirklich Dispersoide, so würden wir die Imprägnation der Teilchen mit Gold und Silber als Adsorption schön erklären können [*Liesegang*³]. Doch glaube ich, daß wir vielmehr mit einer chemischen Reaktion zu tun haben, weil die letztgenannten Erscheinungen besonders von der chemischen Phase des Farbstoffs abhängig sind, sowie ich das nachher erörtern werde (s. S. 391). Noch möchte ich die Meinung vieler Forscher erwähnen, die das Farbstoffteilchen nicht als eine morphologisch-einheitliche Masse betrachten, sondern an ihm zwei Teile unterscheiden: einen farblosen Kern und den diesen Kern umhüllenden Farbstoff.

Das Melanin unterscheidet sich durch sein Verhalten der Silbernitratlösung gegenüber von den anderen endogenen Pigmenten, wie das Hämatoidin, Hämosiderin, Malariapigment (hämoglobinogene Pigmente) und das „Abnutzungspigment“. Das Melanin wird wie das „Abnutzungs-“ und Malariapigment von „Bleichungsmitteln“ gebleicht [Werner Hueck⁴].

Es stehen dieser Methode der Isolierung und chemischen Analyse des Melanins große Schwierigkeiten im Wege, nämlich:

1. Seine Unlöslichkeit in indifferenten Lösungsmitteln.
2. Die Folge des soeben genannten Umstands, daß man *nach sehr rohen Isolierungsmethoden greifen muß*. Zur Absonderung des Melanins muß man das Gewebe kochen, z. B. mit Säuren, damit man sich des überflüssigen Eiweißes entledigt. Jedoch fällt man von der einen Schwierigkeit in die andere. *Gerrit Jan Mulder* (1840) und *Schmiedeborg* zeigten, daß das Kochen von Eiweißstoffen mit mineralischen Säuren humusartige Produkte liefert, sog. künstliche Melanine, von *Schmiedeborg* genannte Melanoidine oder Melanoidinsäuren, welche schwer von dem Hautmelanin zu trennen sind. Nicht nur das Melanin, sondern auch das Keratin widersteht der Einwirkung eiweißspaltender Fermente; *Bruno Bloch* meint, daß der Schwefel, welchen man öfters bei der chemischen Analyse nachweist, immer eine Verunreinigung der Hornsubstanz ist.

*E. Salkowski*⁵⁾ ⁶⁾ meint durch Kochen mit Eisessigsäure oder Alkohol, dem einige Tröpfchen Salzsäure zugefügt sind, ein Verfahren zur reinen Darstellung eines Melanins gefunden zu haben. Jedoch ist noch zu beweisen, ob durch diese Behandlung das Melanin keine wesentlichen Veränderungen erfahren hat; bedenken wir doch, daß das Melanin noch immer dem Sauerstoff gegenüber empfindlich ist. Sind Verunreinigungen wie die schwer zu entfernenden Melanoidine nach diesem Verfahren auszuschließen? Ein reines Melanin soll meines Erachtens die verschiedenen Phasen mit ihren chemischen Reaktionen, wie ich das mikrochemisch gezeigt habe (s. nachher), darstellen.

3. Die Ernte bei der Isolierung des Melanins ist äußerst gering. Die besten Objekte für die Untersuchung sind Negerhaut, menschliche und tierische Haare, Chorioidea, melanotische Geschwülste von Menschen oder Pferden, Tintenfische. Das folgende Bedenken habe ich gegen diese verschiedenen Untersuchungsobjekte: dürfen wir ohne weiteres die tierischen oder unter krankhaften Umständen gebildeten Pigmente dem normalen menschlichen Hautpigment gleichstellen? Zeigt das Phymatorhusin (*Nencki* und *Berdez*), aus menschlichen Geschwülsten gewonnen, nicht eine leichte Löslichkeit in Alkali, wodurch es sich eben vom Hautpigment unterscheidet? Inwieweit dürfen wir die Ergebnisse der Untersuchungen von *Fürths* und *Jerusalems* auf das menschliche Hautpigment anwenden. Die Untersuchungen von *Otto*

von Fürth und Ernst Jerusalem⁷⁾ zeigten, daß das Hippomelanin (Farbstoff aus melanotischen Lymphdrüsen von Pferden) seinen qualitativen Reaktionen nach den melaninartigen Stoffen, welche unter dem Einfluß einer Tyrosinase aus Tyrosin entstehen, ähnlich ist. Auch aus den übrigens wichtigen Untersuchungen Eduard Spiegler⁸⁾ an tierischen Haaren (Pferde, Schafe), Chorioidea von Schweinen erhellt, daß dieses Melanin bei energischer Reduktion kein Hämopyrrol liefert, wie das wohl der Fall ist mit dem Hämatin. Damit machte er es unwahrscheinlich, daß dieses Melanin dem Hämoglobin entstammt. E. Salkowski (l. c.) untersuchte das Melanin aus einem menschlichen Melanocytoblastom. Dieses unter krankhaften Umständen gebildete Melanin ist nicht ohne weiteres dem Prototypus gleichzustellen.

Nach dem Vorhergesagten ist es einleuchtend, daß die Analysen der verschiedenen Untersucher sich voneinander unterscheiden; die Auskünfte der Analysen Hofmeisters und von Fürths stimmen noch am meisten miteinander überein. C, H, O und N sind immer im Melaninmolekül anwesend (die Angaben über die prozentische Zusammensetzung des Kohlen- und Stickstoffes wechseln von 48–60% C und von 8–14% N).

B. Brahn und M. Schmidtman⁹⁾ behaupten, daß der Schwefel ein wesentlicher Bestandteil des Moleküls ist. Nach von Fürth soll weder der Schwefel noch das Eisen für die Melaninbildung unentbehrlich sein. Neulich behauptete E. Salkowski (l. c.), daß der Phosphor organisch im Molekül gebunden ist und daß damit der Meinung, daß die Zellkerne bei der Melaninbildung mit hineingezogen sind, eine weitere Stütze gegeben ist.

Die von den verschiedenen Forschern angegebenen Abbauprodukte der isolierten Melanine sind folgende: das Indol [*H. Landolt*¹⁰⁾ behauptet, daß die Melanine heterocyclische, zu der Indolgruppe gehörende Verbindungen sind], das Tryptophan, β -Indolalanin (*Nencki*, *E. Salkowski* und *Spiegler*; letzterer meint, daß Tryptophan und Aceton die Mutterstoffe des Melanins bilden) und endlich hat *Salkowski* gezeigt, daß außer der Phenylgruppe noch ein Atomkomplex von Aminosäuren (der Fettsäurengruppe gehörend) vorhanden ist. Das Tyrosin hat man nicht unmittelbar als Abbauprodukt des Melanins nachgewiesen; es wäre eine Stütze für die Meinung von Fürths gewesen, weil dieser Forscher das Tyrosin für den Mutterstoff des Hauptpigments hält. Nirgendswo habe ich Angaben gefunden über das Vorkommen von Chinonen (mit Wasserdampf flüchtige, stechend riechende Verbindungen); es würde sich der Mühe lohnen, diese zu erforschen, wie ich das nachher erörtern werde.

An dieser Stelle möchte ich noch eine Bemerkung machen. Indol und Tryptophan entstehen im allgemeinen bei der Spaltung der ver-

schiedenen Eiweißstoffe; sollen die Angaben Wert haben, so muß man Verunreinigungen sicher ausschließen können.

Versuche, menschliches Haut- und Haarpigment zu untersuchen, sind von *F. P. Floyd*¹¹⁾ 12), von *John J. Abel* und *Walter S. Davis*¹³⁾ und von *Hugo Fasal*¹⁴⁾ angestellt worden. *Floyd* gebrauchte Negerhaut, jedoch isolierte er nicht das Pigment, sondern untersuchte chemisch die ganze Haut. *Floyd* meinte, daß das Hautpigment Eisen enthielt. *Abel* und *Davis* isolierten das Pigment aus der Negerhaut und den Negerhaaren, bekamen kein konstantes Präparat, jedoch ein Gemisch wechselnder Zusammenstellung. *Hugo Fasal* meint menschliche Haare sog. „kalt“ vom Melanin befreit zu haben. Er kocht aber nach seiner Angabe das rohe Pigment $\frac{1}{2}$ Stunde mit 5proz. Kalilauge, bisweilen noch länger, um das Melanin in Lösung zu bringen. Dieses Verfahren ist daher noch zu eingreifend.

Zweite Methode. Schon längst hat der Chemiker *Schönbein* gezeigt, daß viele „lebenden“ Stoffe den Sauerstoff der Luft zu „aktivieren“ vermögen (Erythrocyten, Kartoffeln, Pilze); in 1883 ist die Laccase von *Yoshida*¹⁵⁾ entdeckt worden. *Bertrand*¹⁶⁾ 17) 18) fand die Tyrosinase, jedoch zeigte es sich bald, daß unter dem Einfluß der Tyrosinase auch p-Kresol, Phenol, peptidartige Tyrosinverbindungen oxydiert werden (*Bertrand*, *Chodat* und *Staub*, *Abderhalden* und *Guggenheim*).

Auch im Tierreich sollte die Tyrosinase weit verbreitet sein, z. B. im Darms des Mehlwurmes (*Biedermann*), in der Haut von *Rana esculenta* (*Phisalix*), in der Hämolymphe von Schmetterlingspuppen [*von Fürth* und *Schneider*¹⁹⁾], in Cephalopoden (*Przibram*, *Gessard* und *Weindl*) vorkommen.

O. von Fürth und *Hugo Schneider* meinen, daß die Melaninbildung in der Haut zusammenhängt mit der Wirkung einer Tyrosinase, außerdem hatten *Salkowski* und *Martin Jacoby* gezeigt, daß in tierischem Gewebe große Mengen Tyrosin bei der Eiweißautolyse entstanden.

Wenn auch wir zugeben müssen, daß bei der Umwandlung vom Tyrosin unter dem Einfluß einer Tyrosinase melaninartige Produkte (also künstliche Melanine) entstehen, so fehlt noch der Beweis völliger chemischer Gleichheit dieser künstlichen Melanine mit dem natürlichen menschlichen Melanin. Ähnlichkeit bedeutet keine Gleichheit. In seiner letzten Arbeit bespricht *von Fürth*²⁰⁾ noch die Möglichkeit, daß Tyrosin wie Tryptophan die Mutterstoffe des Melanins bilden und versucht er diese Behauptung in Einklang zu bringen mit den Untersuchungen *Bruno Blochs*, indem er auf den chemischen Zusammenhang des Tyrosins (Mono-oxyphenylalanin) mit dem Di-oxyphenylalanin (von *Bloch* Dopa genannt) und dem Adrenalin deutet. Vergleichende biologische Untersuchungen haben befruchtend auf die Melaninfrage gewirkt; das Verdienst der Untersuchungen *von Fürths*

und seiner Mitarbeiter ist darin gelegen, daß sie erschienen in der Zeit, als die hämoglobinogene Herkunft des Hautpigments (*S. Ehrmann*, 1885—1904) noch allgemeine Anerkennung fand. Diese Untersuchungen lenkten die Aufmerksamkeit der verschiedenen Forscher in eine andere Richtung.

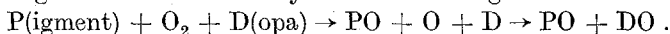
Drittes Verfahren. Seit 1917 haben die Untersuchungen *Bruno Blochs* und seiner Mitarbeiter großes Aufsehen erregt. *Bloch*^{21) 22) 23) 24)} meint eine bisher unbekannte, intracelluläre „spezifische“ Oxydase in den Zellen der Epidermis (*Stratum cylindricum* und Zellen der Haar-matrix) nachgewiesen zu haben. Er nennt diese Oxydase die Dopaoxydase, weil sie nur die 3,4-Dioxyphenylaminopropionsäure (kurzweg Dopa genannt) zu einem mehr oder weniger schwarzen, bräunlich-schwarzen Stoffe oxydieren könnte. Diesen Stoff nennt er das Dopamelanin. Er wies nach seinem Verfahren die eigenartigen Zellen in der Epidermis nach, von *Paul Langerhans*²⁵⁾ mit der Vergoldungsmethode entdeckt. Die Dopareaktion versagte in den Coriumzellen, in den sog. Chromatophoren. Diese Zellen sollten keine Dopaoxydase enthalten.

Wo *Bloch* die Fermentnatur der Dopaoxydase zu bestimmen versucht, läßt er auf die überlebenden Hautschnitte schädliche physikalische, chemische und physiko-chemische Einflüsse einwirken. Es ist jedoch zu bedauern, daß er zugleich auch das Protoplasma beschädigt, ja selbst vernichtet; wir können also den Einfluß der genannten Schädlichkeiten auf das „lebende“ Protoplasma einerseits und auf das vermutete Ferment andererseits nicht trennen. Diese Versuche sind meines Erachtens nicht für die Fermentnatur beweisend. Bekanntlich sind CHCl_3 und Toluol Protoplasmagifte, sie schädigen im allgemeinen die Fermente nicht. Nach den Untersuchungen *Blochs* jedoch sollte eben die Dopaoxydase eine Ausnahme bilden; Toluol sollte die Dopaoxydase schwer schädigen.

Von *F. Hoffmann-La Roche & Co.*, Basel, konnte ich das linksdrehende 3,4-Dioxyphenylalanin bekommen. Die Ergebnisse *Blochs*, soweit sie die Dopareaktion an der überlebenden, menschlichen Haut betreffen, kann ich vollkommen bestätigen. Jedoch möchte ich noch die folgende Beobachtung mitteilen. Immer sah ich, daß auch im *Stratum granulosum* und *lucidum* Dopamelanin gebildet wurde. In den Abbildungen *Blochs* in seiner Arbeit der Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 5, Heft 4/5 und 6. 1917 auf Tafel IV fand ich ganz objektiv die Erscheinungen wiedergegeben, welche ich soeben mitgeteilt habe (besonders Abb. 3 der genannten Tafel); *Bloch* erwähnt sie in seiner Arbeit nicht.

Nicht ohne Widerspruch sind die Untersuchungen *Blochs* geblieben. Besonders hat *K. Heudorfer*²⁶⁾ seine Stimme gegen die Spezifizität der Dopaoxydase erhoben. Er zeigte, daß gekochte Haut noch die Dopareaktion ergibt; Pyrocatechin und Pyrogallol (Lösungen von 1 : 3000 und 1 : 15000) geben ebenso eine Schwarzfärbung mit den Epidermiszellen.

Heudorfer führt zur Erklärung dieser Erscheinungen eine andere Hypothese an. Es werde durch die reduzierende Wirkung des Pigments und seiner Vorstufen das Sauerstoffmolekül gespalten; das freie Atom könne sogleich einen leicht oxydablen Stoff angreifen.



Es ist selbst möglich, daß $PO + D \rightarrow P + DO$.

Die Silber- und Dopareaktion kommen an der gleichen Stelle und in derselben Intensität vor.

Diese Behauptung ist nach meinen Untersuchungen nicht richtig, denn die Chromatophoren im Corium zeigen eine schöne Silberreaktion, brauchen jedoch im allgemeinen keine Dopareaktion zu geben.

Die Dopareaktion sollte auch ausbleiben nach vorhergehender Bleichung des Melanins mittels Wasserstoffsuperoxyd.

Noch ein Bedenken habe ich dieser Hypothese gegenüber. Wie müssen wir die starke Dopareaktion der *Langerhansschen* Zellen der Epidermis erklären, da diese Zellen doch nie das Pigment beherbergen? Durch die Gold-, Silber- und Dopareaktionen machen wir erst diese Zellen sichtbar.

*P. Rondoni*²⁷⁾ hat im Anschluß an die Beobachtung von *Angelis*, daß eine verdünnte Pyrrollösung mit überlebendem, organischem Materiale (Kartoffeln) zusammengebracht, ein schwarzes Pigment gibt, Gefrierschnitte überlebender Meerschweinchen- und Kaninchenhaut mit einer solchen Lösung bei 37–40° während 24 Stunden behandelt. Eine braune Verfärbung trat in den Zellen der Haarzwiebeln und Epidermis auf, sie war jedoch der Dopareaktion an Intensität nicht gleich. Die Intensität nahm zu durch Hinzufügung einer Lösung von $Fe_2(SO_4)_3$. Einige Tage nach der Einspritzung einer Pyrrollösung unter die Haut eines Tieres färbten die Epidermis und Haarzwiebeln sich in der Umgebung schön braun. Anstatt Pyrrol nahm *Rondoni* α -Pyrrolcarbonsäure: die Ergebnisse waren noch schöner und konstanter*). Pyrrol polymerisiert ganz leicht.

Wenn ich diese Untersuchungen zusammenfasse, so ergibt sich daraus folgendes: Es gibt keine „spezifische“ Dopaoxydase, vielmehr haben die Untersuchungen der Forscher uns gelehrt, daß wir es mit einer allgemeinen Tätigkeit des Hautepithels zu tun haben: das Hautepithel besitzt das Vermögen, auf leicht oxydable und kondensierbare (polymerisierbare) organische Stoffe einzuwirken (vgl. Dopa, Pyrocatechin, Pyrogallol und Pyrrol).

Eine Bemerkung möchte ich noch an dieser Stelle machen. Man sei vorsichtig mit der Beurteilung histochemischer Versuche. Man arbeitet in einer komplizierten chemischen Umgebung. So ist z. B.

*) Wünschenswert ist es, die Untersuchungen *Rondonis* auch auf menschliche Haut auszudehnen.

die Alkalinität des Gewebes für die Dopareaktion von großer Bedeutung. Die wäßrige Dopalösung wird mit einer Spur Alkali anfänglich schwachgrün und innerhalb 2 Stunden fast schwarz. Dopa als Pyrocatechinderivat zeigt deshalb eben in einer alkalischen Umgebung sein starkes reduzierendes Vermögen. Die Zeit, worin sich bestimmte chemische Reaktionen in Gewebeschnitten abspielen, kann bedeutend wechseln.

Viertes Verfahren. Was lehrt uns die Farbstoffchemie über den Zusammenhang zwischen Farbe und chemischer Konstitution organischer Verbindungen und inwiefern geben uns, mit dieser Wissenschaft bewaffnet, die chemischen Eigenschaften der Mutterstoffe des Pigments und des Melanins selbst eine Einsicht in die Struktur des Moleküls?

Zur besseren Verständigung möchte ich ganz kurz die Ergebnisse, welche ausführlich in der zweiten Abteilung erörtert werden, jetzt mitteilen. Es zeigt sich bei der postmortalen Hautpigmentierung, daß die gebildeten Melaninteilchen sich in dem Stratum cylindricum und spinosum befinden, daß diese Teilchen mikrochemisch identisch mit den intravital gebildeten sind. Sauerstoff ist unbedingt notwendig für die postmortale Melaninbildung, die Mutterstoffe des Melanins sind leicht oxydable Verbindungen. Es ist uns auch gelungen, die in den Zellen vorhandenen Mutterstoffe mit der Silbernitratlösung nachzuweisen.

L. Schreiber und *P. Schneider*³⁰⁾ haben mit der Methode von *Levaditi* und *Bertarelli* in der Uvea eines 33 Wochen altenluetischen Foetus die Stromazellen, welche sich gegen das Ende der Schwangerschaft pigmentieren, schön durch den Silberniederschlag darstellen können. In den albinotischen Augen von Kaninchen gelang es ihnen nicht, nach diesem Verfahren einen Silberniederschlag zu erzeugen. Zu Recht meinten diese Forscher, die farblosen Mutterstoffe des Pigments dargestellt zu haben. Diese Untersuchungen haben sie auf die Haut ausgedehnt, meinten jedoch im Stratum spinosum „möglichen“ farblosen Abbauprodukten des Melanins auf die Spur gekommen zu sein. (Nach der Entfernung des Silberniederschlags im Stratum spinosum durch die *Lugolsche* Lösung und 10 proz. Fixiernatronlösung fanden sie keine Melaninteilchen, das ganze Präparat war übrigens von Silberniederschlägen frei.) Daß es Abbauprodukte sein sollten, möchte ich auf Grund meiner Untersuchungen über die lymphogene Pigmentverschleppung [*G. O. E. Lignac*³¹⁾] bezweifeln. Außer der Anwesenheit braunen Hautpigments in den Leistenlymphdrüsen normaler Menschen, habe ich noch an dieser Stelle gelbliche Pigmentteilchen nachweisen können, welche die Silbernitratreaktion nicht ergaben, obgleich diese Teilchen sich wohl durch das Wasserstoffperoxyd fast ganz entfärbten. In diesen Lymphdrüsen haben wir also Hautpigment und ein Abbauprodukt desselben, das eben die Eigenartigkeit einer negativen Silber-

reaktion zeigt (s. S. 392 dritte Phase des Melanins). Wir haben in dem Stratum spinosum mit derselben Erscheinung zu rechnen wie in der Uvea, nämlich mit der Eigenschaft farbloser Mutterstoffe, Silber aus Silberverbindungen frei zu machen. 24stündige Behandlung von Hautschnitten mit einer wäßrigen 1proz. AgNO_3 -Lösung gibt die gleiche Erscheinung. *Lubarsch* hat auch schon betont, daß man mit der AgNO_3 -Lösung mehr als allein das Melanin in den Epithelzellen aufweist. *Lubarsch* sprach auch schon von „ungefärbten Vorstufen“.

Die Versuche *Schreibers* und *Schneiders* habe ich wiederholt, indem ich Gefrierschnitte menschlicher Haut, wovon ich wußte, daß sie postmortal recht schöne Pigmentierung zeigte, während 24 Stunden bei Zimmertemperatur und im Dunkeln mit einer 1proz. wässrigen AgNO_3 -Lösung zusammenbrachte. Mikroskopisch sah ich im Stratum spinosum (dieses Gebiet der Epidermis ist eigentlich nur für eine scharfe Beobachtung geeignet, man wird hier nicht von zahllosen Pigmentteilchen belästigt wie im Stratum cylindricum; außerdem müssen die Schnitte mindestens $10\ \mu$ dick sein) einmal unzweideutig einen Silberniederschlag in den Zellen nach Hinzufügung einer wässrigen 0,4proz. KCN-Lösung verschwinden, ohne daß auch ein winziges Melaninteilchen dafür verantwortlich gemacht werden konnte.

Die KCN-Lösung löst das Silber schnell und vollständig auf, es bildet sich AgK(CN)_2 , das in Wasser leicht löslich ist.

Was nun die Abbauprodukte des Melanins anbetrifft, möchte ich auf meine Beobachtung an den Leistenlymphdrüsen zurückkommen. Es war der Beweis erforderlich, daß die gelblichen Pigmentteilchen, welche keine Silberreaktion gaben, aber wohl durch Wasserstoffperoxyd gebleicht wurden, z. B. durch oxydativen Abbau, aus dem Hautmelanin entstanden. Dazu nahm ich die stark pigmentierte Haut eines Maduresen (von der Insel Madura in Niederländisch-Indien). Ich konnte bei dem oxydativen Abbau durch H_2O_2 die dunkelbraunen Melaninteilchen zu gelblichen entfärben, die letzteren zeigten bei nachfolgender Behandlung mit der Silbernitratlösung keinen Silberniederschlag und wurden bei fortgesetzter Oxydation durch H_2O_2 fast gänzlich entfärbt. Damit habe ich wenigstens die Möglichkeit eines oxydativen Abbaus der in die regionären Lymphdrüsen verschleppten Hautmelaninteilchen an Ort und Stelle erwiesen.

Nach diesen notwendigen Auseinandersetzungen möchte ich die ganze Pigmentierung in vier Phasen einteilen*):

Die *erste Phase* ist die der farblosen Vorstufen. Die Mutterstoffe des Hautmelanins sind bisher unzweideutig in den Epithelzellen der Epidermis gezeigt. Über ihr Vorkommen in den Coriumzellen ist man nicht einig. Die Mutterstoffe sollten aus den Kernen der Zellen (pyrenoide Kernsubstanz, *E. Meirowsky*) stammen. Chemisch sind diese Mutterstoffe gekennzeichnet durch ihre Sauerstoffaffinität; postmortal

*) *Natura non facit saltus*. Teile ich also den Pigmentierungsvorgang ein, so tue ich das der Übersicht wegen.

binden sie sich mit dem atmosphärischen Sauerstoff (S. 401), diese Oxydation können wir durch Erwärmung (56°, Temperatur des Paraffinofens) beschleunigen, bei Zimmertemperatur reduzieren sie eine Silbernitratlösung. Durch Oxydation entstehen aus diesen farblosen Vorstufen gefärbte Teilchen.

Die *zweite Phase* ist die der gefärbten Teilchen, welche sich nicht nur in der Epidermis, sondern auch in der Cutis und den regionären Lymphdrüsen der Haut vorfinden. Chemisch kennzeichnet sich dieser Farbstoff durch die Reduktion einer Silbernitratlösung, eine Eigenschaft, welche das Melanin noch mit seinem Mutterstoffe gemein hat. Weiter widersteht das Melanin der Oxydation im Paraffinschrank, nicht aber der einer Wasserstoffsuperoxydlösung (im allgemeinen eines energischen Oxydations- oder Bleichungsmittels). Das Melanin widersteht überhaupt der Einwirkung von Säuren und Alkalien, eine wichtige Eigenschaft, welche uns eine Einsicht in den chemischen Vorgang gibt, nämlich daß die Farbstoffbildung nicht nur durch Oxydation, sondern auch durch Polymerisation (bzw. Kondensation) einfacher Moleküle stattfindet.

Die *dritte Phase* ist die des oxydativen Abbaues und von mir bisher nur in den regionären Lymphdrüsen der Haut festgestellt (l. c.). Diese Phase ist bisher noch nie in der Haut, Epidermis und Cutis nachgewiesen. Künstlich können wir diese Abbauprodukte aus dem Melanin durch gelinde Oxydation darstellen; diese Farbstoffteilchen können weiter gebleicht werden, reduzieren eine Silbernitratlösung jedoch nicht mehr. Eine Antwort auf die Frage, ob aus dieser dritten Phase die zweite z. B. durch Reduktion wieder hergestellt werden kann, muß ich noch unbeantwortet lassen. Es ist mir bisher nicht gelungen, durch energische Reduktion das Melanin wieder zurückzugewinnen.

Die *vierte Phase* ist die der farblosen Abbauprodukte, welche wir künstlich durch fortgesetzte Oxydation mit H_2O_2 schließlich bekommen. Hierüber sind wir histochemisch schlecht unterrichtet. Insofern diese Produkte noch im Gewebe anwesend sind, reduzieren sie eine Silbernitratlösung nicht.

Was ich nun über das Verhalten der Silbernitratreaktion den verschiedenen Phasen des Hautpigments gegenüber betont habe, gilt wahrscheinlich auch für die OsO_4 -Reaktion. R. Ledermann hat gezeigt, daß die meisten Melanine OsO_4 zu reduzieren vermögen. Das „Abnutzungs“pigment im Herzmuskel und Epithel der Samenbläschen tut es aber auch. Bisher sind wir nur durch die Silberreaktion imstande das Melanin von den anderen Pigmenten chemisch zu unterscheiden. Bei der Behandlung mit OsO_4 haben wir folgendes zu beachten: Die Reduktion kann direkt geschehen, z. B. durch das Stratum corneum der Epidermis (es sind, wie Weidenreich gezeigt hat, keine Fette) und das Fettgewebe (besonders wenn Oleine anwesend sind). Wir nennen das *primäre Osmierung*. Es gibt jedoch auch Stoffe, welche erst durch vorhergehende Behandlung eine OsO_4 -Lösung zu reduzieren vermögen (*sekundäre Osmierung*). Das Melanin zeigt letztere Eigenschaft.

Barlow und *Dreysel* bewiesen, daß das Melanin im Gegensatz zum Fett diese Eigenschaft verlor, wenn das Melanin vorher der Einwirkung von Chromsäure (*Müller*-scher Flüssigkeit) ausgesetzt wurde. Chromsäure ist ein kräftiges Oxydationsmittel, es ist nun begreiflich, daß das Melanin durch die Oxydation von der zweiten in die dritte Phase hinübergeführt wird und zugleich seine Reduktionskraft einbüßt.

Wie die Farbstoffchemie gezeigt hat, haben die gefärbten organischen Verbindungen Strukturähnlichkeiten. Die organischen Farbstoffe besitzen doppelte Bindungen fast jeder Art. Diese Verbindungen sind ungesättigt. Hebt man die zweifachen Bindungen auf durch Reduktion usw., so verschwindet die Farbe. Ob eine dreifache Bindung im Molekül dasselbe leistet, ist sehr wahrscheinlich (vgl. Dicyanhydrochinon). Diese ungesättigten Atomgruppen nennt *Witt* Chromophore: Es sind das ungesättigte Atomgruppen, welche gehäuft oder nicht gehäuft, an einer Phenylgruppe oder einwertigen aromatischen Radikalen oder Wasserstoff gebunden, Farbe erzeugen. *Kauffmann*^{28) 29)} unterscheidet die Chromophore in:

1. selbständige Chromophore, welche in Verbindung mit der Phenylgruppe oder anderen einwertigen aromatischen Radikalen oder mit Wasserstoff allein schon Farbe geben, wie z. B. die NO-Gruppe, und
2. unselbständige Chromophore, welche erst durch Häufung der bestimmten Atomgruppen oder durch Bindung an einen anderen, unselbständigen Chromophor Farbe erzeugen, wie z. B. die $>C=O$ -Gruppe.

Es hat sich weiter gezeigt, daß je inniger die unselbständigen Chromophore miteinander verbunden sind, desto schöner die Farbe ist.

Ein auch für unser Problem wichtiger, jedoch sehr unselbständiger Chromophor ist die Äthylengruppe $>C=C<$.

Man kennt noch die $-C=S-$, $-C=N-$, $-N=N-$, $-N_2O-$, $-N=O-$, NO_2- , $N=SO$ -Gruppen. Merkwürdig ist es, daß Schwefel-, Selen- und Tellurverbindungen auch als Chromophore auftreten können, ohne daß jedoch zweifache Bindungen bestehen. Insofern bedürfte die Theorie über den Zusammenhang zwischen Farbe und chemischer Konstitution noch einer Ausbreitung. Die SO_2 - und Carboxylgruppe würden auch noch chromophor sein.

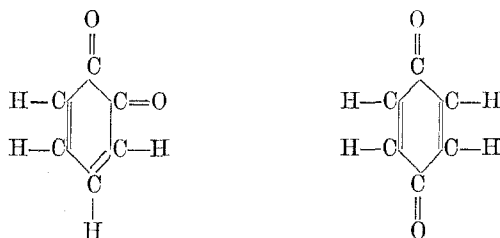
Ein einziges Wort will ich noch sagen über Chromogene und auxochrome Gruppen. *Witt* nennt ein Chromogen eine aromatische Verbindung eines Chromophors, die auxochrome Gruppe eine farbeverstärkende, die nach *Kauffmann* eine Atomgruppe ist, welche, ohne chromophore Eigenschaften zu besitzen, bei unmittelbarer Bindung mit dem Benzolring die Farbe eines Chromogens verstärkt. Man kennt zwei Haupttypen der auxochromen Gruppen, die Amino- und Hydroxylgruppe.

Nach dieser notwendigen kurzen Einleitung (für die ausführliche Darstellung siehe meine holländische Arbeit l. c.) wende ich mich zu einer Gruppe organischer Stoffe, welche auch für das Hautpigment-

problem von der größten Bedeutung ist. Ich meine die Chinone. Die Mutterstoffe der sehr einfach gebauten Chinone sind: das Ortho- und Para-dioxybenzol, das Pyrocatechin und Hydrochinon.

Das Meta-dioxybenzol oder Resorcin ist für die Chinonbildung ohne Bedeutung, theoretisch kann es kein (Meta-)Chinon bilden, praktisch ist es auch nie gezeigt.

Schon hier möchte ich auf die große Übereinstimmung zweier chemischer Eigenschaften der Ortho- und Para-dioxybenzole mit denen der Mutterstoffe des Melanins hinweisen. Das Pyrocatechin und das Hydrochinon, farblose Stoffe, sind imstande, in der Kälte eine Silbernitratlösung zu reduzieren, sie werden in alkalischer Umgebung sehr schnell oxydiert zu gefärbten Verbindungen, Chinonen; das Pyrocatechin und Hydrochinon sind lichtempfindlich. Wir finden im Orthochinon und Parachinon eine cyclostatische Konjugation von vier unselbständigen, chromophoren Gruppen, nämlich zwei Äthylen- und zwei Carbonylgruppen, wobei die zwei Carbonylgruppen an Ortho- und Parastelle stehen.



Orthochinon (rosa in der CHCl_3 -Lösung). Parachinon, kurz Chinon, hat eine gelbe Farbe.

Die Struktur dieser zweifachen Bindungen findet man zurück in einer ganzen Klasse gefärbter Stoffe; man nennt die Struktur zweifacher Bindungen in Ortho- und Parachinon chinoid.

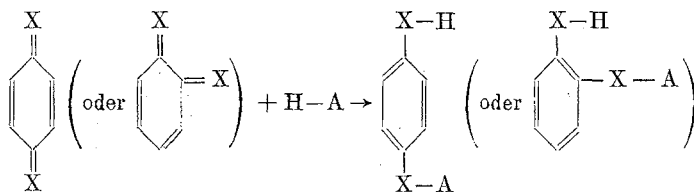
Die Oxydation der Dioxybenzole ist komplizierter als oben angegeben wurde. Es entstehen Polymerisationsprodukte; eben die Chinone neigen infolge ihrer hohen Ringspannung zur Polymerisation (*Nietzki, Scheid und Liebermann*). *Willstätter* hat es auch für die Orthochinone gezeigt.

Wieder möchte ich auf die Übereinstimmung dieses chemischen Vorgangs mit der Hauptpigmentierung hinweisen. Denn es hat sich herausgestellt, daß bei dem Übergang der ersten in die zweite Phase nicht nur die Oxydation eine Rolle spielt, sondern auch, zu urteilen nach der Resistenz des Melanins, eine Polymerisation (resp. Kondensation) einfach gebauter Moleküle stattgefunden hat.

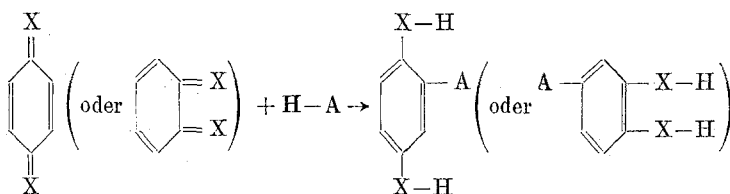
Polymerisation und Kondensation werden selbst in chemischen Arbeiten nicht immer scharf getrennt. Spreche ich also bei der Pigmentierung von Polymerisation, so deute ich wenigstens auf einen Vorgang, welcher große Ähnlichkeit

damit hat, ohne daß wir noch bis jetzt imstande sind, ihre charakteristischen Eigenschaften darzutun.

Bisher sind zwei Wege der Polymerisation chinoider Körper untersucht worden. *Arthur George Green*³²⁾ hat besonders die geradlinig fortschreitende Richtung der Polymerisation untersucht ($\begin{smallmatrix} C \\ C \end{smallmatrix} > C = O$); er betont auch, daß alle Chinone oder chinonartige Körper sehr ungesättigt sind. Er gibt auch an, wie die Kuppelung geschehen kann:

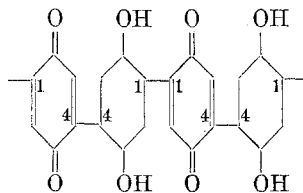


1. durch unmittelbare Addition.



2. durch mittelbare Addition.

*Hermann Suida*³³⁾ hat die Polymerisation der Chinone, welche durch Bindung der Kerne an der Parastelle stattfindet, eingehend untersucht. Es entstehen die Merichinone:



Merichinone.

Folgende Vermutung möchte ich noch äußern: Das Melanin, das Oxydationsmitteln gegenüber noch empfindlich ist und in der Kälte eine Silbernitratlösung reduziert, ist vielleicht den Merichinonen (*S. Suida*sche Formel) noch zuzurechnen. Das Melanin können wir schließlich mit Sauerstoff sättigen, wie die dritte Phase zeigt, welche eine gelbe Farbe besitzt und eine Silbernitratlösung jedoch nicht mehr reduziert. Endlich zerstört die fortdauernde Oxydation die großen Moleküle in einfacher gebaute. Die Moleküle des Melanins brauchen nicht alle aus einer gleichen Anzahl kondensierter oder polymerisierter Moleküle hervorgegangen zu sein, können jedoch aus verschiedenen

Polymerisations- bzw. Kondensationsstufen dieser chinoiden Stoffe bestehen.

Zusammenfassend möchte ich sagen, daß die Mutterstoffe des Hautmelanins leicht oxydable Stoffe sind (wir beschleunigen diese Oxydation durch Erwärmung auf 56° oder durch photochemische Strahlen, siehe auch zweite Abteilung), daß das Präpigment in der Kälte schon eine Silbernitratlösung reduziert, daß bei der Oxydation dieser farblosen Stoffe gefärbte Verbindungen entstehen, welche, nach der Resistenz verschiedenen Agentien gegenüber zu urteilen, aus großen Molekülen bestehen, nämlich durch Polymerisation (oder Kondensation) aus einfacher gebauten Molekülen geboren. Vergleichen wir diese chemischen Vorgänge der Hautpigmentierung mit dem Chemismus der Dioxybenzole und Chinone, so können wir eine große Verwandtschaft annehmen. Ich meine denn auch wahrscheinlich gemacht zu haben, daß das Molekül des Präpigments den aromatischen Körpern zugehört, daß wir darin zwei OH-Gruppen, in Ortho- oder Parastelle, antreffen. Besonders möchte ich hier noch betonen, daß das Molekül des Präpigments natürlich komplizierter ist, als hier angegeben ist.

Weil beim oxydativen Abbau des Melanins mittels H_2O_2 Chinone im Gewebe anwesend sein könnten, habe ich Gefrierschnitte erst mit H_2O_2 zusammengebracht, das Melanin in die dritte Phase hinübergeführt und schließlich die Schnitte mit konzentrierter Schwefelsäure und Alkalien behandelt. Chinone geben mit den letztgenannten Stoffen charakteristische Verfärbungen. Keine Veränderungen waren zu sehen. Eine alkoholische $(NH_4)_2S$ -Lösung reduziert Chinone, es entstehen dabei Chinhydrone mit charakteristischer Farbe; auch diese Reaktion blieb aus. Was ich schon von den histochemischen Reaktionen im allgemeinen gesagt habe, gilt natürlich auch für diese. Es fragt sich, ob die Chinone beim oxydativen Abbau im Gewebe verbleiben oder sich unserer Beobachtung durch Auswanderung entziehen.

Hugo Stoltzenberg und *Margarete Stoltzenberg-Bergius*³⁴) deuten auf die Möglichkeit der Entstehung von Pigment durch Oxydation und Polymerisation der Phenole zu Chinonen hin.

Noch will ich hier in bezug auf das Hauptpigment auf das Adrenalin hinweisen, ein Ortho-dioxybenzolderivat, und auf die Beobachtungen bei Ochronosis, Alkaptonurie und Melanosarkomatosis. Es hat sich herausgestellt, daß bei der Alkaptonurie die Homogentisinsäure (Hydrochinonessigsäure), also ein Dioxybenzolderivat, im Urin anwesend ist und die bekannten merkwürdigen Erscheinungen verursacht (*Wolkow* und *Baumann*). *Abderhalden* und *Falta* fanden denselben Stoff im Serum der Alkaptonuriker auf. Der Zusammenhang zwischen Alkaptonurie und Ochronosis (*Virchow*) wird einerseits angenommen (*H. Albrecht* und *C. Zdarek*), andererseits verneint [*L. Langstein*³⁵]. *Langstein* meint, daß bei der Ochronosis eine pathologische Melaninbildung im Spiel ist; *Hueck* (l. c.) deutet auf die Verwandtschaft zwischen

Melanin und dem Pigment der Ochronosis. Neulich hat *M. Weiss*³⁶⁾ gezeigt, daß das im Urin anwesende Melanogen eines Falles von Melanosarkomatosis ein Pyrocatechinderivat war.

Noch in anderer Beziehung würde die genaue Kenntnis der chemischen Konstitution des Hautpigments wichtig sein. Würde das Hautpigment wirklich die Eigenschaft der Fluoreszenz besitzen, so könnte das vielleicht aus seiner chemischen Struktur erhellen. *Richard Meyer*³⁷⁾ ist der erste gewesen, der auf den Zusammenhang zwischen Fluoreszenz und chemischer Konstitution organischer Verbindungen hingewiesen hat. Für eine ausführliche Darstellung möchte ich auf die Arbeit *Kauffmanns*³⁸⁾ hinweisen, nur noch dieses hervorheben, daß *Kehrmann* besonders die Wichtigkeit der sehr verbreiteten, stark fluoreszierenden, orthochinoiden Fluorogene betont hat.

Zweite Abteilung.

Die Biologie der Hautpigmentierung ist durch die Arbeiten *Meirowskys* wesentlich gefördert worden. Ihm gebührt das Verdienst, die Wichtigkeit der Hautpigmentierung außerhalb des menschlichen Körpers verstanden zu haben.

*Meirowsky*³⁹⁾ erzielte Hautpigmentierung nicht nur an Hautstückchen des lebenden menschlichen Körpers, sondern auch an den Leichen (jedoch gelang es nur in 5 der 18 untersuchten Fälle) entnommenen. Seine Methode gestaltet sich folgendermaßen: Die Hautstückchen werden in Gaze gelegt und mit einem Pfropfen in solcher Weise in einem zu zwei Dritteln mit Wasser gefüllten Reagensglas befestigt, daß das Hautstückchen gerade über der Oberfläche des Wassers hängt. Das Röhrchen wird weiter in den Paraffinschrank (56°) gebracht; Kontrollstückchen werden stets auf Eis gehalten.

Die Hautstückchen zeigen nach 1—2—3 Tagen Aufenthalt im Paraffinofen öfters eine intensive Schwarzfärbung (im Vergleich immer mit den Kontrollstückchen). Die physiologisch stark pigmentierten Hautstückchen (z. B. Praeputium) sind zur Untersuchung am besten geeignet. Auch wenn die Verfärbung makroskopisch gleichmäßig zu sein scheint, so ist die Pigmentierung mikroskopisch deutlich ungleichmäßig. Nicht nur finden sich die gebildeten Pigmentteilchen in den Epidermiszellen, sondern es sind auch die Coriumzellen nach *Meirowsky* hyperpigmentiert. Nach *Meirowsky* werden die Pigmentteilchen in den genannten Zellen selbständig, ohne Veränderung und Aufnahme von Blutfarbstoff gebildet. Für die Frage nach der Entstehung des Hautpigments äußerst wichtige Tatsachen!

Meirowskys Untersuchungen sind vielfach bestätigt und ausgedehnt worden. *Hans Königstein*⁴⁰⁾ sah die Pigmentierung noch auftreten nach dem Aufbewahren der Haut in Formalin oder nach dem Kochen der-

selben in Wasser. Verfärbung sollte jedoch ausbleiben an Stückchen in physiologische NaCl-Lösung oder in Cadmiumchlorid gelegt. Nach *Meirowskys* Methode sollte sich die Haut von Fröschen, Hunden und Katzen nicht immer verfärben (*Leiserowitsch*). Unpigmentierte Teile melanotischer Hautgeschwülste sollten bei 56° Pigment produzieren (mikrochemisch dem Melanin ähnlich, *Stein*); nach *Bauer* sollten nur Hautstückchen von *Nephritischen* das Phänomen von *Meirowsky* zeigen. In der letzten Zeit haben *K. Neubürger*⁴¹⁾ und *K. Heudorfer* (l. c.) die Versuche wiederholt und erweitert.

Neubürger zeigte, daß sich die Hautpigmentierung noch einstellte, obgleich die Haut in 10proz. Formalin fixiert wurde. Starke, sog. „postmortale“ Pigmentierung sah er an den Hautstückchen physiologisch schon kräftig pigmentierter Stellen, an der Haut eines der *Addison*schen Krankheit erlegenen Menschen, an *Röntgen*- und *Sonnenstrahlen* vorher ausgesetzter Haut.

Im Gegensatz zu *Meirowsky* und *Königstein* sah *Neubürger* keine mikroskopischen Zeichen der postmortalen Pigmentbildung in der Cutis. Folgenden Versuch hat er noch zur Beantwortung dieses Streitpunktes angestellt: Er nahm die Scrotalhaut eines Säuglings und streifte die Epidermis von der Cutis ab (wie er das getan hat, meldet er nicht). In der Cutis sah er nach dem Aufenthalt im Paraffinofen keine Spur einer Pigmentbildung. Er beobachtete das zweimal.

Endlich hat *Neubürger* als erster experimentell die Frage zu beantworten versucht, ob der Sauerstoff bei dieser postmortalen Pigmentbildung eine Rolle spielt. Dreimal hat er gezeigt, daß beim Sauerstoffmangel die Hautstückchen unter übrigens denselben Bedingungen sich im Paraffinofen nicht pigmentierten. *Neubürger* faßt die postmortale Pigmentierung als eine Oxydation auf. In reicher Sauerstoffumgebung sollte die Hyperpigmentierung sehr stark sein.

Eigene Untersuchungen. Die ursprünglichen Versuche *Meirowskys* habe ich, wie im folgenden berichtet wird, modifiziert. Die Erwärmung bis 56° an und für sich ist schon imstande, eine derartige Schrumpfung an den Hautstückchen zu verursachen, daß die Erwägung, daß durch einfache Schrumpfung eine übrigens gleiche Masse Pigment, über eine kleinere Oberfläche verteilt, schon den Eindruck einer Hyperpigmentierung erwecken kann, mich veranlaßte zur Vorbeugung genannter Schrumpfung (*Winternitz* hat dies übrigens auch schon betont). Es ist mir in folgender Weise gelungen: Die Hautstückchen wurden mindestens 2×24 Stunden, straffgespannt und festgestochen auf einen Kork, in 4proz. Formalin oder 96proz. Alkohol fixiert; dann wickelte ich die Hautstückchen in Gaze und sorgte dafür, daß die Subcutis immer mit der Oberfläche des im Reagensglas befindlichen Wassers in unmittelbarer Berührung stand; man erreicht dies durch regel-

mäßige Hinzutröpfelung von Wasser während des Versuchs. Auch wurde die Einwirkung photochemischer Einflüsse während des Versuchs ausgeschlossen.

Die Hautstückchen wählte ich immer aus drei Regionen der Leichenhaut, es waren immer die ventralen Teile (man hat hier blutarmer Haut und wird nicht von postmortalem Blutfarbstoffaustritt belastigt). Für jeden Versuch entnahm ich drei Stückchen aus der Haut der Areola mammae (pigmentreich), des Leibes (pigmentarm) und des Scrotums bzw. der Labia majora. Immer verglich ich nach bestimmter Zeit die im Paraffinofen (56°) aufbewahrten Hautstückchen sowohl makroskopisch wie mikroskopisch mit Hautstückchen symmetrischer Körperstellen entnommen, in gleicher Weise vorbehandelt wie die Versuchshaut und in 4proz. Formalin oder 96proz. Alkohol, vom Licht abgeschlossen und bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

In den 16 willkürlich gewählten Fällen trat makroskopisch *immer* Braun-, ja bisweilen Schwarzfärbung auf. Es war gleichgültig, wie lange nach dem Tod die Haut entfernt wurde (die kürzeste Zeit der Entfernung p. m. war 3 $\frac{1}{2}$ Stunde, die längste 32 Stunden). Das Maximum der Hautverfärbung wurde bei vorhergehender Fixierung in 4proz. Formalin erst nach 3 Tagen erreicht, bei der Alkoholfixierung schon nach 24 Stunden. Einen gewissen Einfluß auf die künstliche Hautpigmentierung hat also die Fixierflüssigkeit.

Geschlecht und Alter spielten anscheinend keine Rolle. Die Hautstückchen wurden 6 männlichen (Alter: 13, 15, 44, 50, 54 und 61 Jahre) und 10 weiblichen (Alter: 1 Monat, 16 Monate, 23, 27, 30, 33, 37, 41, 58 und 85 Jahre) Leichen entnommen.

In 5 Fällen bekam ich schöne Erfolge. Die schon stark pigmentierten Hautstückchen zeigten nach dem Versuch eine fast schwarze Farbe. Diese Hautstückchen stammten von Leichen vierer Wöchnerinnen und eines an Morbus Addisonii Verstorbenen.

Die Farbenunterschiede waren nach dem Versuch deutlicher bei pigmentreichen als bei pigmentarmen Hautstückchen.

Nach diesen Ergebnissen möchte ich zu folgender Fragestellung übergehen: Auf was beruht die Verfärbung beim *Meirowskyschen* Versuche? und wenn es eine wirkliche „postmortale“ Pigmentbildung ist, wo hat sich das Pigment gebildet? und schließlich: Ist das Pigment auch physiko-chemisch mit dem normalen, zeitlebens gebildeten Pigment identisch?

Auf diese Fragen können uns die histologischen und histochemischen Untersuchungen Antwort geben.

Wir schnitten die Hautstückchen mit dem Gefriermikrotom, legten die Schnitte zur Entwässerung in 96proz. Alkohol, machten sie durchsichtig in Carbolxylol, um sie dann ungefärbt miteinander zu vergleichen.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war folgendes: Die Farbunterschiede konnten wir nur der Bildung und Anhäufung braungefärbter Teilchen im Stratum cylindricum und bei makroskopisch schon deutlicher Pigmentierung selbst der Anhäufung von Pigmentteilchen im Stratum spinosum bis an das Stratum granulosum zuschreiben. Die Pigmentteilchen im Stratum spinosum umgeben die Kerne wie Kämpchen und am deutlichsten ist die Anhäufung an dem distalen, d. h. der Hautoberfläche zugerichteten Pol.

Können wir also durch gegenseitige Vergleichung die Bildung und Anhäufung von Pigmentteilchen im Stratum cylindr. und spinosum feststellen, schwieriger und unsicherer ist es für die vielleicht eintretende Bildung und Anhäufung solcher in der Cutis.

Über die Herkunft und Funktion der Pigmentteilchen enthaltenden Zellen (Chromatophoren) in der Cutis sind wir schlecht unterrichtet. Es sind diese Chromatophoren, welche den Angelpunkt des ganzen Pigmentstreits bilden [*A. Jesionek*⁴²⁾]. Die Pigmentteilchen, welche sich in den Chromatophoren befinden, unterscheiden sich nur durch ihre Größe von den Pigmentteilchen in der Epidermis. Sie sind größer, zeigen jedoch mikrochemisch vollständige Übereinstimmung mit den Melaninteilchen und sind deshalb auch als Melanin zu betrachten. Die Verteilung der Chromatophoren in der Cutis ist unregelmäßig und diesem Umstand ist es zuzuschreiben, daß die Deutung der Befunde verschiedener Forscher noch unsicher ist. Jedenfalls sehen wir die Chromatophoren in größerer Anzahl in pigmentreicher als in pigmentarmer Haut. Grobschematisch möchte ich zwei Gruppen dieser Chromatophoren in der Cutis unterscheiden, nämlich eine Gruppe vorwiegend im Stratum papillare und eine andere im Stratum reticulare der Lederhaut. Die Chromatophoren liegen an der Grenze zwischen Stratum cylindricum und Lederhaut, mit ihrer Längsachse dieser parallel oder senkrecht darauf, oder sie umspinnen mit ihrem Körper und Fortsätzen das Endothel von Blut- und Lymphcapillaren. *Neubürger* hat als erster versucht, die Frage dieser Pigmentierung in der Lederhaut in besonderer Weise zu lösen. Seine Versuche habe ich abgeändert und ich bin von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Epidermis ein Hindernis bilden könnte für den Zutritt des Sauerstoffs in die Lederhaut. Es ist nämlich, wie *Neubürgers* und meine Versuche (S. 401) gezeigt haben, die Anwesenheit von Sauerstoff unbedingt notwendig für die Bildung des Hautmelanins. Mit einem scharfen Messer wurden kleine Epidermisstückchen von der fixierten Haut (an dieser gelingt es ganz gut) abgeschabt; es wurde dafür Sorge getragen, daß der Verlust an Lederhaut so gering wie möglich war. In derartig behandelten Hautstückchen wurde nach dem Paraffinofenversuch niemals eine Bildung und Anhäufung von Pigmentteilchen in den Zellen der Lederhaut oder außerhalb dieser Zellen festgestellt.

Mikroskopisch war ich imstande, in demselben Hautschnitt die von der Epidermis noch geschützte und die entblößte Lederhaut miteinander zu vergleichen.

Aus den oben genannten negativen Ergebnissen meiner Versuche, obgleich die Bedingungen in der Lederhaut übrigens dieselben waren wie für die Epidermis, möchte ich folgern, daß in der Lederhaut kein Melanin gebildet wird.

Daß Sauerstoff unbedingt notwendig ist für die Melaninbildung, glaube ich in folgender Weise gezeigt zu haben, und ich bestätige damit die Versuchsergebnisse *Neubürgers*. Ich nahm Hautstückchen, welche das Phänomen von *Meirowsky* schön zeigten. Es waren pigmentreiche Hautstückchen des Scrotums und der Labia majora. Zu jedem Versuch wurden 5 gleiche Stückchen genommen, 3 davon legte ich so in schräggestellten, zu einem Drittel mit ausgekochtem Wasser (kein Sauerstoff) und weiter mit CO_2 , N_2 oder O_2 gefüllte Reagensröhrchen, daß die Subcutis fortwährend in Berührung mit dem Wasser blieb, so daß Austrocknung und Schrumpfung verhütet wurden. Es wurden die Reagensgläser mit CO_2 , N_2 oder O_2 gefüllt, indem das Gas in das mit ausgekochtem Wasser ganz gefüllte und umgekehrt in ausgekochtem Wasser sich befindende Reagensglas einströmte, bis das Wasser zu zwei Dritteln durch das Gas verdrängt worden war. Nachdem das Hautstückchen unter Wasser in das Reagensglas gebracht war, wurde das Glas auch wieder unter Wasser mit einem Gummistöpsel geschlossen. Endlich wurde um den Stöpsel und den obersten Teil des Reagensglases herum ein Käppchen von Schellack gemacht. Das vierte Hautstückchen wurde einfach wie für den gewöhnlichen *Meirowsky*schen Versuch behandelt. Das fünfte Hautstückchen diente zur Vergleichung (Kontrollhaut). Die 4 Hautstückchen wurden schließlich in den Paraffinofen gesetzt und verweilten da 3×24 Stunden. Diese Versuchsanordnung wurde dreimal wiederholt und jedesmal die folgende Tatsache festgestellt, daß die Verfärbung eintrat, wenn Sauerstoff anwesend war und ausblieb in der CO_2 - oder N_2 -Umgebung. Von einer stärkeren Steigerung der künstlichen Pigmentierung in einer reinen Sauerstoffumgebung, wie *Neubürger* das angibt, erhellte aus diesen Versuchen nichts. Die Pigmentbildung außerhalb des menschlichen Körpers ist also eine Oxydation.

Unterscheiden sich die beim Paraffinofenversuch gebildeten Pigmentteilchen von den intravital gebildeten? Bemerken möchte ich, daß es uns nicht möglich ist, im Schnitte die künstlich erzeugten Pigmentteilchen anzugeben. Nach Form, Größe und Farbe besteht also kein Unterschied, jedoch muß chemische Übereinstimmung noch gezeigt werden. Wie im Anfang dieser Arbeit schon betont worden ist, können wir die Melaninteilchen durch zwei Reaktionen genügend identifizieren,

nämlich durch die Oxydation und die Silbernitratreaktion. Diese zwei Reaktionen wurden immer an den Schnitten der künstlich pigmentierten Haut ausgeübt und außerdem die Resistenz der Pigmentteilchen Säuren und Alkalien gegenüber geprüft. In dieser Weise verfahren, wurde auch in chemischer Hinsicht niemals ein Unterschied zwischen den Pigmentteilchen untereinander nachgewiesen. Nicht nur morphologisch, sondern auch chemisch sind die künstlich in der Epidermis erzeugten Pigmentteilchen den intravital gebildeten vollkommen ähnlich.

Noch habe ich mir die folgende Frage gestellt: Ist es möglich, durch eine andere Energie als die Wärme die künstliche Pigmentierung zu erzeugen? Geeignet dafür erschienen die ultravioletten Strahlen, und zwar das Quarzlicht der Kromayerschen Lampe. Diese Quarzlampe bietet zwei Vorteile:

1. Ihre Armut an Wärmestrahlen (wir beschleunigen die künstliche Pigmentierung eben durch den Wärmezutritt);
2. ihren Reichtum an chemisch wirksamen Strahlen.

Meirowsky hat nur ein einziges Mal in vom Körper entfernten „überlebenden“ Hautstückchen Pigment durch Quarzlicht erzeugen können.

Die Vorbehandlung der Haut in folgenden Versuchen war genau dieselbe wie in der vorigen Versuchsreihe, nämlich die Vorfixierung in 4proz. Formalin, in 96proz. Alkohol usw., es wurde außerdem gekochte Haut (10, 15, 20 und 30 Minuten gekocht) und die Haut eines an Morbus Addisonii Verstorbenen, fixiert und während einem Jahr in 4proz. Formalin aufbewahrt, der Strahleneinwirkung ausgesetzt.

Nur ein gewisser Teil der Hautstückchen wurde dem Quarzlicht ausgesetzt, dadurch konnten schon geringe Farbenunterschiede beobachtet werden. Man erzielt das durch Bedeckung des Hautstückchens mit einem kupfernen (oder Papp-) Plättchen, worin ein Kreuz, rundes Loch oder Quadrat ausgeschnitten ist. Während des Versuchs wurden die Hautstückchen jede 5 oder 10 Minuten mit 96proz. Alkohol oder 4proz. Formalin befeuchtet, damit Austrocknung oder möglicher Temperaturerhöhung vorgebeugt wurde. Parallel mit der Lampe in einer Entfernung von ± 5 cm wurden die Hautstückchen aufgestellt.

Die Ergebnisse findet man in den 5 Abbildungen. In der ersten Abbildung findet man das Resultat der Strahleneinwirkung auf ein Hautstückchen in 96proz. Alkohol während 40 $\frac{1}{2}$ Stunden fixiert. Schon innerhalb 1 Stunde trat nach der Bestrahlung eine deutliche, braune Verfärbung auf, nach 6 Stunden war das zentrale Kreuz und der periphere Teil, der sich außerhalb der bedeckenden kupfernen Platte befand, dunkelbraun gefärbt. Die Ergebnisse waren im allgemeinen schön zu sehen, wenn auch die Hautstückchen 4 Wochen lang in 96proz.

Alkohol, 4proz. Formalin oder wechselweise in der einen und der anderen Flüssigkeit vorher aufbewahrt wurden.

In der zweiten Abbildung ist das Ergebnis der Strahleneinwirkung auf gekochte Haut wiedergegeben. Die Hautstückchen wurden sofort

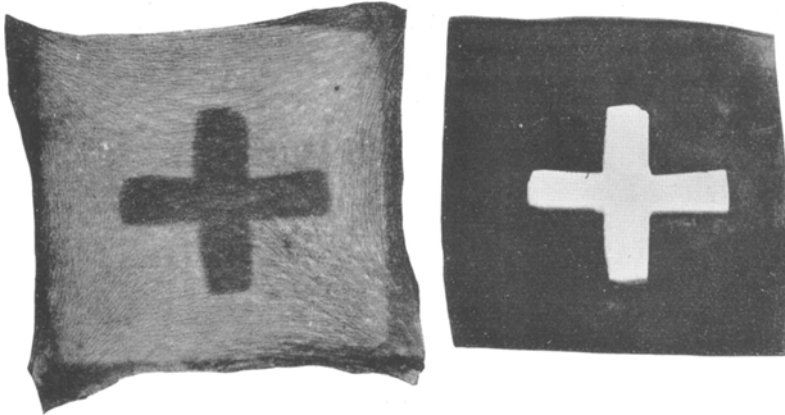


Abb. 1. Bauchhaut (♂, alt 29 Jahre), während $40\frac{1}{2}$ Stunden in 96proz. Alkohol fixiert. Rechts ist das die Haut bedeckende, kupferne Plättchen abgebildet. Diese Pigmentierung ist nach $6\frac{1}{2}$ stündiger Bestrahlung entstanden, innerhalb einer Stunde nach der Bestrahlung war die Pigmentierung schon angedeutet.

nach der Ausschneidung oder nach vorhergehender Fixierung in Alkohol und Formalin gekocht. Sie wurden zwischen zwei kupfernen Platten gepreßt und ins kochende Wasser gelegt, so daß ihre Krümmung durch das Kochen unmöglich wurde. Die Größe nahm gleichmäßig ab, das Stückchen blieb auch gleichmäßig gefärbt. Das Bindegewebe schrumpft stärker ein als die Epidermis, die letztere runzelt sich an den Rändern des Stückchens (vgl. Abb. 2). Das Hautstückchen wurde in genannter Weise während 10 Minuten gekocht, nach 3 Stunden der Strahleneinwirkung war das Kreuz sichtbar, nach 5 Stunden dunkelbraun gefärbt. Dauerte das Kochen länger als 20 Minuten, so wurde die Haut durchsichtig und für die Beurteilung unbrauchbar.

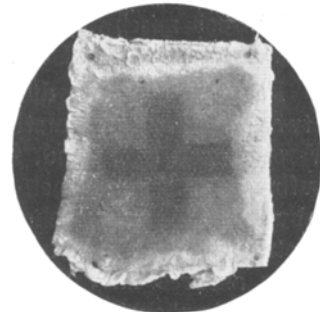


Abb. 2. Bauchhaut (♂, alt 48 Jahre), während 10 Minuten in Wasser gekocht. Dieses Resultat zeigte sich nach 5 stündiger Bestrahlung, das erste Zeichen der Reaktion innerhalb 3 Stunden.

Die Frage nach der Bildung des Melanins in der Lederhaut habe ich noch in folgender Weise zu beantworten versucht. Da die Epidermis nicht nur den Sauerstoff an dem Zutritt nach der Lederhaut verhindert, sondern auch die ultravioletten Strahlen zu 98% absorbiert (K. A. Hasselbalch und D. Lenkei), wurde die Epidermis mit dem Messer

abgeschabt und die Lederhaut sofort der Strahleneinwirkung ausgesetzt. Weder makroskopisch noch mikroskopisch war die Bildung des Melanins in der Lederhaut nach mehrstündiger Bestrahlung nachweisbar. Abb. 3 zeigt uns ein derartig behandeltes Stückchen, zentral ist ein rechtwinkliges Stückchen der Oberhaut in genannter Weise entfernt worden. Merkwürdig ist die außerordentlich starke Pigmentierung des Oberhautleistchens, das im Corium stehengeblieben ist. Das Epithel war hier dem Sauerstoffzutritt besonders zugänglich.

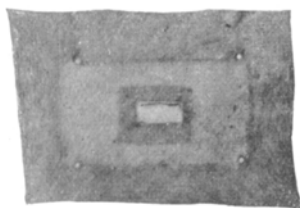


Abb. 3. Bauchhaut (♂, alt 33 Jahre). Fixierung in 96 proz. Alkohol während 4×24 Stunden. Zentral ist die Epidermis abgeschabt worden. Im Corium war nach 5 stündiger Bestrahlung selbst mikroskop. keine Pigmentierung zu sehen.

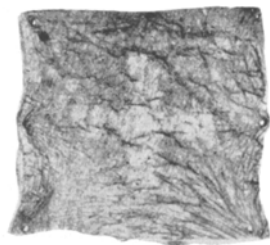


Abb. 4. An der Bauchhaut (♂, alt 54 Jahre), fixiert und während einem Jahr in 4 proz. Formalin aufbewahrt, war nach einer schwachen, primären Hyperpigmentierung ein grauweißes Kreuz (Depigmentierung) zu sehen. Die Haut stammt von einem Patient, gestorben an Morbus Addisonii. Die ganze Bestrahlungsdauer war 39 Stunden.

Mikrochemisch war das gebildete Pigment auch bei diesen Versuchen dem Melanin völlig gleich.

Folgende Tatsache dürfte die Wirkung der ultravioletten Strahlen etwas aufklären: Hautstückchen, von einem an Morbus Addisonii Verstorbenen stammend, fixiert und seit 1 Jahr in 4 proz. Formalin aufbewahrt, zeigten nach $20\frac{3}{4}$ Stunden der Strahleneinwirkung eine schwache Pigmentzunahme. Ich meinte durch länger fortgesetzte Bestrahlung das Ergebnis zu verbessern, jedoch ich bekam ganz etwas anderes zu sehen. Das zentrale Kreuz wurde nicht dunkler, sondern zunächst gelblichbraun, dann hellgelb und schließlich grau. Das grauweiße Kreuz entstand nach 39 Stunden der Bestrahlung (Abb. 4).

Diese sekundäre Depigmentierung bei fortgesetzter Bestrahlung trat noch einmal ein. In Abb. 5 findet man wiedergegeben das Resultat nach 5stündiger Bestrahlung, das dunkelbraune zentrale Kreuz ist recht gut zu sehen. Rechts davon findet man dasselbe Hautstückchen, nachdem es im ganzen $89\frac{1}{2}$ Stunden der ultravioletten Strahleneinwirkung ausgesetzt worden ist. Dasselbe Kreuz ist jetzt grauweiß geworden, die grauweiße Verfärbung war nach ± 27 Stunden der Bestrahlung an den Rändern des Kreuzes zuerst deutlich zu sehen. Auf die primäre Hyperpigmentierung folgte also die sekundäre Depigmentierung.

Für das Verständnis der Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf die Haut ist der für das Auge sichtbare Pigmentierungsvorgang von großer Bedeutung. Die folgenden Daten haben wir zu beachten. Die Pigmentierung der Haut ist eine Oxydation, experimentell von *Neubürger* und *Lignac* erwiesen. Wir können also auf Grund dieser Tatsachen schon im voraus sagen, daß die Strahlen die Oxydation in der Haut beschleunigen. Aber wie das geschieht, hätten wir nicht sagen können ohne die ausführlichen Untersuchungen von *Valdemar Bie*⁴³⁾. *Bie* versuchte die bactericide Wirkung der ultravioletten Strahlen zu erklären (seine Untersuchungen fußten auf denen von *Roux*, *Richardson* und *Dieudonné*). In ganz bestimmten Nährböden entwickelte sich

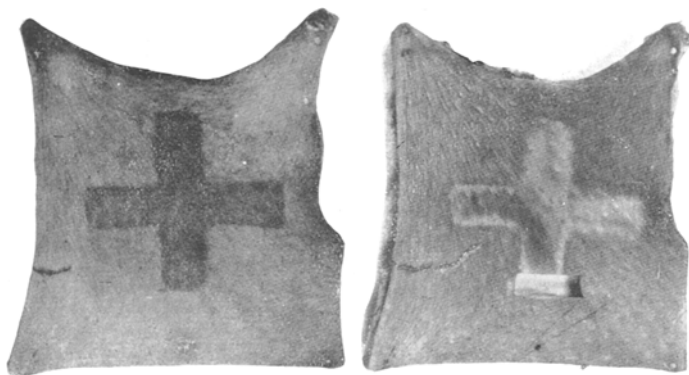


Abb. 5. An demselben Hautstückchen sieht man die primäre Hyperpigmentierung links (Resultat nach 5 stündiger Bestrahlung) und rechts die darauffolgende, sekundäre Depigmentierung (Resultat nach im ganzen 89 1/2 stündiger Bestrahlung mit dem Quarzlicht).

H_2O_2 unter dem Einfluß der „chemischen“ Strahlen; Ozonentwicklung meinte er auf Grund von Farbenreaktionen ausschließen zu können (hier möchte ich bemerken, daß da, wo H_2O_2 sich bildet, Ozonentwicklung zu gleicher Zeit zu erwarten ist). Die H_2O_2 -Entwicklung ist jedoch nur unter bestimmten Umständen möglich, die Bildung ist abhängig:

1. von der Anwesenheit des Sauerstoffs;
2. von der chemischen Zusammensetzung und der Konzentration der anwesenden Stoffe in dem Nährboden;
3. von der Beschaffenheit (*Dieudonné* hatte schon gezeigt, daß H_2O_2 ausschließlich unter dem Einfluß der aktinischen Wirkung gebildet wird) und Stärke des Lichts.

Es waren für die Bildung des Wasserstoffsuperoxyds komplizierte organische Stickstoffverbindungen in dem Nährboden notwendig. Diese Verbindungen sind in der Epidermis gewiß vorhanden. Ammoniaksalze konnten diese Stickstoffverbindungen nicht ersetzen; milchsaures Natrium als reduzierender Stoff verhindert die H_2O_2 -Bildung. Vielleicht, daß letztgenannter Stoff der H_2O_2 -Bildung im Pferdeserum vorbeugt.

In völligem Einklang mit den Untersuchungen *Valdemar Bies* ist die oben beschriebene sekundäre Depigmentierung. Bekannt ist die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf das Melanin, das durch H_2O_2 gebleicht wird. Verständlich ist es, daß bei immer fortdauernder Einwirkung der ultravioletten Strahlen die Mutterstoffe des Melanins erst zu den bekannten Pigmentteilchen oxydiert und endlich völlig gebleicht werden. Noch sei die Möglichkeit erwähnt, daß die ultravioletten Strahlen komplizierte Eiweißverbindungen zerlegen und daß dabei die Mutterstoffe des Pigments entstehen.

Die Versuche mit dem Quarzlicht habe ich auf die Schleimhäute und das Endothel ausgedehnt. Backen-, Oesophagus- und Magenschleimhaut, das Bauchfellendothel wurden während $9\frac{1}{2}$ und 6 Stunden der Strahleneinwirkung ausgesetzt, nachdem das Gewebe in 96proz. Alkohol oder (und) 4proz. Formalin fixiert war. Makroskopisch und mikroskopisch war kein Pigment, weder im bedeckenden Epi- und Endothel noch im darunter gelegenen Gewebe, aufzufinden. Das Oesophagusepithel und das Endothel trocknet besonders rasch da ein, wo es nicht von den Plättchen geschützt wird. Man muß während des Versuches das Gewebe immer befeuchten.

Inwiefern können wir alle mitgeteilten Ergebnisse in Anwendung bringen zum Verständnis der *intravitalen* Hauptpigmentierung?

Diese Frage möchte ich in Einzelheiten zerlegen und besprechen. An erster Stelle müssen wir uns mit der Frage nach einer evtl. intracellulären, fermentativen Wirkung während des intravitalen Pigmentierungsvorgangs beschäftigen; zweitens: wie haben wir uns die Hauptpigmentierung biologisch vorzustellen? Damit verknüpft ist die Frage: werden die Mutterstoffe in den Zellen der Epidermis selbst gebildet oder diesen mit dem Blute oder der Lymphe zugeführt, oder sind beide Möglichkeiten zu verwirklichen? und endlich: Welches sind die Schicksale des einmal gebildeten Hauptpigments?

In der Literatur nennt man die künstliche Hauptpigmentierung öfters eine postmortale. Wir berühren mit der Frage nach der Richtigkeit dieser Aussage das schwierige Problem vom Leben und Tod. Obgleich wir unsere Versuchshaut den Leichen entnommen haben, bedeutet das gar nicht, daß die Hautstückchen auch tot sind. Haut besonders ist sehr lebenskräftig; Hautstückchen, 20 Tage trocken konserviert und danach 2 Tage in Kochsalzlösung aufbewahrt, wachsen wieder fest an den lebenden Körper (*Wentscher*). Es gelang *Ljunggreen* selbst mit Hautstückchen, welche 4 Wochen in Ascitesflüssigkeit aufbewahrt wurden. Jedoch, bevor wir die Hautstückchen auf das Meirowskysche Phänomen prüften, fixierten wir sie in Formalin und Alkohol und stellten die Haut nachher der Erwärmung im Paraffinofen (56°) aus. Die eiweißgerinnende und wasserentziehende Wirkung der Flüssigkeiten und der Wärme sind derart, daß wir ein Weiterleben der Zellen für unmöglich achten. Die Erfahrung lehrt uns übrigens, daß die Gewebe-

schnitte, welche doch fast immer in dieser Weise behandelt werden, niemals Lebenserscheinungen zeigen. Ich meine deshalb, daß wir in unserer Versuchsanordnung die künstliche Pigmentierung, durch Wärme oder Quarzlicht erzeugt, eine postmortale nennen dürfen.

Können wir den Chemismus der postmortalen Hautpigmentierung kurz zusammenfassen als eine Oxydation und Kondensation (Polymerisation) leicht oxydabler organischer Verbindungen, so ist es ohne weiteres deutlich, daß wir dasselbe von der intravitalen Hautpigmentierung sagen dürfen. Ebenso dürfen wir die Bildungsstätte der Pigmentteilchen in den Zellen der Epidermis (Stratum cyl. und spin.) suchen; nach den Versuchsergebnissen *Neubürgers* und *Lignacs* müssen wir dem Corium und den sich da befindenden Zellen jede Fähigkeit zur Melaninbildung absprechen. Ist der Sauerstoff für die Melaninbildung notwendig, schon hier sehen wir einen bedeutenden Unterschied in der Herkunft des Sauerstoffs bei unseren Versuchen und im lebenden Körper. Postmortal findet nur eine unmittelbare Sauerstoffübertragung aus der Atmosphäre statt, bei der intravitalen Pigmentierung wird den Zellen der Epidermis unaufhörlich der Sauerstoff mit dem Blute bzw. Lymphe zugeführt. Weiterhin komme ich auf diesen wichtigen Umstand zurück.

Was den Gaswechsel durch die Haut anbetrifft, so hat *Zuelzer* gezeigt, daß beim Menschen im günstigsten Fall die Sauerstoffaufnahme durch die Haut $\frac{1}{100}$ von der durch die Lungen ist. Wir können also der Sauerstoffzufuhr aus der Atmosphäre in die Haut jede Bedeutung für die intravitale Pigmentierung absprechen. Die Wärmezufuhr hat eine entscheidende Bedeutung für die postmortale Pigmentbildung; es wird die Pigmentbildung, wie *Meirowsky* (l. c.) gezeigt hat, durch Steigerung der Wärmezufuhr beschleunigt, bei 20° blieb sichtbare Pigmentbildung aus, bei 37° trat sie später und weniger ausgesprochen ein als bei 56°. Die Wärme hat für die intravitale Hautpigmentierung nicht dieselbe Bedeutung wie für die künstliche. Steigerung der Wärmezufuhr kann sogar ganz ausbleiben bei der intravitalen Pigmentbildung oder sie schwankt so wenig zwischen nahe aneinander liegenden Temperaturgraden, daß wir der Wärme als beschleunigendem Faktor für die intravitale Pigmentierung wesentliche Bedeutung absprechen müssen.

Ist der Einfluß der Wärme auf die künstliche Pigmentierung ein *unmittelbarer* oder *mittelbarer*? Unter dem unmittelbaren Einfluß verstehen wir den, wobei die Wärme als Energie die chemische Reaktion beschleunigt. Einen mittelbaren Einfluß nennen wir den, wobei eine Fermentwirkung bei einem bestimmten Temperaturgrad günstiger verläuft.

Es haben *Königstein* (l. c.) und *Lignac* gezeigt, daß *gekochte* Haut sich unter dem Einfluß der Wärme oder der ultravioletten Strahlen

noch pigmentiert. Hieraus ersehen wir u. a., daß ein unmittelbarer Einfluß der Wärme auf die künstliche Pigmentierung ganz gut möglich ist, wir beweisen es aber nicht für alle Fälle; es kann nämlich dann, wenn das Kochen der Haut ausbleibt, ein Ferment, nicht durch die Fixierflüssigkeiten beschädigt, im Paraffinofen seine Wirkung entfalten.

Ob durch die Wärmezufuhr chemische Zerlegungen begünstigt werden und dabei die Mutterstoffe des Melanins frei werden, ist möglich, jedoch ohne weiteres nicht zu entscheiden.

Alle Fermente in wäßriger Lösung (wir haben die Haut mit kochendem Wasser erhitzt) werden in kurzer Zeit bei 100° vernichtet, selbst Oxydasen. Die Vernichtung ist eine irreversible [Carl Oppenheimer⁴⁴].

Eine besondere Besprechung erheischen noch obige Versuche mit dem Quarzlicht. Die ultravioletten Strahlen sind für Fermente in wäßriger Lösung sehr schädlich. Auch in den Fällen, wo die Haut nicht gekocht, jedoch viele Stunden hintereinander den ultravioletten Strahlen ausgesetzt wurde, meine ich „Leben“ und Fermentwirkung ausschließen zu können. Aus meinen Versuchen ersehen wir auch, daß *die Menge der zugeführten Strahlenenergie von einschneidender Bedeutung ist für die künstliche Pigmentierung*. Die ultravioletten Strahlen spielen hier nicht etwa die Rolle eines Ferments oder die eines Aktivators.

Diesen Ergebnissen gegenüber wird die Forderung, daß wir die Wirkung eines vermeinten Ferments *unmittelbar* nachweisen, desto zwingender.

Wir sind also imstande, in toter Haut und ohne Ferment, Melanin zu erzeugen. Dies schließt jedoch Fermentwirkung in lebender Haut nicht ohne weiteres aus. Denn es bestehen, wie wir sehen werden, noch bedeutende Unterschiede zwischen der postmortalen und intravitalen Hautpigmentierung unter dem Einfluß ultravioletter Strahlen. Bestrahlung der lebenden Haut mit dem Quarzlicht während 4 Minuten ruft außer Hyperämie eine deutliche Pigmentierung hervor, welche nach 3 Stunden sichtbar werden. In der toten Haut sehen wir die ersten Spuren der Pigmentierung erst innerhalb 1 Stunde bei *fortwährender* Bestrahlung mit dem Quarzlicht. Welche Bedeutung hat hier die Dauer der Anwendung derselben Energie! Begreiflich ist es, daß man katalytische Wirkungen in der lebenden Haut voraussetzt. Ist die katalytische Wirkung einem intracellulären Ferment zuzuschreiben? Es sollten im Laufe der Zeit die Zellen der Epidermis schon drei Fermente beherbergt haben, nämlich die Tyrosinase, die Dopaoxydase und das Ferment, anscheinend von *Meirowsky*⁴⁵) aus der menschlichen Haut (Praeputium) abgesondert. Die Annahme einer Enzymwirkung ist leichter als der einwandfreie Nachweis seines katalytischen Einflusses auf eine bestimmte chemische Reaktion, mit Ausschluß anderer mög-

lichen Wirkungen [*Tendeloo*⁴⁶⁾]. Wir betreten nun das noch immer sehr umstrittene Gebiet der vitalistischen oder chemischen Theorie der Lebenserscheinungen. Es ist der alte Streit zwischen *Pasteur* und *Liebig*. *E. Buchners* Zymase schien zugunsten der *Liebigschen* Auffassung zu entscheiden. Es zeigte jedoch *Max Rubner*⁴⁷⁾, daß wesentliche Quantitätsunterschiede bestanden zwischen der Gärung durch die Hefezelle und der durch die isolierte Zymase. *Rubner* läßt seine Meinung auch für andere Fermente gelten, indem er sagt (S. 64 l. c.):

„Nachdem es hier an der Hefe gelungen ist, die irrige Anschauung völlig freier und ungeordnet wirkender Fermente zu widerlegen, werden wir auch sonst der Annahme aller möglichen freiwirkenden Stoffwechselfermente bei den Mikroorganismen mit einer gewissen Reserve gegenüberstehen. Die einfache Tatsache des Nachweises von Stoffwechselfermenten beweist noch keineswegs, daß alle sonst gefundenen Spaltungen der gleichen Art auf freie Fermente zu beziehen sind. Das am lebenden Eiweiß hängende Ferment oder die fermentative Wirkung desselben zeigt sich vor allem gekennzeichnet durch die Regulierung der Zersetzung, welche letztere bestimmte Grenzen der Leistung nicht überschreitet. Die Wirkung freier Fermente flackert auf wie Stroheuer und sinkt ebenso rasch wieder zusammen.“

Nach der Auffassung *Rubners* könnte bei der Pigmentierung in der lebenden Haut ein Ferment jedoch in Zusammenhang mit dem lebenden Eiweiß wirksam sein. Es müssen hier noch die viel versprechenden Untersuchungen *Warburgs* erwähnt werden.

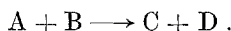
O. Warburg und *O. Meyerhof*⁴⁸⁾ wollten eine Antwort auf die Frage bekommen: Inwiefern stimmt der physiko-chemische Mechanismus der Atmung mit dem der Alkoholgärung überein? Sie zeigten wie *Rubner*, daß die Gärung durch die Zerreißung der Hefezellen bedeutend abnahm. *Warburg*⁴⁹⁾ beobachtete, daß die Atmung aufhörte, sobald er einen Preßsaft von Vogelerythrocyten (Gans und Huhn) oder von *Staphylococcus albus* und *aureus* machte. *Harden* und *Maclean*⁵⁰⁾ zeigten dasselbe für den Preßsaft von Muskeln und anderen Geweben, *Meyerhof* für unbefruchtete und befruchtete Seeigeleier. *Warburg* und *Meyerhof* kommen zum Schluß zur folgenden Aussprache: „Die Enzymnatur wird ebenso oft behauptet als geleugnet, und das Tatsachenmaterial ist nicht imstande zu entscheiden.“

*Warburg*⁵¹⁾ hat weiter Versuche angestellt zur Beantwortung der oben genannten Frage. Die lebenden Zellen beschleunigen die Oxydation organischer Stoffe, wie haben wir uns jedoch die Katalyse vorzustellen? Es kann eine rein chemische oder eine physiko-chemische Katalyse, welche auf eine *besondere Zellstruktur* zurückzuführen ist, sein; wahrscheinlich sind diese beiden Arten der Katalyse zu einem Mechanismus verbunden. Jedoch gelten diese Untersuchungen nur für die Reaktionen, wobei 10 Mol. $O_2 \pm 7$ —10 Mol. CO_2 liefern. Es ist bei dem heutigen Stand der chemischen Pigmentforschung noch nicht zu sagen, inwieweit wir diese genannten Ergebnisse auf die intravitale Pigmentierung ausdehnen dürfen.

Nebenbei möchte ich noch bemerken, daß wir die katalytische Wirkung eines anorganischen Stoffs in den Zellen der Epidermis nicht ausschließen dürfen.

Ist endlich die intravitale Hautpigmentierung ohne die Annahme eines Katalysators zu erklären?

Wenn zwei Stoffe A und B aufeinander einwirken und sich zwei Stoffe C und D bilden, so ist es möglich, daß sich C oder D z. B. durch seine Unlöslichkeit in dem flüssigen Medium der weiteren Reaktion entzieht. Die Reaktion kann abhängig von den molekularen Konzentrationen ganz zum Ende verlaufen:



Eine derartige Reaktion können wir auch in der Epidermis haben. Die Mutterstoffe des Melanins verbinden sich mit dem Sauerstoff zu den größeren Pigmentmolekülen, welche sich durch ihre Unlöslichkeit, ihre Resistenz (nur von starken Oxydationsmitteln werden sie gebleicht) kennzeichnen. Wir haben hier keine umkehrbare Reaktion. Die Umstände für die Oxydation anwesender Mutterstoffe sind intravital möglichst günstig. Es wird der Sauerstoff fortwährend mit dem Blute evtl. der Lymphe den Zellen der Epidermis zugeführt. Sind die Mutterstoffe in genügender Menge anwesend (es sei, daß diese sich bilden in den Zellen oder den letzteren mit dem Blute evtl. der Lymphe zugeführt werden oder beides), so ist eine ganz kurze Einwirkung der ultravioletten Strahlen nur nötig, um die Reaktion durch Aktivierung des Sauerstoffs ganz zum Ende ablaufen zu lassen, wodurch die Reaktion uns beschleunigt erscheint. Ein wichtiger Faktor ist folgender: Die Temperatur der lebenden Haut ist höher als die der toten Haut, welche wir der Einwirkung der ultravioletten Strahlen ausgesetzt haben; dieser Faktor begünstigt die Reaktion in der lebenden Haut. Schließlich ist die Menge der Mutterstoffe in der toten Haut beschränkt; die Mutterstoffe sind in den Zellen entweder angehäuft oder sie werden erst durch die Energie (Wärme und ultraviolette Strahlen) aus den zur Verfügung stehenden Eiweißmolekülen freigemacht oder beides ist möglich. Die tote Haut entbehrt einer stetigen Zufuhr des Sauerstoffs und der Mutterstoffe durch das Blut und die Lymphe.

Diese von mir gegebene Betrachtung des chemischen Vorgangs bei der intravitale Hautpigmentierung zeigt um so mehr, daß eine Fermentwirkung *unmittelbar* bewiesen werden muß. Nicht nur qualitative, sondern auch quantitative Untersuchungen sollen angestellt werden.

Erwähnen möchte ich hier noch folgende bemerkenswerte Tatsache. Auch dann, wenn der chemische Vorgang der Hautpigmentierung für alle Teile des menschlichen Körpers, sogar für alle Menschen der Welt gleich wäre, es bestehen große *quantitative* Unterschiede der

pigmentbildenden Kraft nicht nur in einem Körper, sondern auch zwischen Individuen derselben Rasse, ganz abgesehen von den Unterschieden zwischen den verschiedenen Rassen.

Ist die Hautpigmentierung biologisch als ein Stoffwechselvorgang aufzufassen, so fragt sich, ob wir diesen als Ganzes der Dissimilation zurechnen müssen. Hatten *Jarisch* und *Rössle* schon den Übergang von Kernteilchen in Pigment beobachtet, so meinte *Meirowsky* [l. c. und ⁵²⁾] dasselbe für das Hautpigment nachgewiesen zu haben. Die pyrenoide Kernsubstanz (*E. Albrecht*) sollte eine Änderung in Hautpigment erfahren; er sah in der Haut, wo die Pigmentierung in vollem Gange war, die pyrenoide Substanz sich im Kerne vermehren und in größerer Quantität in dem Cytoplasma erscheinen. Nach dieser Phase verschwand mehr und mehr die genannte Substanz und das fertige Pigment zeigte sich in größeren Mengen. *Meirowsky* beobachtete sogar Bilder, wobei noch ein Teil der pyrenoiden Substanz zugehörte, der andere schon in Pigment umgewandelt war. Schließlich fand er im Pigmentteilchen einen Kern von pyrenoider Substanz. *Meirowsky* behauptet, daß auf die Vermehrung und Auswanderung der pyrenoiden Kernsubstanz in das Cytoplasma keine Umwandlung in Pigment zu folgen braucht. *von Szily* hat *Meirowskys* Untersuchungen übrigens bestätigt. Folgendes möchte ich noch erwähnen: Wenn wir, wie *Reinke* u. a. an einem Pigmentteilchen den Träger des Farbstoffs und den Farbstoff selbst unterscheiden müssen, so halte ich es noch für möglich, daß der pyrenoide Kernstoff den Kern des Pigmentteilchens bildet, ohne daß sie sich jedoch in den Farbstoff selbst umzuändern braucht. Wie dem auch sei, die Untersuchungen *Meirowskys* werden uns vieles klarmachen. Sie eröffnen jedenfalls die Möglichkeit, daß die Pigmentierung sich ganz innerhalb der Zelle abspielt. Die Pigmentierung gehört dann zur Dissimilation, wobei allerdings zwei oder mehrere der entstehenden Stoffe sich zu einem andersartigen vereinigen können; die Mutterstoffe des Melanins sind die mehr einfachen Abbauprodukte der Zellbestandteile, welche sich bei der Oxydation gleichzeitig polymerisieren (kondensieren), zu gefärbten Teilchen werden und welche wir den intermediären Stoffwechselprodukten zurechnen müssen. Wir hätten hier den ziemlich seltenen Vorgang, wobei die intermediären Stoffwechselprodukte, dank ihrer Farbe, uns zu Gesicht kommen.

Jedoch ist es möglich, daß die Mutterstoffe des Melanins in loco gebildet werden, damit schließen wir die Möglichkeit einer Zufuhr der Mutterstoffe nach der Haut von anderen Organen her *nicht* aus, gewiß nicht für pathologische Pigmentierungen. So verstehen wir auch den Streit, welcher besteht zwischen *Meirowsky*, *Heudorfer*, *Fischer* und *Leszczynier*⁵³⁾, *Bittorf*⁵⁴⁾ einerseits und *Bloch* und *Löffler*⁵⁵⁾

andererseits, die behaupten, daß nur eine Zufuhr der Mutterstoffe nach der Haut stattfindet. Wir erachten beide Vorgänge, solange man uns das Gegenteil nicht beweist, für möglich.

Eine praktische Bedeutung hat die Frage nach der *Bedeutung des Hautpigments für den Körper*.

Eine schützende Wirkung hat es gewiß, wie *Finsen* in einfacher Weise gezeigt hat. *Unna*⁵⁶⁾ als erster hat das Pigment als Schutzmittel gegen das Licht aufgefaßt. Nach *K. A. Hasselbalch* und *D. Lenkei* sollte etwa 98% der ultravioletten Strahlen in den basalen Zellen der Epidermis absorbiert werden. Einige Forscher meinen, daß das Pigment die Rolle eines Transformators spielt. Das Pigment sollte die schädlichen chemischen Strahlen in rote umbilden. *Rollier* (*Leysin*) betrachtet eine starke Pigmentreaktion auf das Sonnenlicht bei der Behandlung der chirurgischen Tuberkulose als ein günstiges prognostisches Zeichen.

Sind die Zellen des Strat. cyl. und spin. kräftige Oxydationsorte, wie müssen wir uns den Vorgang vorstellen? Wenn wir (wie *Reinke*) an einem Pigmentteilchen den Kern und den Farbstoff unterscheiden, so stellen wir die folgenden Fragen: Wie gestaltet sich der Kern seinen chemischen, physikalischen und physiko-chemischen Eigenschaften nach? Welcher Teil der Zelle bildet diesen Kern, ist dieser Kern ein Teil des „lebenden“ Protoplasmas oder ein dem „Protoplasmaeiweiß“ fremder Stoff? Bildet der Kern selbst die Mutterstoffe oder wirkt er nur katalytisch, oder sind beide Möglichkeiten zu verwirklichen? Diese von mir für die Pigmentierung gestellten Fragen haben auch eine allgemeine Bedeutung [vgl. *W. Loele*⁵⁷⁾].

Über die *Schicksale* des einmal gebildeten Hautpigments kann ich kurz sein. Es findet, wie ich gezeigt habe, eine lymphogene Hautpigmentverschleppung auch normaliter statt. Meine früheren Untersuchungen⁸¹⁾ habe ich an einem größeren Material weiter bestätigt. Nicht nur morphologisch, sondern auch chemisch habe ich das in den Leistenlymphdrüsen aufgefundene Pigment mit dem Hautmelanin identifiziert. Es zeigte sich bei diesen Untersuchungen, daß das Hautpigment in den Lymphdrüsen weiter verarbeitet wird (dritte Phase, vgl. S. 392). Es ist mir nicht gelungen, das Hautpigment, wenigstens bei der weißen Rasse, in den nichtregionären, tiefer gelegenen Lymphdrüsen aufzufinden. Die lymphogene Hautpigmentverschleppung schließt an und für sich eine hämatogene nicht aus [*Pförringer*⁵⁸⁾, *von Kahlen* und *List*⁵⁹⁾].

Wie die Verschleppung aus der Epidermis nach den Blut- und Lymphgefäßen geschieht, ist eine noch nicht aufgeklärte Frage. Daß die Chromatophoren eine Kette zwischen der Epidermis und den genannten Gefäßen bilden, ist ohne weiteres deutlich. Allerdings soll an Serien-

schnitten nachgewiesen werden, daß die Chromatophoren eine lückenlose Kette bilden. Die Chromatophoren liegen nicht nur den Blut-, sondern auch den Lymphgefäßen angeschmiegt; letzteres habe ich in der Haut der farbigen Rasse beobachtet. Einen Abbau erleidet das Hautpigment in der Epidermis nicht, niemals habe ich die dritte Phase des Melanins in den Epidermiszellen zeigen können. Daß das Hautpigment bei der Hyperpigmentierung noch unverändert in den Hornzellen anwesend sein und mit diesen den Körper verlassen kann, geht aus einer seltenen Beobachtung *Rabls* hervor. Er zeigte die an der stark pigmentierten Papilla mammae einer Frau, die 5 Monate vorher geboren hatte und wobei die Brustdrüse noch viel Milch enthielt. Diesen Vorgang dürfen wir in bezug auf die Fortschaffung des Hautpigments den Blut- und Lymphgefäßen entlang bei der weißen Rasse selten nennen.

Nach *H. Rabl*⁶⁰⁾ und *Adachi*⁶¹⁾ ist übrigens die Anzahl der pigmentführenden Zellen im Corium der Menge des in den Epidermiszellen sich befindenden Hautpigments proportional. Nach *von Breul* sollte das nicht für die Haut der Japaner gelten. Jedoch dürfen wir nicht vergessen, daß die Unabhängigkeit der Mengen des Hautpigments im Corium und in der Epidermis eine scheinbare sein kann, denn es findet ein fortwährender Abfluß des Pigments nach den Lymph- und Blutgefäßen statt.

Die heutige Pigmentforschung hat uns also gelehrt, daß das Hautpigment in den Zellen des Strat. cyl. und spin. der Epidermis gebildet wird, daß die Mutterstoffe des Melanins entweder in diesen Zellen entstehen, oder ihnen mit dem Blute oder der Lymphe zugeführt werden; das Hautpigment wird schließlich aus diesen Zellen der Epidermis nach den Blut- und Lymphgefäßen verschleppt, die Chromatophoren spielen dabei eine große Rolle; wie die Verschleppung aus der Epidermis nach Blut- und Lymphgefäßen stattfindet, ist jedoch noch nicht zu bestimmen. Die Chromatophoren selbst bilden kein Hautpigment (*Neubürger* und *Lignac*).

Zusammenfassung. Die bisher ausgeführten Methoden zur Absonderung und reinen Darstellung des normalen Hautpigments sind nicht zuverlässig, daher stimmen die Ergebnisse der verschiedenen Untersucher nicht miteinander überein.

Die Untersuchungen von *Otto von Fürth* und Mitarbeitern haben die völlige chemische Identifikation künstlicher Melanine mit dem menschlichen Melanin nicht erbracht.

Es besteht keine „spezifische“ Dopaoxydase (*Bruno Bloch*).

Den chemischen Vorgang der menschlichen Hautpigmentierung können wir bis jetzt in vier Phasen einteilen: die erste Phase ist die der Mutterstoffe (Präpigment); die Mutterstoffe sind leicht oxydabel

(lichtempfindlich), reduzieren eine Silbernitratlösung; die zweite Phase umfaßt die der Farbstoffteilchen, welche durch Oxydation (experimentell durch *Neubürger* und *Lignac* erwiesen) und Polymerisation (resp. Kondensation) aus den Mutterstoffen entstehen; dieses Melanin reduziert noch die Silbernitratlösung, wird jedoch nur von „aktiviertem“ Sauerstoff gebleicht. Dieser Chemismus macht es in gewissem Maße wahrscheinlich, daß das Präpigment ein Ortho- oder Paradioxybenzol-derivat ist und daß das Melanin durch Polymerisation von Chinoiden entsteht (*Lignac*). Durch kräftige Oxydation des Melanins bekommen wir als dritte Phase die der gelblich gefärbten Verbindungen, welche eine Silbernitratlösung nicht mehr reduzieren. Diese dritte Phase, welche wir künstlich durch H_2O_2 aus dem Melanin bekommen können, ist im Körper bis jetzt nur in den regionären Lymphdrüsen der Haut aufgefunden worden (*Lignac*). Die vierte Phase umfaßt die farblosen Abbauprodukte des Melanins.

Die postmortale Pigmentierung hat uns nicht nur chemische Eigenschaften des Präpigments, sondern auch den Ort der Entstehung des Melanins, das Rete *Malpighii* der Epidermis, aufgedeckt (*Meirowsky* u. a.). Melanin wird in den Zellen des Coriums nicht gebildet (*Neubürger* und *Lignac*). Die künstliche Erzeugung des Hautmelanins durch ultraviolette Strahlen ist von *Lignac* weiter verfolgt worden: Auf die primäre Pigmentierung folgt bei fortdauernder Bestrahlung eine sekundäre Depigmentierung, welche durch die Untersuchungen von *Valdemar Bie* durchaus erklärt werden. Die Untersuchungen *Bies* machen es wahrscheinlich, daß unter dem Einfluß ultravioletter Strahlen und unter gewissen Bedingungen H_2O_2 (möglich auch O_3 , *Lignac*) gebildet wird.

Die Forderung des unmittelbaren Nachweises einer Fermentwirkung wird nach der festgestellten postmortalen Pigmentierung desto zwingender.

Es ist bis jetzt kein genügender Grund da, in der „lebenden“ Haut oxydierende und andere Fermente anzunehmen.

Die Untersuchungen *Meirowskys*, welche eine Umwandlung der Kernbestandteile in Pigment wahrscheinlich machen, eröffnen die Möglichkeit, daß wir die Hautpigmentierung als eine Dissimilation aufzufassen haben.

Nicht nur brauchen die Mutterstoffe des Pigments in den Zellen der Epidermis selbst gebildet zu werden, sondern sie können auch mit dem Blute und der Lymphe den Epidermiszellen zugeführt werden.

Eine schützende Wirkung gegen die ultravioletten Strahlen kommt dem Melanin jedenfalls zu (*Unna, Finsen*).

Sowohl eine lymphogene (*Lignac*) wie eine hämatogene Verschleppung des Melanins aus der Haut findet statt.

Wie die Verschleppung durch die Chromatophoren geschieht, ist noch nicht aufgeklärt.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Fürth, Otto v. und Hugo Schneider, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 229. 1902. — ²⁾ Bloch, Bruno, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **98**, Heft 3 u. 4. 1917. — Bloch, Bruno und P. Ryhiner, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **5**, Heft 4, 5 und 6, S. 179—264. 1917. — Bloch, Bruno, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Orig. **114**, Heft 2, S. 129—209. 1917. — ³⁾ Liesegang, Zeitschr. f. wiss. Mikroskop. **28**, 257. — ⁴⁾ Hueck, Werner, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **54**, 68. 1912. — ⁵⁾ Salkowski, E., Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **227**, Heft 2, S. 121. — ⁶⁾ Salkowski, E., Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **228**, 468. — ⁷⁾ Fürth, Otto v. und Ernst Jerusalem, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 131. 1907. — ⁸⁾ Spiegler, Eduard, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 40. 1904 und **10**, 253. 1907. — ⁹⁾ Brahn, B. und M. Schmidtman, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **227**, Heft 2, S. 137. — ¹⁰⁾ Landolt, H., Zeitschr. f. physikal. Chem. **28**, 192. 1899. — ¹¹⁾ Floyd, F. P., Journ. of the chem. soc. **1**. — ¹²⁾ Floyd, F. P., Chemical News **34**, 179. 1876. — ¹³⁾ Abel, John J. und Walter S. Davis, Journ. of exp. med. **1**, 361. — ¹⁴⁾ Fasal, Hugo, Biochem. Zeitschr. **55**, 393. 1913. — ¹⁵⁾ Yoshida, Journ. of the pharm. soc. **43**, 472. 1883. — ¹⁶⁾ Bertrand, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **122**, 1215. 1896. — ¹⁷⁾ Bertrand, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **123**, 463. 1896. — ¹⁸⁾ Bertrand, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **138**, 774. 1904. — ¹⁹⁾ Fürth, Otto v. und Hugo Schneider, siehe unter ¹⁾. — ²⁰⁾ Fürth, Otto v., Wien. med. Wochenschr. Jahrg. 70, Nr. 5, S. 230 und Nr. 6, S. 282. — ²¹⁾, ²²⁾, ²³⁾ siehe unter ²⁾. — ²⁴⁾ Bloch und Löffler, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1917. — ²⁵⁾ Langerhans, Paul, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **44**, Heft 2 u. 3, S. 325. 1868. — ²⁶⁾ Heudorfer, K., Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 68, Nr. 9. 1921 und Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Orig. **134**, 339. 1921. — ²⁷⁾ Rondoni, P., Lo sperimentale, archivio di biologia normale e pathologica **74**, 155. 1920 (referiert im Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **31**, Nr. 23, S. 619). — ²⁸⁾ Kauffmann, Hugo, Über den Zusammenhang zwischen Farbe und Konstitution bei chemischen Verbindungen. Samml. chemischer u. chemisch-technischer Vorträge **9**. Stuttgart 1904. — ²⁹⁾ Kauffmann, Hugo, Beziehungen zwischen physikalischen Eigenschaften und chemischer Konstitution. Chemie in Einzeldarstellungen, S. 265. Stuttgart 1920. — ³⁰⁾ Schreiber, L. und P. Schneider, Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 55, Nr. 37. 1908. — ³¹⁾ Lignac, G. O. E., Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **32**, Nr. 8. 1920. — ³²⁾ Green, Arthur George, Journ. of the chem. soc. **103**, 925. 1913. — ³³⁾ Suida, Hermann, Liebigs Ann. d. Chem. **415**, 164. 1918. — ³⁴⁾ Stoltzenberg, Hugo und Margarete Stoltzenberg-Bergius, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **111**, Heft 1, S. 1. 1920. — ³⁵⁾ Langstein, L., Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 145. 1903. — ³⁶⁾ Weiss, M., Klinische Wochenschr. Jahrg. 1, Nr. 14, S. 694. 1922. — ³⁷⁾ Meyer, Richard, Zeitschr. f. physikal. Chem. **24**, 468. 1897. — ³⁸⁾ Kauffmann, Hugo, Die Beziehungen zwischen Fluoreszenz und chemischer Konstitution. Samml. chemischer u. chemisch-technischer Vorträge. **11**. Stuttgart 1906. — ³⁹⁾ Meirowsky, E., Frankf. Zeitschr. f. Pathol. **2**, Heft 4, S. 438. 1909. — ⁴⁰⁾ Königstein, Hans, Münch. med. Wochenschr. 1909, S. 2305. — ⁴¹⁾ Neubürger, K., Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 67, Nr. 26. 1920. — ⁴²⁾ Jesionek, A., Praktische Ergebnisse auf dem Gebiete der Haut- und Geschlechtskrankheiten 1912. — ⁴³⁾ Bie, Valdemar, Mitteilungen aus Finsens Medicinske Lysinstitut in Kopenhagen. Heft 9. 1905. — ⁴⁴⁾ Oppenheimer, Carl, Die Fermente und ihre Wirkungen. Bd. I, S. 60 und 61. 1913. — ⁴⁵⁾ Meirowsky, E.,

Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **20**, Nr. 7, S. 301. 1909. — ⁴⁶⁾ *Tendeloo, N. Ph.*, Allgemeine Pathologie. Julius Springer, Berlin 1919, S. 119. — ⁴⁷⁾ *Rubner, Max*, Arch. f. Anat. u. Physiol. Jahrg. 1912, Supplementband. — ⁴⁸⁾ *Warburg, O.* und *O. Meyerhof*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **148**, 295. 1912. — ⁴⁹⁾ *Warburg, O.*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **145**, 277. 1912. — ⁵⁰⁾ *Harden und Maclean*, Journ. of physiol. **43**, 34. — ⁵¹⁾ *Warburg, O.*, Ergebnisse der Physiologie (*L. Asher* und *K. Spiro*) Jahrg. 14, S. 253. 1914. — ⁵²⁾ *Meirowsky, E.*, Monatshefte f. prakt. Dermatol. **42**, Nr. 11; **43**, Nr. 4; **44**, Nr. 3; **44**, Nr. 4. — ⁵³⁾ *Fischer und Leschcziner*, Dermatol. Wochenschr. **61**, 1115. 1915. — ⁵⁴⁾ *Bittorf*, Arch. f. Pharmakol. u. Ther. **75**, 143. 1914. — ⁵⁵⁾ *Bloch und Löffler*, siehe unter ²⁴⁾. — ⁵⁶⁾ *Unna*, Monatshefte f. prakt. Dermatol. **4**. 1885. — ⁵⁷⁾ *Loele, W.*, Lubarsch und Ostertags Ergebnisse Jahrg. 16, Abt. II, S. 760. 1912. — ⁵⁸⁾ *Pförringer*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **11**, Nr. 1. 1900. — ⁵⁹⁾ *List*, Biol. Zentralbl. **10**. 1890. — ⁶⁰⁾ *Rabl, H.*, Mraček's Handbuch der Hautkrankheiten. Bd. 1. 1902. — ⁶¹⁾ *Adachi*, Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropol. **6**. 1903.
