

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

## Über das Hämatoidin und seine Beziehungen zum Blut- und Gallenfarbstoff.

Von

Priv.-Doz. Dr. G. O. E. Lignac.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Dezember 1922.)

Bei der Beobachtung des Farbenwechsels, wie dieser bei der Reaktion von Schwefelsäure auf Hämatoidinnadeln bei ischämischer Nekrose der Niere auftritt, wurde ich jedesmal dermaßen von Gipskrystallen ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{aq}$ ) belästigt, daß ich einen möglichen Zusammenhang zwischen Calciumsalzablagerung und Hämatoidinkrystallisation vermutete. Die Ergebnisse meiner hierauf gerichteten Untersuchungen werden lehren, inwiefern diese Vermutung berechtigt war.

Es war dazu nötig die Verteilung der Calciumsalzablagerung in ischämisch-nekrotischen Herden verschiedener Organe (Niere und Milz) und in Blutungen zu erforschen. Bevor ich zur Mitteilung meiner Untersuchungen schreite, möchte ich im voraus die mikrochemischen Methoden zum Nachweis von Calcium in den Geweben einer kritischen Besprechung unterwerfen.

Calcium kommt entweder in organischer (Vitelline, Hämatogen von *Bunge*) oder anorganischer Verbindung in den Geweben vor. Die anorganischen Calciumverbindungen im Gewebe sind jedoch komplizierter als außerhalb desselben; es scheinen die Calciumsalze mit Proteinen oder ihren Abkömmlingen einen „Komplex“ zu bilden, was sich auch in gewissen mikrochemischen Reaktionen abspiegelt. Es besteht keine empfindliche, mikroskopische Calciumreaktion, denn die sehr empfindlichen Reaktionen auf Calcium mit Oxalsäure und Fluoriden geben zwar unlösliche aber farblose Calciumverbindungen; es sind bis jetzt auch keine unlöslichen und zugleich gefärbten Calciumdoppelsalze bekannt.

Die Methoden zum mikrochemischen Nachweis von Calciumsalzen beruhen entweder auf der Eigenschaft der Calciumsalze, Farbstoffe aus einer Lösung zu binden (eine chemische Bindung?), oder auf einem wirklichen Ersatz des An- oder Kations im Calciumsalz oder der ganzen Verbindung, wobei die neugebildete

Verbindung unlöslich und zugleich gefärbt ist. Schon von vornherein haben die Methoden, wobei die Calciumsalze gefärbt werden, unser Mißtrauen (s. unten). *Grandis* und *Mainani* gebrauchten zum Nachweis des Calciums das Purpurin (1, 2, 4-Trihydroxyanthrachinon). Eine Calciumsalzlösung in Wasser von 1 : 800 wird schon nicht mehr mit Purpurin nachgewiesen. Die Hämatoxylinfärbung nach der *Röhlschen* Modifikation habe ich bei meinen Versuchen angewendet, ich möchte aber schon hier betonen, daß die Verteilung der Calciumsalzablagerung niemals nach einer Methode allein geprüft wurde. Die verschiedenen Methoden sollen einander ergänzen. Die *Röhlsche* Modifikation beruht im wesentlichen darauf, daß man bei der Vorbehandlung der Schnitte das Eisen entfernt; bestimmte Eisenverbindungen färben sich nämlich auch mit Hämatoxylin. Die Oxalsäurelösung löst bei der Vorbehandlung das Eisen und fixiert das Calcium im Gewebe als unlösliches oxalsaures Calcium. Diese Oxalsäurelösung greift das Hämatoidin nicht an.

Die von *A. B. Macallum*<sup>1)</sup> eingeführte Methode gestaltet sich folgendermaßen: Das anorganische Calcium wird durch schwefelsäurehaltigen Alkohol in  $\text{CaSO}_4$  übergeführt, welches völlig unlöslich in Alkohol ist. Das Calciumsulfat wird durch Bleiacetat in Bleisulfat verändert, das in Wasser unlöslich, jedoch farblos ist. Durch Hinzufügung von Ammoniumsulfid gibt das Bleisulfat die schwarze Bleisulfidreaktion. Dieses Verfahren, wobei das Calciumsalz vollständig durch ein anderes Salz ersetzt wird, ist umständlich und schließt, wie der Forscher selbst darzut, Fehlermöglichkeiten in sich.

*Grandis* und *Mainani* haben ferner Pyrogallol als Calciumreagens empfohlen. Es bildet sich Calciumpyrogallat, das ziemlich unlöslich ist, schnell Sauerstoff absorbiert und sich dann intensiv braun färbt. *von Kóssa*<sup>2)</sup> gebrauchte zum Nachweis des Calciums ein Gemisch von Pyrogallol und Alkali ( $\text{NaOH}$  oder besser noch  $\text{NH}_4\text{OH}$ ), es sollte damit noch 0,0001 g Calcium nachgewiesen werden. Für unseren Zweck eignet sich letzteres Verfahren nicht, weil die Alkalien nicht nur das Hämatoidin lösen, sondern auch chemisch angreifen sollten (*Virchow*). Leider bilden Na, K und Mg auch Pyrogallate, welche schwer aus dem Gewebe extrahiert werden können. Diese Pyrogallate nehmen aber nur eine hellbraune Farbe an. Auch diese Methode habe ich benutzt.

*von Kóssa* hat noch ein Verfahren, welches jedoch das Calcium mittelbar nachweist, eingeführt. Diese indirekte Methode wird mit einer wässrigen Lösung von  $\text{AgNO}_3$  ausgeführt. Diese Methode zeigt uns, wie kompliziert die Verhältnisse im Gewebe sind, so daß wir niemals ohne weiteres das Ergebnis des Reagensglasversuchs auf das der mikrochemischen Reaktion im Gewebe übertragen dürfen.  $\text{AgNO}_3$  gibt mit Phosphaten das unlösliche, gelbe Silberphosphat. Nun sollte nach den Analysen von *von Kóssa* bei gewissen Verkalkungen (l. c.) das Calcium fast immer als Phosphat im Gewebe anwesend sein. Man würde also eine gelbliche Verfärbung erwarten, jedoch die Phosphate färben sich tiefschwarz. Es spielt sich hier in kurzer Zeit eine Reduktion ab, welche nach *von Kóssa* von der Anwesenheit gewisser organischer Verbindungen in den geringen Ablagerungsmengen abhängt. *Macallum* (l. c.) betont, daß nicht nur das Licht, sondern auch die Luft Zutritt haben muß. Wir sehen also, wieviel Faktoren an dieser Reaktion sich beteiligen. *von Kóssa* zeigte, daß bei der Bildung von Silberphosphat in einer verdünnten Hühnereiweißlösung das gelbe, unlösliche Phosphat sich bald schwärzte. Er meinte, daß in der Calciumsalzablagerung vielleicht auch noch ein Albuminat zugegen war, welches die Reduktion des Silberphosphats veranlaßt. Nun haben die Untersuchungen von *Pfundler*, *E. Freudenberg*<sup>3)</sup> und *P. György* aus letzter Zeit wahrscheinlich gemacht, daß Stoffe, welche beim fermentativen Abbau und der Autolyse von Eiweißverbindungen entstehen, wie Aminosäuren, Kreatin,

Guanidin, Ammoniaksalze, Amine und Harnsäure, von großem Einfluß auf die Bindung der Calciumsalze im Gewebe sind. Der abweichende Verlauf der Silbernitratreaktion auf die Phosphate im Gewebe klärt uns also Wissenswertes über die Art der Calciumsalzablagerung im Gewebe auf, es bilden die Calciumsalze bei der Ablagerung im Gewebe einen „Calciumsalzproteinkomplex“. Nach Oskar Klotz<sup>4)</sup> sollte im toten Gewebe auch ein „Eiweißseifenkomplex“ (Compound) das Calcium binden können; dieser Verfasser hat die Silbernitratmethode insofern modifiziert, daß er damit auch die Calciumseifen zeigte. Nach demselben Forscher kommt man mit der Silbernitratmethode auch den Carbonaten auf die Spur, wenn man nur die Schnitte 3 bis 12 Stunden lang im Reagens beläßt. Es bildet sich Silbercarbonat, das im Sonnenlicht Kohlendioxyd abgibt und schwarzes Silberoxyd zurückläßt. Auch diese Modifikationen habe ich bei meinen Versuchen angewendet. Die von von Kóssa eingeführte Methode hat bei der Untersuchung von Calciumsalzablagerungen zweifellos Nutzen, jedoch müssen wir folgendes bedenken: Kleine, in Zellen vorhandene Mengen Calcium werden nicht nachgewiesen, außerdem findet in den Calciumsalzablagerungen mit Chloriden, Phosphaten, Sulfaten und Carbonaten anderer Basen, die in den kalkhaltigen Ablagerungen vorhanden sein können, auf Grund von Adsorption Reaktion statt. In kalkhaltigen Depots kommen außer Kalkseifen auch Seifen anderer Basen vor, welche sich mit dem Silber des Reagenses unter Bildung einer „reduzierbaren“ Silberverbindung vereinigen (*Macallum* l. c.).

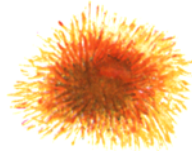


Abb. 1. Eine voll ausgebildete, stachelige Hämatoidinkugel aus der Randzone eines ischämisch-nekrotischen Herdes der Niere. Diese besteht aus zentralen Globulinenaggregaten, welche durch die nadel- (haar-) förmigen Hämatoidintrichiten verdeckt werden. Ölimm. Reichert. Zeichenok. Leitz.

Bei den Untersuchungen nach den Calciumsalzablagerungen bei ischämischer Nekrose, in nekrotischen Geschwulstteilen und bei Blutungen wurden drei Methoden gefolgt; jedes Verfahren hat wieder seine eigenartigen Fehlermöglichkeiten; bei der Röhl'schen Modifikation der Hämatoxylinfärbung umgehen wir die Fehler der Mitfärbung von Eisenverbindungen dadurch, daß wir das Eisen vorher aus dem Gewebe eliminieren, die Pyrogallolmethode zeigt uns das Calcium, das sich fast schwarzbraun färbt, die Silbernitratmethode und ihre Modifikationen weist uns das Säureradikal (Phosphat, Carbonat, Fettsäure) auf. Wenn wir die erworbenen Ergebnisse nach diesen verschiedenen Verfahren untereinander vergleichen, so dürfen wir bei einer übereinstimmenden Lokalisation der Reaktionen auf die Anwesenheit eines „Calciumsalzproteinkomplexes“ im Gewebe schließen.



Abb. 2. Gelblich-braune Hämatoidintrichiten aus der Randzone eines ischämischen Herdes d. Milz (myeloide Leukämie). Ölimm. Reichert. Zeichenok. Leitz.

Das Hämatoidin erscheint uns in den ischämisch-nekrotischen Herden, Blutungen und Thromben entweder als Krystalle bzw. amorphe Teilchen oder als gelber Farbstoff, welcher das Fibrin oder das Gewebe gleichmäßig gelb färbt [Adsorption oder (und) chemische Bindung?]. Für die verschiedenen Erscheinungsformen vergleiche man Abb. 1, 2 und 3. Die feinen Nadeln auf Abb. 1, 2 und 3 findet man in den ischämisch-nekrotischen Herden oder Geschwulstteilen. Diese Nadeln sind

öfters (wie auf Abb. 1) nach einem Mittelpunkt radiär gerichtet und bilden zusammen eine Art stachelige Kugel, welche hellgelb in der Peripherie, in dickeren Schichten zuerst rötlich gelb und in der Mitte endlich dunkelbraun erscheint. Solche Kugeln sind jedoch nicht immer voll ausgebildet, wie man das auf Abb. 2 und 3 ansehen kann. Die Farbe der nadelförmigen Hämatoidinkristalle ist nicht immer fuchsgelb, sondern



Abb. 3. Zentrale Globuliten mit gelben Hämatoidintrichiten (ischämischer Herd der Niere). Ölimm. Reichert, Zeichenok. Leitz.

bisweilen, wie ich solche bei einem ischämisch-nekrotischen Herd der Milz bei Leukämie beobachtet habe, braun (Abb. 2). Da, wo die Hämatoidinnadeln spärlich um einen Mittelpunkt geordnet sind, beobachtet man ein oder mehrere mehr oder weniger zusammengeballte, rundliche, fast ungefärbte, stark lichtbrechende Teilchen. Diese Teilchen sind ebenso wie die Hämatoidinnadeln doppelbrechend (es ist für das Studium des Hämatoidins ein Polarisationsmikroskop unentbehrlich). Auf Abb. 3 habe ich die Grenzlinien dieser anisotropen Teilchen zu scharf gezeichnet; Tatsache ist jedoch, daß die Lichtbrechung der Hämatoidinnadeln und „zentralen“

Teilchen verschieden ist. Es hat sich nun gezeigt, daß diese anisotropen „zentralen“ Teilchen immer da, wo ich sie aufgefunden habe, die Silbernitratreaktion und ihre Modifikationen, die Hämotoxylin- und Pyrogallolreaktion ergeben. Auf Abb. 4 findet man die intensiv geschwärzten „zentralen“ Teilchen nach der Färbung mit Silbernitrat,



Abb. 4. Die durch  $\text{AgNO}_3$  schwarzgefärbten Globuliten (krystallinische, Calciumsalzprotein-komplexe enthaltende runde Teilchen. Ölimm. Reichert, Zeichenok. Leitz.

auf Abb. 5 nach der Röhlschen Färbung wiedergegeben. In den Hämatoidinnadeln sah ich die genannten Reaktionen sich nicht abspielen, ebensowenig in den amorphen (isotropen) Hämatoidinteilchen, welche öfters zu kugeligen Aggre-

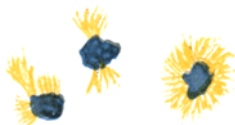


Abb. 5. Die Globuliten, dunkelblau gefärbt, nach der Röhlschen Hämatoxylinmeth. Ölimm. Reichert. Zeichenok. Leitz.

gaten zusammengepackt sind (s. Abb. 6). Es ist mir, wie auch aus dem Vorhergesagten erhellt, gelungen, immer da, wo ich die „zentralen“ Teilchen aufdecken konnte, den „Calciumsalzprotein-komplex“ mit genannten Reaktionen zu zeigen. Auch da, wo die Hämatoidinnadeln das Zentrum verdecken (Abb. 1.) kann man die „zentralen“ Teilchen zu Gesicht bekommen, wenn man auf folgende Weise verfährt. Man drückt die Gefrierschnitte fest auf entfettete Ob-

jektgläser, bedeckt diese mit einem Tropfen Chloroform und schnell darauf mit einem Deckglas, welches man mit Canadabalsam umrandet. Das Ganze stellt man in den Paraffinofen, nachdem man sich erst im Präparat die zu untersuchenden Hämatoidinnadeln bezeichnet hat. Das Chloroform löst die Hämatoidinnadeln sehr langsam auf, man kann den Vorgang von Tag zu Tag beobachten, und es kommen die „zentralen“ Teilchen allmählich deutlicher zu Gesicht. Es liegen dieselben anisotropen, rundlichen, stark lichtbrechenden Teilchen aufeinander gehäuft, wie man solche auf Abb. 3 und auf Abb. 4 und 5 abgebildet findet. Diese „zentralen“ Teilchen (welche nicht mathematisch genau im Zentrum gelegen sind, bisweilen auch exzentrisch) erscheinen jedoch nach der Lösung der Hämatoidinnadeln gelblichbraun gefärbt. Über die Natur dieser „zentralen“ Teilchen wird nachher ausführlich beim Krystallisationsvorgang gesprochen. Es ist nun möglich, nach der Lösung des Canadabalsams durch Xylol die im Anfang besprochenen Calciumreagentien auf die jetzt sichtbaren „zentralen“ Teilchen einwirken zu lassen, ja man kann sogar die Einwirkung fortdauernd beobachten. Auf diese Weise gelang es mir, jedesmal den „Calciumsalzproteinkomplex“ chemisch zu zeigen.

Die Frage ist zu beantworten: Findet man immer bei der nadelförmigen Krystallisation des Hämatoidins die *anisotropen* „Calciumsalzproteinkomplexe“ enthaltenden Teilchen zentral ausgebildet? Ich meine auf Grund meiner ausgedehnten Untersuchungen an verschiedenartigen Objekten genannte Frage bejahend beantworten zu müssen. Bisweilen beobachtet man in einem Schnitt eine nadelförmige Krystallisation ohne ausgebildetes Zentrum; es ist dies ein Schnitt aus dem peripheren Teil einer nadelförmigen Krystallisation, man findet die „zentralen“ Teilchen entweder im folgenden oder vorausgehenden Schnitt wieder. Einen derartigen peripheren Schnitt aus einer nadelförmigen Krystallisation des Hämatoidins findet man auf Abb. 2 abgebildet. Auf einen Umstand möchte ich noch hinweisen, es muß die ischämische Nekrose der Milz und Niere entweder frisch oder nach vorheriger Fixation in Alkohol untersucht werden; Formaldehyd löst das Calcium mehr oder weniger schnell aus dem Gewebe auf. Welche Bedeutung kommt dem soeben genannten Befund zu? Daß, wie aus nachfolgender Erörterung erhellt, das Hämatoidin *ein im Gewebssaft löslicher Komponent des Blutfarbstoffs* ist. *E. Neumann*<sup>5)</sup> hat auf die räumliche Trennung der beiden Blutfarbstoffpigmente, des Hämatoidins und Hämosiderins, im Gewebe hingewiesen. Das Hämatoidin findet man im toten oder in regressiver Metamorphose sich befindenden

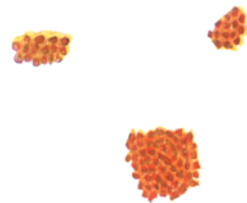


Abb. 6. Kugelige Aggregate von amorphen Hämatoidinteilchen (aus einer Blutung in der Bauchwand). Ölimm. Reichert, Zeichenok. Leitz.

Gewebe, das Hämosiderin im lebenden. Es sollte nach seinen Darstellungen das absterbende Gewebe nur Hämatoidin (auch nach *J. Cohnheim*), das lebende Gewebe Hämosiderin bilden. *W. Hueck*<sup>6)</sup> wendet ein, daß ein möglicher Umstand außer acht gelassen ist: Die Pigmente könnten anfangs gelöst vorhanden sein und brauchen nicht da gebildet zu sein, wo man sie im Gewebe, sei es in amorphem oder krystallinischem Zustande, vorfindet. Der Beweis für diese Annahme fehlte bis jetzt. Zum besseren Verständnis der mitgeteilten Befunde an der Hämatoidinkrystallisation in ischämisch-nekrotischen Herden ist es notwendig, daß wir den allgemeinen Krystallisationsvorgang näher betrachten.

Der Mutterstoff kann bei der Krystallisation recht verschieden gearartet sein. Es kann sich um Krystallisation aus dem dampfförmigen oder aus dem geschmolzenen, dem gelösten oder schließlich dem amorph-festen Zustande handeln. Bei der Hämatoidinkrystallisation handelt es sich, je nachdem solche in ischämisch-nekrotischen Herden oder in Blutungen stattfindet, um Krystallisation aus einer Lösung oder um Krystallisation aus dem amorph-festen und vielleicht dem geschmolzenen Zustande.

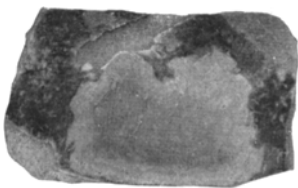


Abb. 7. Die periphere Zone eines frischen, ischämisch-nekrotischen Milzherdes so, wie sie deutlich durch ihre Farbe gekennzeichnet wird.

Die nadelförmige Hämatoidinkrystallisation findet man in den Teilen des ischämisch-nekrotischen Herdes, welche an dem lebenden Gewebe grenzen, auf. Diesen peripheren Teil erkennt man an frischen ischämisch-nekrotischen Herden öfters schon an der gelblichen Farbe wieder, auf Abb. 7 findet man den genannten Teil eines ischämisch-nekrotischen Herdes der Milz wiedergegeben. Obgleich es bis jetzt noch nicht gelungen ist, die Entstehung des Hämatoidins aus dem Hämoglobin zu bewerkstelligen und unmittelbar zu beobachten, so zweifelt doch wohl niemand daran, daß das Hämatoidin vom Blutfarbstoff stammt. Das Hämatoidin, das wir in den peripheren Teilen eines ischämisch-nekrotischen Herdes auffinden, rührt hauptsächlich vom Hämoglobin der roten Blutkörperchen der hämorrhagischen Zone her, welche die ischämisch-nekrotischen Herde mehr oder weniger vollkommen umschließt. Es ist auch in dieser Zone, daß das Hämatoidin gebildet wird. Wie das Hämatoidin nun in den ischämisch-nekrotischen Herd gerät, und wie es in der peripheren Zone desselben zur Krystallisation des Hämatoidins kommt, können wir nur verstehen, wenn wir bedenken, daß das Hämatoidin im Gewebssaft gelöst vorhanden ist. Wie der Gewebssaft in den ischämisch-nekrotischen Herd gerät, ist nicht nur durch Diffusion und Osmose allein zu erklären, sondern es spielt die Kolloidnatur der Eiweiße im ischämisch-nekrotischen Herd eine große Rolle; diese vermögen durch ihre Quellungs-fähigkeit Quellungsflüssigkeit

in sich aufzunehmen, und da unmittelbare Flüssigkeitszufuhr mit dem Blute in diesen Herd unterbleibt, stammt die Flüssigkeit aus der Umgebung. Ein Umstand soll auch nicht außer acht gelassen werden, daß eine demarkierende Entzündung sich im umschließenden, lebenden Gewebe fast immer ausbildet. So verstehen wir auch, daß die Flüssigkeit, welche in den ischämisch-nekrotischen Herd gerät, nicht nur Wasser, sondern ebenfalls Plasmakolloide und Salze enthält. Wie groß die Quellungs-fähigkeit der Kolloide eines ischämisch-nekrotischen Herdes ist, zeigt uns am deutlichsten der wiederholt gemachte makroskopische Befund, daß der frische Herd, *obgleich er seines Blutgehalts entbehrt*, geschwollen ist, so daß er sich über die Oberfläche des Organs erhebt [Aschoff, Tendeloo]. P. Foà<sup>7)</sup> hat diese Erscheinung bei der experimentell beim Kaninchen erzeugten ischämischen Nekrosen der Niere *schon nach den ersten 24 Stunden beobachtet*.

Die von mir erhobenen Befunde an der nadelförmigen Hämatoidinkrystallisation zeigen nun vollkommene Übereinstimmung mit dem, was die Krystallisation aus Lösungen uns gelehrt hat. Es besteht zwischen einem festen Stoff und seiner gesättigten Lösung ein Gleichgewicht, abhängig in erster Linie von der Natur der Stoffe (Löslichkeit des festen Stoffes in dem betreffenden Lösungsmittel), von der Temperatur und vom Druck. Die am meisten verdünnte Lösung ist die stabilste, nun kann die Lösung eine Änderung erfahren, indem die Menge des festen Stoffs unter übrigens gleichen Bedingungen zunimmt (z. B. bei der ischämischen Nekrose: es wird mit der Zeit bis zur gewissen Grenze je mehr Hämatoidin gebildet), die Temperatur erfährt anfänglich beim Übergang vom lebenden Gewebe in das tote, das Wärmezufuhr durch das Blut entbehrt, möglicherweise eine Erniedrigung, und schließlich kann auch eine Druckänderung eine gewisse Rolle spielen (wie wir wissen, ist eine Änderung vom CO<sub>2</sub>-Druck beim Übergang vom lebenden in das tote Gewebe, das kein CO<sub>2</sub> mehr bildet, zu erwarten). Es entsteht aus der stabilen eine metastabile Lösung, mit einer geringen Übersättigung [Wi. Ostwald<sup>8)</sup>]. Es muß für die Krystallisation aus einer derartigen Lösung ein „Keim“ anwesend sein.

Ob das metastabile Gebiet scharf umgrenzt ist, und ob in demselben überhaupt keine freiwillige Krystallisation möglich ist, ist eine noch nicht mit Sicherheit entschiedene Frage.

Welche Rolle spielen die „Calciumsalzproteinkomplexe“ in den „zentralen“ Teilen der nadelförmigen Hämatoidinkrystallisation? Nach den mitgeteilten Erörterungen scheint es die Rolle *eines Keimes* zu sein. Und so verstehen wir die nahen Beziehungen, welche bestehen zwischen der Calciumsalzfällung und der Hämatoidinkrystallisation im toten Gewebe. Ostwald<sup>9)</sup> hat Versuche angestellt, welche die unterste Grenze der Krystallisation zeigen. Es ergab sich, daß das Gewicht eines

Keimes nur  $10^{-8}$ — $10^{-12}$  g zu sein braucht, um Krystallisation hervorzurufen. Diese Versuche haben einen großen Wert, denn sie lehren uns, daß ein „Keim“ vorhanden sein kann, ohne daß wir den mit chemischen Reagentien zeigen können. Bei einem negativen Ausfall der Calciumsalzreaktionen sind wir darum noch nicht berechtigt, auf die Abwesenheit eines Keimes bei einer Hämatoidinkrystallisation zu schließen. Meine Untersuchungen haben die Bedeutung die Möglichkeit, gezeigt zu haben, daß die „Calciumsalzproteinkomplexe“ den Keim bilden können für die nadelförmige Hämatoidinkrystallisation. Ob andere Metallsalzfällungen nicht auch den Keim bilden können, wage ich nicht zu entscheiden, die Möglichkeit muß wenigstens zugegeben werden.

Über die anisotropen, gelblichbraun gefärbten „zentralen“ Teilchen, die wir aufeinander gehäuft nach der Lösung der Hämatoidinnadeln zu Gesicht bekommen, lehren uns die eingehenden, zuerst von Hermann Vogelsang<sup>10)</sup> angestellten unmittelbaren Untersuchungen über den Krystallisationsvorgang und das Aussehen der verschiedenen Produkte in den einzelnen Stadien der Krystallisation. Vogelsang ließ unter dem Mikroskop Schwefel aus Schwefelkohlenstofflösung und kohlen-saures Calcium aus wässriger Lösung sich abscheiden. Er erhöhte die innere Reibung, indem er das Lösungsmittel z. B. mit Canadabalsam vermischte; er setzte damit den Krystallen bei ihrer Ausbildung ein erhebliches Hindernis entgegen und verlangsamte dadurch die Krystallisation. Auf der niedrigsten Entwicklungsstufe stellten sich die Krystalle als kleine kugelförmige Teilchen dar, „Globuliten“ genannt (die von mir bei der Hämatoidinkrystallisation genannten „zentralen“ Teilchen, vgl. Abb. 3, 4, und 5). Die Kügelchen reihen sich zu Schnüren aneinander („Margariten“ genannt); diese Schnüre gruppieren sich dann weiter unter gewissen Bedingungen zu feindendritischen und strahligen Aggregaten. Nebenbei findet man vielfach Büschel haarförmiger Krystallindividuen, sog. „Trichiten“ (die Hämatoidinnadeln). An den Hämatoidinnadeln habe ich eine margaritische Anordnung von Globuliten, wie Vogelsang eine solche bei Trichiten gesehen hat, nicht unzweideutig nachweisen können. Schließlich sieht man Übergangszustände zwischen diesen „Krystalliten“ (als unentwickelte, „embryonische“ Krystalle aufzufassen, Vogelsang, l. c. S. 7). und den fertig ausgebildeten Krystallen. Diese Untersuchungen von Vogelsang lehren uns, daß die krystallitische Hämatoidinausscheidung in ihren verschiedenen Stufen, wie wir sie in den ischämischen Herden aufgefunden und abgebildet haben, durch starke Hemmung der fortschreitenden Krystallisation hervorgerufen werden. Es entstehen die „Globuliten“ usw. des Hämatoidins bei stürmischer, überhasteter Krystallisation und bei zäher Beschaffenheit der Lösung, die den leichten Ausgleich von Konzentrationsunterschieden verhindert. Ich muß die Möglichkeit, daß es



zur Ausbildung einer rhombischen Säule in der peripheren Zone eines ischämisch-nekrotischen Herdes kommen kann, zugeben, weil ich ein einziges Mal eine kleine rhombische Säule da aufgefunden habe.

Den *Sphärolithen* haben wir die voll ausgebildeten, *stacheligen Hämatoidinkugeln* (s. Abb. 1) zuzurechnen. Mehr oder weniger zentral finden wir die kugeligen oder brombeerbörmigen Aggregate der Globuliten, von *Vogelsang* (l. c.) *Cumuliten* genannt, während die krystallinischen Hämatoidinnadeln sich radiär auf diese Cumuliten richten (s. Abb. 3, 4 und 5). Sphärolithe sind äußerlich kugelförmige, ellipsoidische bis unregelmäßig rundliche Körper von krystallinischer Beschaffenheit mit zentrisch-, seltener exzentrisch — radialfaseriger, manchmal auch konzentrischer Struktur.

Durch welche Faktoren wird die Löslichkeit des Hämatoidins im Gewebssaft bedingt? Diese Frage ist auf Grund der Ergebnisse unserer bis jetzt mitgeteilten Untersuchungen nicht endgültig zu beantworten, höchstens können wir Vermutungen darüber aussprechen. Es hat sich gezeigt, daß die Calciumsalzfällung und Bindung im toten Gewebe in naher Beziehung zur Hämatoidinkrystallisation steht. Es bestehen zwei Möglichkeiten: entweder die Löslichkeit des Hämatoidins wird durch die Anwesenheit von Ca-Ionen im Gewebssaft u. a. bedingt (und daraus kann man folgern, daß mit der Fällung und Bindung der Calciumsalze zu gleicher Zeit die Löslichkeit des Hämatoidins beeinträchtigt wird, und es bilden die Calciumsalzniederschläge zugleich die „Keime“ für die metastabile Hämatoidinlösung), oder aber dieselben Faktoren, welche zur Fällung der Calciumsalze und Bindung an die Proteine mitwirken, bedingen die Hämatoidinkrystallisation. Die Calciumsalzhämatoidinkrystallisation wird eben durch diese Faktoren bedingt. Im letzteren Falle sind die Löslichkeitsbedingungen für die Calciumsalze auch für das Hämatoidin ausschlaggebend. Fassen wir einen Augenblick die Faktoren, welche die Löslichkeit und auch die Ablagerung der Calciumsalze im toten Gewebe bestimmen, ins Auge, so ersehen wir auch hier wieder die Bedeutung der Konstellation von Faktoren (*Tendeloo*). Für eine ausführliche Darstellung der pathologischen „Verkalkungen“ und experimentelle Erzeugung derselben vergleiche man die Allgemeine Pathologie *Tendeloo*s<sup>11)</sup>. Wäre die Ablagerung der Calciumsalze im toten Gewebe eine einfache Fällung ohne weiteres, so würden wir niemals längere Zeit bestehende tuberkulöse und syphilitische Käseherde mitten im lebenden Gewebe antreffen, welche keinen nennenswerten Calciumsalzgehalt aufweisen, eine Beobachtung, worauf *Tendeloo* besonders hindeutet. Die Untersuchungen von *Pfaundler*, *E. Freudenberg* und *P. György* berücksichtigen die Faktoren, welche außerdem zur Bindung der Calciumsalze im Gewebe Veranlassung geben (s. S. 274). *C. A. Pekelharing*<sup>12)</sup> und *Tendeloo* (l. c.)

deuteten schon auf die Affinität, welche zwischen gewissen Stoffen im Gewebe und Calciumsalzen besteht. von Kóssa (l. c.) erklärt uns durch das Experiment, weshalb die  $\text{AgNO}_3$ -Reaktion auf Calciumsalze im Gewebe sich anders gestaltet als im Reagensglas (im Gewebe liegt ein „Calciumsalzproteinkomplex“ vor). Auf eine von mir gezeigte gesetzmäßige Ablagerung der Calciumsalze im toten Gewebe möchte ich noch kurz hinweisen (eine ausführliche Darstellung erscheint in einem folgenden Aufsatz). Es ist mir an „verkreideten oder verkalkten“ Käseherden und ischämischen Nekrosen gelungen, eine auf dem Durchschnitt *ringförmige Calciumsalzniederschlagsbildung* nachzuweisen. Die „verkalkten“ Käseherde zeigen sie öfters in schöner Weise, die ischämisch-nekrotischen Herde je nach dem Alter eine mehr oder weniger vollkommene Ringbildung. Es sei hier nur kurz auf die Übereinstimmung mit der von Raphael Ed. Liesegang entdeckten *rhythmischen Fällungen in Gallerten* hingewiesen. Daß die Calciumsalzablagerung im toten Gewebe eine vorwiegend kolloidchemische Frage ist, ist einleuchtend. Ich verzichte auf eine Erklärung dieser Erscheinung, es besteht hier noch keine Einigkeit in der Deutung derselben (Theorie von Wi. Ostwald, von Freundlich, von Lord Rayleigh, von S. C. Bradford), vgl. R. E. Liesegang<sup>13</sup>).

Was die Löslichkeit der Calciumsalze (Carbonate, Phosphate) im Gewebssaft anbetrifft, so haben wir zwei Faktoren besonders zu beachten; es sind das die Kolloide und die H-Ionenkonzentration. Nach Lichtwitz sollte die Löslichkeit der Calciumsalze durch die Anwesenheit von Kolloiden erhöht werden, es sind jedoch nach den Angaben von Rona, Freudenberg, György die anorganischen Phosphate im Plasma dialysierbar und teilweise ultrafiltrierbar. Findet eine Kolloidfällung im toten Gewebe statt, so kann diese nicht ohne Bedeutung auf die Löslichkeit der Calciumsalze sein. Auf die H-Ionenkonzentration im Gewebssaft hat beim Übergang vom lebenden ins tote Gewebe wohl die Druckänderung des  $\text{CO}_2$  Einfluß. Anfangs ist der Temperaturunterschied zwischen dem lebenden und toten Gewebe jedenfalls nicht ohne Bedeutung für die Löslichkeit. Die Faktoren, welche die Löslichkeit des Hämatoidins im Gewebssaft bedingen, können also sein: die Ca-, H-Ionenkonzentration, die Anwesenheit von Kolloiden und die Temperatur.

Begegnet man im Körper jemals fertig ausgebildeten Hämatoidinkrystallen? Dafür ist es nötig, daß wir die Erscheinungen an Geweben mit Blutung näher betrachten. Da, wo Blutungen im Gewebe stattgefunden haben, erscheint mitten in der Blutung das Hämatoidin (die Reaktionen zum Nachweis desselben werden später besprochen) als amorpher Stoff (vgl. Abb. 6 und 8, als Krystalle, rhombische Säulen und Tafeln oder als gelblicher Farbstoff, welcher das Gewebe oder

Fibrin diffus gelblich färbt. Das Hämatoidin erscheint als amorphe, dunkelrote Teilchen (sie sind im polarisierten Licht einfachbrechend, also isotrop; nur Krystalle des regulären Systems sind auch isotrop), welche entweder einzeln oder in kugeligen Konglomeraten (Abb. 6) vorkommen. Die rhombischen Säulen und Tafeln findet man entweder einzeln oder als mehrere Individuen, mehr oder minder vollkommen von einem gelblich gefärbten Hof aus Hämatoidin umgeben (Abb. 8) auf.

Drei Möglichkeiten als Ausgangspunkt für die Hämatoidinkrystallisation ergeben sich aus den Befunden an den Blutungen: Es können Krystalle aus dem amorph-festen Zustande entstehen, in casu aus den amorphen, kugeligen Konglomeraten (Abb. 6). Diesen Übergang vom amorph-festen in den Krystallzustand kann man z. B. schön beobachten, wenn man  $\text{CaCl}_2$  und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zusammenbringt; es bildet sich anfänglich ein amorpher  $\text{CaCO}_3$ -Niederschlag, welcher nach längerem Verweilen in der Fällungsflüssigkeit in den krystallinen Zustand übergeht.

Es kann zweitens Hämatoidinkrystallisation aus einer labilen (stark übersättigten) Hämatoidinlösung, ähnlich wie eine solche mitten in der Blutung entstehen könnte, erfolgen.

Schließlich ist Krystallisation auch aus dem geschmolzenen Zustande möglich.

Daß das Hämatoidin entweder in einer stark übersättigten Lösung oder im geschmolzenen Zustande in der Blutung vorhanden sein kann, dürfte man aus der gelblichen Mitfärbung des Gewebes oder Fibrins durch das Hämatoidin folgern. Diese drei genannten möglichen Ausgangsprodukte für die Hämatoidinkrystallisation sind schon von Virchow<sup>14)</sup> im Jahre 1847 berücksichtigt worden.

Betheiligen sich die „Calciumsalzprotein-komplexe“ auch an dem Aufbau der rhombischen Hämatoidinsäulen und Tafeln? Man würde das aus den Befunden der Krystallitenbildung in ischämisch-nekrotischen Herden usw. erwarten. Es ist mir nur mit der  $\text{AgNO}_3$ -Färbung (Schnitte wurden  $\pm 24$  Stunden in der Lösung aufbewahrt) gelungen, einen Stoff oder Stoffe in den rhombischen Säulen und Tafeln nachzuweisen, welche sich mit dem Silbernitrat schwarz färben. Auf Abb. 9 sind die rhombischen Hämatoidinsäulen und Tafeln, wie man sie nach dem Ablauf der Silbernitratreaktion sieht, abgebildet worden.



Abb. 8. Rhombische Hämatoidintafeln und -säulen, amorphe Hämatoidinteilchen, und das Gewebe gelblich färbende Hämatoidin (Bauchwandblutung). Ölimm. Reichert. Zeichenok. Leitz.

Eins möchte ich noch bemerken, daß die schwarzen Linien nicht etwa eine räumliche Struktur im Krystall wiedergeben; es sind die Linien bei der mikroskopischen Beobachtung in der horizontalen Ebene, also in einer Fläche gezeichnet worden. Wie sich die räumliche Anordnung des mit dem Silbernitrat nachgewiesenen Stoffes im Hämatoidinkrystall gestaltet, ist an diesen mikroskopischen Gebilde schwer zu sagen. Den mit dem Silbernitrat nachgewiesenen Stoff findet man meistens als schwarze Pünktchen im Krystall auf. Nicht immer ist die Anordnung dieser Teilchen eine regelmäßige; einmal sah ich in einer rhombischen Tafel anscheinend in gleich großen Abständen voneinander entfernt kleine schwarze Pünktchen. Unter dem Polarisationsmikroskop erscheint das Hämatoidin zwischen den schwarzgefärbten Teilchen im Krystall noch doppelbrechend. Mit dem Hämatoxylin- und Pyrogallolverfahren ist es mir bisher nicht gelungen, den mit Silbernitrat nachgewiesenen Stoff im Krystall zu zeigen. Durch diesen Umstand ist die



Abb. 9. Rhombische Hämatoidinsäulen und -tafeln nach der  $\text{AgNO}_3$ -Reaktion. Vergr.: Ölimm. Reichert, Zeichenok. Leitz.

Anwesenheit eines „Calciumsalzproteincomplexes“ als zweiter an dem Aufbau des Hämatoidinkrystalls mitbeteiligter Stoff nicht erwiesen, obgleich wir diesen „Komplex“ auch hier erwarten dürfen. Es liegen die Verhältnisse für die Reaktion mit Pyrogallol und Hämatoxylin im ausgebildeten Krystall anders, als bei den Hämatoidinkrystalliten. Wie dem auch sei, es bestehen die rhombischen Hämatoidinsäulen und Tafeln nicht nur aus einem chemisch einheitlichen Stoff, sondern es beteiligen sich mehrere Stoffe an dem Aufbau dieser Krystalle. Es sind *Mischkrystalle*. Es sei hier nur kurz eingegangen auf die die Mischkrystalle betreffenden Fragen. Die Beobachtung der Mischkrystalle regen zur Betrachtung einer Grundfrage der Chemie an, des Verhältnisses nämlich zwischen chemischer Verbindung und physikalischem Gemisch. Nach *W. Nernst*<sup>15)</sup> sind die Unterschiede zwischen physikalischem Gemisch und chemischer Verbindung doch nur graduell, und man findet zwischen beiden in der Natur alle Abstufungen. Man sei vorsichtig in der Fähigkeit, Mischkrystalle zu bilden, das entscheidende Merkmal für Isomorphie zu suchen. Es brauchen die Stoffe, welche Mischkrystalle bilden, keine chemisch analogen Körper zu sein. Salmiak kann z. B. chemisch ganz heterogene Stoffe bis zu einem gewissen Grade in sich aufnehmen [*O. Lehmann*<sup>16)</sup>, *Retgers*<sup>17)</sup>]. Festes Benzol vermag mit Jod gemischt auszukrystallisieren (*W. Nernst*, l. c.) Bei den Hämatoidinkrystallen beteiligen sich am Aufbau allem Anschein nach *chemisch nicht analoge Körper*. Es sind „Einschlüsse“ nicht mit dem Mischkrystall zu verwechseln. Man findet in Krystallen bisweilen mehr

sondern es beteiligen sich mehrere Stoffe an dem Aufbau dieser Krystalle. Es sind *Mischkrystalle*. Es sei hier nur kurz eingegangen auf die die Mischkrystalle betreffenden Fragen. Die Beobachtung der Mischkrystalle regen zur Betrachtung einer Grundfrage der Chemie an, des Verhältnisses nämlich zwischen chemischer Verbindung und physikalischem Gemisch. Nach *W. Nernst*<sup>15)</sup> sind die Unterschiede zwischen physikalischem Gemisch und chemischer Verbindung doch nur graduell, und man findet zwischen beiden in der Natur alle Abstufungen. Man sei vorsichtig in der Fähigkeit, Mischkrystalle zu bilden, das entscheidende Merkmal für Isomorphie zu suchen. Es brauchen die Stoffe, welche Mischkrystalle bilden, keine chemisch analogen Körper zu sein. Salmiak kann z. B. chemisch ganz heterogene Stoffe bis zu einem gewissen Grade in sich aufnehmen [*O. Lehmann*<sup>16)</sup>, *Retgers*<sup>17)</sup>]. Festes Benzol vermag mit Jod gemischt auszukrystallisieren (*W. Nernst*, l. c.) Bei den Hämatoidinkrystallen beteiligen sich am Aufbau allem Anschein nach *chemisch nicht analoge Körper*. Es sind „Einschlüsse“ nicht mit dem Mischkrystall zu verwechseln. Man findet in Krystallen bisweilen mehr

oder weniger rundliche, sich durch andere Lichtbrechung vom umschließenden Hämatoidin unterscheidende Körperchen auf.

„Verwachsungen“ von zwei oder mehr Krystallindividuen (Zwillinge bzw. Viellinge), schon äußerlich zu erkennen am Vorhandensein einspringender Winkel, welche bei einfachen Krystallindividuen nicht vorkommen können, findet man öfters in Blutungen (schon *Virchow*, l. c., hat sie gesehen und abgebildet).

Nach *August Ewald*<sup>18)</sup> sind die Hämatoidinkrystalle (er untersuchte große Krystallindividuen aus einem apoplektischen Herd im Gehirn) schwach dichroitisch.

Dichroismus ist die bei doppelbrechenden Krystallen nicht seltene Erscheinung, daß sie im Polarisationsmikroskop nach zwei verschiedenen Richtungen mit verschiedener Farbe durchsichtig sind.

Die Spektra ergaben auch geringe Unterschiede bei der Beobachtung des Farbenunterschieds in den nach zwei verschiedenen Richtungen untersuchten Hämatoidinkrystallen. Das Mikrospektrum des Hämatoidins zeigte eine starke Absorption vom violetten Ende bis ins Grüne, wo ziemlich plötzlich eine absolute Aufhellung auftrat. Ich komme auf diese Beobachtung später zurück, wenn die Eigenschaften des Hämatoidins mit denen des Bilirubins verglichen werden. Lutein gab nach den Untersuchungen von *Ewald* ganz andere Auskünfte.

Noch ein Wort über die sich im Hämatoidinkrystall und in den „Globuliten“ abspielende Silbernitratreaktion. Merkwürdig ist es, daß, obgleich im Krystall anstatt des ursprünglichen Stoffes ein anderer Stoff hineingetreten ist, die Architektur des Krystalls sich nicht merklich ändert. Diese Erscheinung ist bekannt. Ein kristallographischer Umbau entsprechend einer Substitution in der Molekelchemie läßt sich insbesondere leicht bei Zeolithen (wasserhaltige Silicate, die als Zersetzungsprodukte von basaltischen Laven aufzufassen sind) bewerkstelligen, sei es, daß man ausgetriebenes Wasser durch neues ersetzt oder die Base Ca durch Einwirkung einer Na-Salzlösung mehr oder minder weitgehend gegen Na austauscht. Für entferntes Wasser lassen sich auch Fremdkörper wie Schwefelkohlenstoff, Alkohol u. a., einführen. Die Krystallnatur bleibt immer erhalten und spezifisch-optische Merkmale stellen sich ein [*F. Rinne*<sup>19)</sup>].

In der Natur gibt es mehrmals Krystalle, an deren Aufbau sich mehrere Stoffe beteiligen. So ist es *W. Biedermann*<sup>20)</sup> gelungen, an Panzerkrystallen (Krebspanzer), welche aus  $\text{CaCO}_3$  6 aq. bestehen, eine Art „Stroma“ nachzuweisen. Das „Stroma“ färbte er mit durch Essigsäure schwach angesäuerter Säurefuchsinlösung; das  $\text{CaCO}_3$  löste er mit verdünnter Essigsäure oder verdünnter Chromsäure, die Schichtung blieb prachtvoll erhalten und ebenso auch die Form des ganzen Krystalls. *Moynier de Villepoix* hat solche Krystalle bei Anodonta, *Minchin* und *Minchin* u. *Reid* haben in kalkigen Spongiennadeln organische Achsenfäden und organische Spiculascheide nachgewiesen.

Durch welche Reaktionen indentifizieren wir das Hämatoidin im Gewebe? Wie bekannt, hat *Virchow* (l. c.) das schöne Farbenspiel, durch konzentrierte Säuren an den Hämatoidinkrystallen hervorgerufen, als erster beobachtet und die Verschiedenheit desselben ganz genau beschrieben. *Virchow* ist auch der erste gewesen, der auf die Übereinstimmung dieser Farbenreaktion mit der *Gmelinschen* Reaktion hingewiesen hat. Diese Beobachtungen sind nicht ohne Bedeutung für die Auffassung über eine mögliche, außerhalb der Leber gelegene Bildungsstelle der Gallenfarbstoffe geblieben. Sie bilden die Grundlage der Theorie des hämatogenen, anhepatischen Ikterus von *Virchow*, *Leyden* und *Quincke*. Bis jetzt wird das Hämatoidin noch immer von verschiedenen Forschern mit Bilirubin identifiziert; es entbehrt jedoch diese Behauptung noch der wissenschaftlichen Grundlage. *Virchow* (l. c.) gab schon ganz genau die Abweichungen der *Gmelinschen* Reaktion, am Hämatoidin hervorgerufen, an. *Quincke* aber sprach schon von Gallenfarbstoff, wenn er damit das Hämatoidin meinte.

An erster Stelle weicht die *Gmelinsche* Reaktion beim Hämatoidin insofern von der des Bilirubins ab, daß das Farbenspiel am schönsten und vollkommensten bei Hämatoidin gelingt, wenn wir konzentrierte Schwefelsäure ohne weiteres hinzufügen. Am Bilirubin (und Hämatoporphyrin) gelingt es meistens nur unter Zusatz von weiteren Oxydationsmitteln. Konzentrierte, gelbe, rauchende Salpetersäure erzeugt am Bilirubin meistens ein schönes Farbenspiel (obgleich *Minkowski* und *Naunyn* die Unzuverlässigkeit der *Gmelinschen* Reaktion an Gewebsschnitten schon beobachtet hatten), am Hämatoidin im Gewebsschnitt, wenn wir vorher den Schnitt mit Kalilauge behandeln.

Das amorphe, krystallinische und als gelber Farbstoff diffus im Gewebe vorkommende Hämatoidin habe ich nicht nur der Form und Farbe nach, sondern auch mit den soeben genannten Reaktionen identifiziert. Mit konzentrierter Schwefelsäure bekommt man die schönsten und zuverlässigsten Ergebnisse. Die Reihenfolge der Farben ist dunkelrotbraun (worauf bisweilen dunkelgrün folgt), sonst blau, grün und manchmal violett. Die violette Farbe bleibt bisweilen aus, und der grüne Farbstoff bildet das Endprodukt der Reaktion; es ist mir gelungen, den grünen Farbstoff im Gewebe seit einem halben Jahr im Glycerin aufzubewahren. Das Farbenspiel, durch Salpetersäure nach vorheriger Behandlung mit Kalilauge hervorgerufen, ist mannigfaltiger, die Reihenfolge ändert sich, und das Ergebnis ist wechselvoller, weniger zuverlässig. Die Reaktion fängt an entweder mit einer dunkelrotbraunen oder dunkelblaugrünen Verfärbung, es folgt darauf plötzlich ein Umschlag in schmutziggelb, oder es folgt auf die dunkelrotbraune Farbe eine braune, bräunlichgelbe und schließlich eine hellgelbe.

Bekannt ist, daß das Cholesterin, die Lipochrome, viele pflanzliche

Fette, Öle, Harze und Fettsäuren mit Schwefelsäure eine Farbenreaktion geben können. Damit keine Verwechslung z. B. mit dem Lutein vor kommen kann, müssen wir immer zwei Farben bei der Säurereaktion auf Hämatoidin beobachtet haben, nämlich: die grüne und die (rot-) violette. Nach meiner Erfahrung ist daher auch die konzentrierte Schwefelsäure am geeignetsten für die Hämatoidinreaktion, denn sie gibt doch immer noch gegenüber der Salpetersäure die am wenigsten un-steten Ergebnisse. Noch die folgende Bemerkung möchte ich machen: Wenn man mit Salpetersäure arbeitet, so darf sie nicht zu viel salpetrige Säure enthalten, weil die Reaktion dann zu rasch verläuft; Alkohol darf nicht im Gewebe zugegen sein, weil er mit der Säure ein Farbenspiel in Grün oder Blau hervorrufen kann.

Aus dem Vorhergesagten geht deutlich hervor, wie vorsichtig man mit der Deutung des sog. *Gmelinschen* Reaktion sein muß, außerdem ist die *Gmelinsche* Reaktion *nicht* für Bilirubin spezifisch, zumal das Hämatoporphyrin [sehr verschieden von Bilirubin nach dem chemisch-analytischen Verfahren, *S. J. Thannhauser*<sup>21)</sup>] auch diese Reaktion gibt. Hämatoidin sollte nicht, wie das Bilirubin, die *Ehrlich-sche* Diazoreaktion geben (*Thannhauser*); die kristallographischen Vergleichswerte von Hämatoidin und Bilirubin sollten verschieden sein [*Thannhauser*, l. c.]\*). Das Hämatoidin gibt mikrochemisch keine Eisenreaktion; gestattet diese Beobachtung auch die Aussprache, daß im Hämatoidinmolekül kein Eisen vorhanden ist? Man sei damit vorsichtig, zumal die Geschichte uns gelehrt hat, daß man anfangs ein Pigment für eisenfrei hielt, nachher jedoch durch Modifikationen der Eisenreagenzien das Eisen besonders in organischen Eisenverbindungen nachgewiesen haben soll. Ein solches Pigment soll auch das Malariapigment sein. *W. H. Brown*<sup>22)</sup> u. a. nach ihm haben durch gewisse Modifikationen der Eisenreaktionen das Eisen in einer Ringform um die Pigmentgranula herum nachweisen können. Ich bin jedoch nicht überzeugt, daß das in dieser Form nachgewiesene Eisen ein an dem Aufbau des Malariapigmentmoleküls mitbeteiligtes Element darstellt; überzeugender wäre es gewesen, wenn regelmäßig die modifizierte Eisenreaktion im Pigmentgranulum selbst gelungen wäre\*\*).

Meine Beobachtungen an den Hämatoidinkrystalliten und -krystallen haben die Bedeutung der Calciumsalze gezeigt; die *Ostwaldschen* Experimente lehren uns, wie klein der „Keim“ einer Krystallisation zu sein braucht, so daß wir den „Keim“ chemisch nicht mehr nachweisen können.

\*) Die Angaben der verschiedenen Forscher über diesen Gegenstand stimmen nicht miteinander überein (vgl. auch *von Groth*, *Holst*, *Steinmetz*).

\*\*) Nach *Edmund Mayer* (*Virchows Archiv* **240**, S. 117. 1922) sollen braunschwarze Malariapigmentkugeln sich bisweilen bei der modifizierten Eisenfärbung in homogene dunkelblaue oder smaragdgrüne Kugeln umwandeln.

Immerhin kann der „Keim“ anwesend sein, dasselbe gilt auch für das Eisen. Das mikrochemische Verfahren hat seine Grenzen.

Ein für allemal gilt auch hier wieder der Satz, daß wir für die Lösung aller schwebenden Fragen *die vollständige chemische Analyse, des vollkommen reinen Hämatoidins nicht nur die qualitative, sondern auch die quantitative* bedürfen.

Ein Verfahren zur Bereitung des Hämatoidins aus dem Hämoglobin besitzen wir noch nicht; Angaben über eine vollständige Analyse des Hämatoidins bestehen in der Literatur. Wie aber bald gezeigt wird, hat diese Analyse keinen zuverlässigen Wert. *Charles Robin*<sup>23)</sup> hat im Jahre 1855 seine Untersuchungen am sog. Hämatoidin, aus einer Lebereyste gewonnen, veröffentlicht. 3 g Hämatoidin hat er analysiert. Es ist aber ohne weiteres einleuchtend, daß eben ein Organ wie die Leber der am wenigsten geeignete Ort ist, um vollständig reines Hämatoidin aufzufinden; vielmehr erwarten wir hier wenigstens ein Gemisch von Hämatoidin und Bilirubin.

Nach der Spektralanalyse ergeben Bilirubinlösungen keine Absorptionsstreifen, sondern nur eine kontinuierliche Absorption vom roten zu dem violetten Ende des Spektrums; nach den Untersuchungen von *Ewald* (s. S. 285) ist das Mikrospektrum des Hämatoidins auch durch eine kontinuierliche Absorption ausgezeichnet, welche aber vom violetten Ende bis ins Grüne, wo sie ziemlich plötzlich aufhört, reicht. Genauere Angaben sind sehr erwünscht. Der Wert der spektroskopischen Untersuchung für den Identitätsnachweis von Farbstoffen scheint jedoch nicht absolut eindeutig verwertbar zu sein; das Urinporphyrin z. B. zeigt das Hämatoporphyrinspektrum und sollte doch von diesem Körper vollständig verschieden sein (*Thannhauser*, l. c.).

Sowohl Hämatoidin wie Bilirubin sind beide in warmem  $\text{CHCl}_3$  löslich, in Alkohol, Äther und Wasser fast unlöslich. Alkalisches Wasser löst Bilirubin, es entsteht das lösliche Bilirubinalkali; das Hämatoidin wird teilweise durch Alkali gelöst und sollte nach *Virchow* (l. c.) auch angegriffen werden.

*W. Hueck* (l. c.) vergleicht die Eigenschaften des Hämatoidins, seine Löslichkeit und auch die *Gmelinsche* Probe mit denen des Hämatoporphyrins. Das Hämatoporphyrin (welches?) ist leicht löslich in Eisessig, löslich in fixen und kohlensauen Alkalien, verdünnten Mineralsäuren, Alkohol und gibt die *Gmelinsche* Farbenreaktion. Wenn man über das Hämatoporphyrin spricht, meint man das am genauesten studierte Hämatoporphyrin nach dem Verfahren von *Nencki* und *Sieber* durch Einwirkung von mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig auf Häminkristalle, am besten bei Körpertemperatur (*Nencki* und *Zaleski*). Ein anderes Porphyrin ist das ebenfalls von *Nencki* und *Zaleski* durch Reduktion des Hämins in Eisessig mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium erhaltene Mesoporphyrin. Hieraus ergibt sich, daß wir nicht von einem Hämatoporphyrin reden dürfen. Im allgemeinen also entstehen die Porphyrine aus Häm in durch Einwirkung von Brom- oder Jodwasserstoffsäure, wodurch gleichzeitig *die Abspaltung des*



*Eisens* und eine *Reduktion* herbeigeführt wird. Nach W. Küster<sup>24)</sup> sollte es sicher sein, daß die Umwandlung des Hämatins in Bilirubin außer in der *Abspaltung des Eisens* auf einer *Oxydation* beruht.

Wollen wir also die Stellung des Hämatoidins (wenn wir vorläufig annehmen, daß es kein Eisen besitzt) den Blutporphyrinen (die Chlorophyllporphyrine sind nahe mit diesen verwandt, *Willstätter*) einerseits und dem Bilirubin andererseits gegenüber bestimmen, so bedeutet das, ob wir an dem Hämatoidin chemische Eigenschaften entdecken können, welche entweder mit denen der Blutporphyrine oder des Bilirubins übereinstimmen. Nun ist das *Bilirubin im Gegensatz zu den Porphyrinen nicht imstande, mit Metallen komplexe Salze zu bilden*. Wenden wir uns nun zu den an den Hämatoidinkrystalliten und -krystallen gemachten Beobachtungen. Wir haben in den Hämatoidinglobuliten die Calciumsalze gezeigt, und es ist wahrscheinlich, daß solche sich auch in den Krystallen vorfinden; wir fragen in bezug auf die Bildung eines komplexen Salzes, ob das Calcium hier am Hämatoidin gebunden ist, oder ob nur ein Gemisch vorliegt. Komplexe Salze unterscheiden sich nämlich dadurch, daß sie in einer verdünnten Lösung andere Reaktionen zeigen als die ihrer Bestandteile, wodurch Bildung neuer Stoffe (Ionen) erwiesen ist.

Wenn auch die Unterschiede zwischen physikalischem Gemisch und chemischer Verbindung nur graduelle sind (s. S. 284), so meine ich doch unter Hinweis auf die ausführlichen Erörterungen, daß hier in den Globuliten und wahrscheinlich in den Krystallen ein physikalisches Gemisch der „Calciumsalzproteinkomplexe“ und des Hämatoidins vorliegt. Die Calciumsalze liegen hier *nicht* in „maskierter“ Form vor. Ein komplexes Salz bildet das Hämatoidin also nicht mit den Calciumsalzen; diese Tatsache entscheidet nicht für die Porphyrinnatur des Hämatoidins. Bilirubin zusammen mit Calciumsalzen finden wir mit Cholesterin in sehr wechselndem Mengenverhältnis im organischen Gerüst der Gallensteine. Doch möchte ich nicht gerne nur auf dem Vorhandensein eines physikalischen Gemisches der Calciumsalze und des Hämatoidins in den Krystalliten und wahrscheinlich in den Krystallen auf die Bilirubinnatur des Hämatoidins schließen. Alles in allem wird die Entscheidung über die chemische Natur des Hämatoidins am Ende die Lösung der Frage sein, ob *das Hämatoidin den Blutporphyrinen oder aber dem Bilirubin zuzurechnen ist*. Die Beziehungen zwischen den Calciumsalzen und dem Hämatoidin so, wie wir sie an dem krystallinischen Gebilde aufgefunden haben, sprechen nicht für eine mögliche Porphyrinnatur des Hämatoidins.

Wie bildet sich das Hämatoidin aus dem Blutfarbstoff? Darüber können wir nichts Wesentliches aussagen. Die Beantwortung dieser Frage ist einigermaßen abhängig von der Bestimmung der chemischen

Natur des Hämatoidins. Denn wie es aus den chemischen Untersuchungen der letzten Jahre hervorzugehen scheint, sollte das Bilirubin durch Oxydation und die uns jetzt bekannten Porphyrine durch Reduktion aus dem Blutfarbstoff entstehen (*Thannhauser*, l. c.). Solange die chemische Natur des Hämatoidins nicht endgültig bestimmt ist, sind unsere Auffassungen über die Entstehungsweise des Hämatoidins *hypothetisch*.

Wenn wir nun einen Augenblick das Hämatoidin als einen chemisch dem Bilirubin nahestehenden Stoff betrachten, so wird seine Entstehungsweise mit der des Bilirubins Ähnlichkeit haben. Bis jetzt ist es noch niemand gelungen, aus dem Blutfarbstoff das Bilirubin zu bereiten. Doch gestatten die chemischen Untersuchungen uns wenigstens eine Vorstellung über den Mechanismus der Gallenfarbstoffbildung zu machen. Wenn *eine unmittelbare, oxydative Umbildung des Blutfarbstoffs ins eisenfreie Bilirubin* (am wahrscheinlichsten) *im Organismus stattfindet*, so fängt eine solche Oxydation an den Pyrrolkernen an; im Reagensglas beginnt die Oxydation in den ungesättigten Seitenketten (*Thannhauser*, l. c.).

Wollen wir nun diese soeben mitgeteilten Betrachtungen auch als für die Entstehung des Hämatoidins aus dem Blutfarbstoff geltend annehmen, so scheinen mir die mikroskopischen Beobachtungen besonders bei der ischämischen Nekrose nicht ohne Bedeutung für unsere Auffassungen über die Konstellation der Faktoren, welche die Entstehung des Hämatoidins (vielleicht auch des Bilirubins) bedingt.

Wie ich schon nachgewiesen habe, ist das Hämatoidin ein im Gewebssaft löslicher Stoff, welcher mit diesem in den ischämisch-nekrotischen Herd gerät und da auskrystallisiert. Es fragt sich, wo der Bildungsort des Hämatoidins anzunehmen ist? *Da, wo das Hämoglobin sich befindet und auch das Gewebe noch lebend ist* (wenn wir nämlich vorläufig annehmen, daß das Hämatoidin durch Oxydation aus dem Blutfarbstoff entsteht). Das Hämoglobin mag sich nun noch in den Erythrocyten befinden oder durch Hämolysen aus denselben ins umgebende Gewebe hineingeraten sein. Diesen soeben erwähnten Ort erwarten wir in der hämorrhagischen Zone. Sind hier die Bedingungen für eine mögliche Oxydation des Blutfarbstoffs günstig? Da, wo das Gewebe der Blutzufuhr nicht entbehrt, ist der Sauerstoff auch anwesend, und wenn, wie man das öfters beobachten kann, sich auch eine Entzündung im lebenden Grenzgebiete hinzugesellt, so ist anfangs eine reichliche Sauerstoffzufuhr zu erwarten. Doch allein der Sauerstoff ist nicht genügend, es gehört zur Oxydation noch ein die Oxydation beschleunigender Faktor. Diesen suchen wir in den noch lebenden Zellen. Besonders möchte ich hier auf *die Leukocyten* hinweisen, welche wir in den von uns untersuchten ischämisch-nekrotischen Herden nicht vermißt haben.

Diese Leukocyten wagen sich öfters selbst eine Strecke in den Herd hinein, wo sie dem Tode verfallen sind. Wir erkennen Zerfallerscheinungen an den Leukocyten in der Randzone des ischämisch-nekrotischen Herdes. Bei dem Zerfall dieser Leukocyten können Stoffe, welche die Oxydation beschleunigen und im Protoplasma vorhanden sind, freikommen; sie entfalten ihre Wirkung. Der Bildungsort des Hämatoidins ist die hämorrhagische Zone und ihre unmittelbare Umgebung. Hiermit mag also im allgemeinen die Bildungsstelle angegeben sein; schwer ist die Aufdeckung der Orte, wo genau innerhalb oder außerhalb der Zellen die Umwandlung des Blutfarbstoffs in Hämatoidin geschieht.

Eine gesonderte, kurze Besprechung verdient das Glykogen und seine mögliche Bedeutung bei der Oxydation des Blutfarbstoffs. Wie bekannt, findet man öfters nach innen von der roten Randzone noch eine gelbliche Zone, wo neben Lipoiden auch eine starke Glykogenanhäufung sich vorfindet. Es sollte das Glykogen dem Säftestrom, der aus der Umgebung her den ischämischen Herd durchsetzt, entstammen [*L. Aschoff*<sup>25)</sup>]. Die Anwesenheit des Glykogens bekommt durch die Untersuchungen von *A. Schwartz*<sup>26)</sup>, *E. Anthen*<sup>27)</sup>, *J. Klein*<sup>28)</sup> und *Hoffmann*<sup>29)</sup> unter Leitung von *Alexander Schmidt* in Dorpat gewisse Bedeutung. Aus diesen Untersuchungen ergab sich, daß die Aufnahme und Verarbeitung bzw. Zersetzung des Hämoglobins durch die Milz- und Leberzellen (*sogar wenn die Zellen zerstört waren*) nur bei Gegenwart von *Glykogen oder Traubenzucker* stattfindet.

Das Hämoglobin, der Farbstoff der roten Blutkörper der Wirbeltiere, gehört zu den Proteiden, d. h. es enthält außer einem Eiweiß, Globin genannt, eine prosthetische eisenhaltige Gruppe. Jede Wirbeltierart dürfte ein besonderes Hämoglobin enthalten, was auf die Verschiedenheit der Eiweißkomponente zurückzuführen ist, da nach den bisher gewonnenen Resultaten die prosthetische Gruppe aller Blutarten sich als identisch erwiesen hat [*G. von Hüfner* und *W. Küster*<sup>30)</sup>].

Bei der Umwandlung des Hämoglobins in Hämatoidin erwarten wir eine *Abspaltung des Globins* und, wenn wir das Hämatoidin als eisenfreien Stoff betrachten, auch eine *Abspaltung des Eisens von der prosthetischen Gruppe*. Da, wo sich nun Hämatoidin gebildet hat, finden wir auch, oder wenigstens in unmittelbarer Umgebung, eisenhaltige Stoffe. Diese eisenhaltigen Produkte können sich entweder als gefärbte (bräunlichgelbe) amorphe Teilchen oder ungefärbt (nach *W. Hueck*, wenn die Teilchen *wenig Eisen* enthalten) im Gewebe vorfinden. *E. Neumann* (l. c.) hat die gefärbten, amorphen, eisenhaltigen, vom Blutfarbstoff stammenden Teilchen mit dem Namen Hämosiderine bezeichnet. *Neumann* hebt schon hervor, daß das Hämosiderin *kein chemisch einheitlicher Stoff* ist. Das Hämosiderin enthält das Eisen in einer für unsere

Reagentien leicht nachweisbaren Form. Weiter können wir leider nichts Sicheres darüber aussagen, z. B. ob das Hämosiderin eine anorganische Eisenverbindung ist, die in kolloidaler Form locker an Fett- und Eiweißsubstanzen gebunden ist (s. *Hueck*, l. c.). *Hueck* meint, den Namen Hämosiderin für die auch vom Blutfarbstoff stammenden eisenhaltigen, jedoch ungefärbten Teilchen gebrauchen zu müssen.

*R. Milner*<sup>31)</sup> unterscheidet noch ein Hämosiderin I, das Fe in nicht nachweisbarer Form enthält, und ein Hämosiderin II, das Eisen in leicht nachweisbarer Form besitzt.

Über die Entstehungsweise des Hämatoidins und des Hämosiderins aus dem Hämoglobin besteht keine Einigkeit.

*Neumann* hat immer die scharfe Trennung des Hämatoidins und Hämosiderins empfohlen, er meint, daß die Umwandlung des Hämoglobins in zwei divergierende Richtungen geht: einerseits bildet sich das Hämatoidin aus dem Hämoglobin (im toten Gewebe oder in regressiver Metamorphose sich befindendem Gewebe), andererseits entsteht das Hämosiderin aus dem Hämoglobin im lebenden Gewebe. Er stützt diese Annahme durch die Beobachtung der räumlichen Trennung dieser Farbstoffe im Gewebe. *Hueck* behauptet, die Farbstoffe brauchen nicht da gebildet zu sein, wo man sie im Gewebe auffindet. Für das Hämatoidin habe ich nachgewiesen, daß es in die ischämisch-nekrotischen Herde und nekrotischen Geschwulstteile mit dem Gewebssaft hineingeraten und da auskrystallisiert ist.

Nach *Hueck* sollte niemals ein Pigment in das andere übergehen.

Andere Forscher nehmen eine Entstehung des Hämatoidins aus dem Hämosiderin an. Schon *Hueck* bestreitet meines Erachtens zu Recht die histologischen Untersuchungen, welche eine solche Entstehung wahrscheinlich machen sollten. Das morphologische Nebeneinander bedeutet noch nicht ein biologisches „Auseinanderhervorgehen“. Die rein morphologischen Beobachtungen [*Mühlmann*, *Hermann Dürck*<sup>32)</sup>] entscheiden in dieser Frage nicht.

Noch erwähnen will ich die Arbeit von *W. H. Brown*<sup>33)</sup>. *Brown* studierte die Entstehung der Blutfarbstoffpigmente bei der Autolyse der Kaninchenleber. Es sollten dabei Hämatoidinkrystalle und Hämosiderin gebildet werden. Wie *Brown* das Hämatoidin vom Bilirubin unterschieden hat, habe ich nicht aus der Arbeit lesen können. Eine Verwechslung dieser beiden Farbstoffe wäre also noch ganz gut möglich. *Brown* kommt nach seinen Untersuchungen zu der Auffassung, daß das Hämosiderin aus einem farblosen, eisenhaltigen Proteid und dem gefärbten Hämatoidin besteht. „*Haematoidin is the pigment matter of haemosiderin.*“

Diese Behauptung habe ich durch nachfolgende Untersuchungen zu prüfen versucht. Ich wählte zu meinem Zweck eine atrophische Leber-

cirrrose mit starker Hämosiderinpigmentierung (eine rostfarbige Leber). In manchen Leberzellen und im pathologisch gebildeten Bindegewebe waren die Anhäufungen der Hämosiderinteilchen sehr schön zu sehen, ich konnte diese Teilchen unter fortwährender mikroskopischer Beobachtung chemisch behandeln. Wenn die Behauptung von *Brown* richtig wäre, so müßte, wenn wir imstande wären, das Eisen abzuspalten, auch das Hämatoidin, zwar noch am Proteid gebunden, zu Gesicht kommen. Für die Abspaltung des Eisens vom Hämosiderinteilchen wählte ich das folgende Verfahren. Mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  führte ich das Eisen des Hämosiderins in  $\text{FeS}$  über. Dieses Schwefeleisen kann man in Lösung bringen durch eine *äußerst verdünnte Salzsäurelösung*. Das Hämosiderin nämlich ist zwar in Säuren löslich, es löst sich jedoch in einer stark verdünnten Säurelösung, wie man das leicht histologisch nachforschen kann, nicht.

Aus dem Vorhergesagten muß nach der Entfernung des Schwefeleisens auch das Hämatoidin (am Proteid gebunden) als farbiges Pigment im Hämosiderinteilchen zu sehen sein. Es ist mir bis jetzt nicht gelungen, auch nur an einem Hämosiderinteilchen nach der Entfernung des Schwefeleisens ein farbiges Produkt zu sehen. Je mehr das Eisen aus dem Hämosiderin schwindet, desto ungefärbter erscheint uns das Hämosiderinteilchen (man muß bisweilen mehrmals  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  zu den Schnitten hinzufügen, um alles Eisen im Hämosiderinteilchen in  $\text{FeS}$  überzuführen). Man unterscheidet die farblosen, zurückgebliebenen Teilchen von ihrer Umgebung nur durch die verschiedene Lichtbrechung. Außerdem habe ich nach der Entfernung des Eisens konzentrierte Säuren auf die Reste der Hämosiderinteilchen einwirken lassen. Konzentrierte Schwefelsäure sowie salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure nach vorheriger Kalilaugebehandlung konnten keine Farbenreaktion an den zurückgebliebenen Teilchen erzeugen. Man könnte einwenden, daß das Schwefelammonium vielleicht auch den hämatoidinhaltigen Teil angegriffen oder wenigstens das Hämatoidin gelöst hätte. Das Hämatoidin wird aber vom  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  weder angegriffen noch gelöst.

Schließlich kann man noch behaupten, daß, obgleich der eisenfreie Teil des Hämosiderins ungefärbt erscheint, durch gewisse im Gewebe sich abspielende chemische Umsetzungen aus diesem farblosen Teil das Hämatoidin sich bilden kann. Bis jetzt fehlt uns aber der Beweis einer solchen Behauptung.

Am Schluß dieser Arbeit seien noch einige Beobachtungen an den ischämisch-nekrotischen Herden der Milz erwähnt. Wie *M. B. Schmidt* und *Hueck* gezeigt haben, schwindet das Hämosiderin ziemlich schnell aus den ischämisch-nekrotischen Herden der Milz. Nach diesen Forschern sollte das Hämosiderin vielleicht in gelöster Form aus den ischämischen Herden verschwinden. Die Trabekel sollten ihr Eisen noch am längsten behalten. An einem ziemlich alten ischämisch-nekrotischen

Herd der Milz (es hatte sich schon eine bindegewebige Kapsel rings um den Herd gebildet) fand ich in den ungefärbten Gefrierschnitten die zarten, die feinfaserige Wandung des Sinus bildenden Zirkulärfasern ganz schwach bräunlich gefärbt. Mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  zeigten sich diese Zirkulärfasern (von vielleicht kollagener Natur) schwarz, und noch niemals habe ich derartig instruktive Bilder dieser Fasern beobachten können\*). Aus dieser Beobachtung stellt sich *eine mögliche adsorbierende Kraft der Zirkulärfasern Eisenverbindungen gegenüber* heraus. Edgar Gierke<sup>34)</sup> hat in der Randzone eines großen, ischämischen Herdes einen möglichen innigen Zusammenhang zwischen den „Kalkstäubchen“ und dem Eisen nachgewiesen.

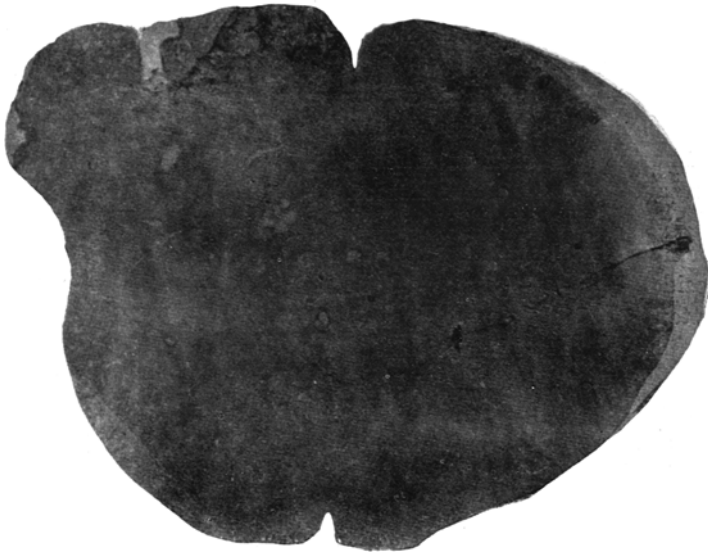


Abb. 10. Milz bei *Malaria tropica*. Die kleinen, frischen ischämisch-nekrotischen Herde mit einer hämorrhagischen Zone sind grauweiß, besitzen kein Malariapigment mehr. Die Milz sieht übrigens durch das Malariapigment wie Schiefer aus.

In Zusammenhang mit dem Verschwinden des Hämosiderins aus den ischämischen Milzherden sei noch auf eine merkwürdige Erscheinung bei Malariamilzen hingewiesen, welche ich mehrmals während meines Aufenthalts in Niederländisch-Indien beobachtet habe. Die ziemlich frischen ischämischen Herde erkennt man in den durch das Malariapigment fast grauschwarz gefärbten Milzen eben an ihrer mehr oder minder grauweißen Farbe (s. Abb. 10). Es fragt sich, wie verschwindet das Malariapigment (auch ein hämoglobinogenes Pigment) aus den ischämischen Herden? Das Malariapigment könnte entweder in den ischämischen Herden durch chemische Umsetzungen geändert und da-

\*) S. Ehrlich (Zentralbl. für allgem. Pathol. u. pathol. Anat. **17**, 177, 1906) und H. Schuppiesser (Virchows Archiv **239**, 320, 1922) haben dasselbe beobachtet.

durch farblos werden oder gelöst und aus dem Herd fortgeschleppt werden; endlich könnten alle diese Umstände verwirklicht werden. Die Sachlage mit dem Malariapigment ist schwerer zur Klarheit zu bringen als mit dem Hämosiderin.

Aus allem dem geht hervor, daß bei der Entstehung einer ischämischen Nekrose nicht nur ein biologisches, sondern auch ein chemisches, physikalisches, physiko-chemisches Gleichgewicht gestört wird. Es tritt das Innere der ischämischen Herde mit der Umgebung in Wechselwirkung. Es verschwinden Stoffe aus dem nekrotischen Gebiet, und es geraten Stoffe mit dem Gewebssaft aus der Umgebung in die Herde. Es spielen sich Prozesse bei der Nekrose ab, welche wir eben als eine Ausgleichung einer physiko-chemischen Gleichgewichtsstörung auffassen, ich meine den Niederschlag der Calciumsalze und die Calciumsalzhämatoidinkrystallisation. Solange eine bindegewebige Hülle (sogar vernarbt) nicht eine Flüssigkeitsströmung erschwert oder unmöglich macht, findet in der Peripherie der ischämisch-nekrotischen Herde ein Hin- und Hergehen des Flüssigkeitsstromes [*Mouvement de va et vient des Lymphstromes, Tendeloo*, neue experimentelle Bestätigung durch die Arbeiten von *Kurt Ziegler*<sup>35)</sup> und *F. Straub*<sup>36)</sup>] statt, und so verstehen wir auch, wie Stoffe aus den ischämischen Herden in die Umgebung gelangen (z. B. das Hämosiderin und vielleicht das Malariapigment).

Von großer Bedeutung sind die chemischen Prozesse, welche sich in der Umgebung eines ischämisch-nekrotischen Herdes abspielen, und ihr Studium wird für unsere Auffassungen über die Entstehung des Hämatoidins (und vielleicht des Bilirubins) von großem Wert sein.

### *Zusammenfassung.*

Das Hämatoidin ist im Gewebe als amorpher, krystallinischer oder das Gewebe gleichmäßig gelblich färbender Farbstoff anwesend.

In Blutungen kommen diese drei Formarten des Hämatoidins nebeneinander vor.

In den peripheren Teilen der ischämischen Herde finden wir auch das krystallinische Hämatoidin auf.

Die krystallinischen Hämatoidingebilde sind verschieden, je nachdem wir sie in den ischämischen Herden oder Blutungen nachweisen.

Das krystallinische Hämatoidin in den ischämischen Herden weist verschiedene Formen auf, entweder die Form kleiner, anisotroper, runder Kügelchen (Globuliten) oder anisotroper, haarförmiger Nadeln (Trichiten). Diese Gebilde finden wir zusammen auskrystallisiert bei ischämischer Nekrose; die Globuliten befinden sich mehr oder weniger „zentral“ angehäuft, und radiär auf diese „zentralen“ Globuliten sind die Trichiten gerichtet; schön ausgebildet stellt das Ganze eine Art stachelige Kugel dar. Diese stacheligen Hämatoidinkugeln sind den

Sphärolithen zuzurechnen. Wir müssen die einzelnen krystallinischen Gebilde auffassen als *Krystalliten* (Krystalliten sind unentwickelte „embryonische“ Krystalle, *Vogelsang* aus Delft). Die experimentellen Untersuchungen über den Krystallisationsvorgang, zuerst von *Vogelsang* angestellt, lehren uns, daß die Krystallitenbildung gewisser Stoffe bei zäher Beschaffenheit seiner Lösung stürmisch stattfindet. Hieraus vermögen wir die Bildung der Hämatoidinkrystalliten bei ischämischer Nekrose zu verstehen, wenn wir annehmen, daß der Widerstand groß ist. Nur ein einziges Mal habe ich in der Peripherie eines ischämischen Herdes eine rhombische Säule aufgefunden.

Hieraus ergibt sich, daß das *Hämatoidin* ein im Gewebssaft löslicher Stoff ist (*Lignac*). Da, wo wir also das Hämatoidin in den ischämischen Herden (Thromben) als Krystalliten aufweisen, ist es nicht gebildet (so wie *E. Neumann* meint), sondern bei einer gewissen Konstellation von Faktoren auskrystallisiert (*Lignac*).

Da ich jedesmal bei der *Gmelinschen* Reaktion mit Schwefelsäure auf Hämatoidin von Gipskrystallen belastigt wurde, vermutete ich einen Zusammenhang zwischen der Calciumsalzablagerung und der Hämatoidinkrystallisation.

Diese Vermutung hat sich bestätigt. *In den Hämatoidinglobuliten findet sich auch ein „Calciumsalzproteinkomplex“ vor.*

Aus der kritischen Besprechung der Verfahren zum mikroskopischen Nachweis von Calciumsalzen im Gewebe (Anfang dieser Arbeit) hat sich ergeben, daß ein einziges Verfahren allein nicht genügt zum Nachweis des Calciums. Wir fordern dazu ein übereinstimmendes Ergebnis an demselben Gebilde mit z. B. drei verschiedenen Verfahren (Pyrogallolverfahren, die *Röhlsche* Färbung und das Silbernitratverfahren von *von Kóssa* und seine Modifikationen nach *Klotz*).

*Die rhombischen Hämatoidinsäulen und Tafeln sind Mischkrystalle (Lignac).* Es ist mir gelungen mit dem Silbernitrat einen Stoff (vielleicht Calciumsalze) neben dem Hämatoidin in den genannten Krystallen nachzuweisen.

*Die Frage nach der chemischen Natur des Hämatoidins ist nicht endgültig entschieden.* Das Hämatoidin gehört entweder den Blutporphyrinen an oder ist dem Bilirubin gleichzustellen. Die Porphyrine bilden mit Metallsalzen komplexe Verbindungen, das Bilirubin jedoch nicht. Wie meine Untersuchungen nachgewiesen haben, liegt in dem krystallinischen Gebilde des Hämatoidins *keine komplexe Verbindung mit den Calciumsalzen vor. Das entscheidet nicht für die Porphyrinnatur des Hämatoidins.*

Unsere Auffassung über die Entstehungsweise des Hämatoidins ist *hypothetisch*. Die Entstehung des Hämatoidins in der Umgebung eines ischämisch-nekrotischen Herdes beruht auf einer Oxydation des Häm-



globins; es ist auf die Anwesenheit des Glykogens bei dieser Oxydation zu achten.

Das Hämatoidin sollte der gefärbte Teil des Hämosiderins darstellen. Diese Behauptung ist nach meinen Untersuchungen abzulehnen.

### Literaturverzeichnis.

- <sup>1)</sup> *Macallum, A. B.*, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden (*E. Abderhalden*) Bd. V, Teil II. 1912. — <sup>2)</sup> *Kóssa, Julius von*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **29**, 163. 1901. — <sup>3)</sup> *Freudenberg, E.*, Klin. Wochenschr. **1**, 1422. Nr. 28. 1922. — <sup>4)</sup> *Klotz, O.*, Journ. of exp. med. **7**, 633. 1905. — <sup>5)</sup> *Neumann, E.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **111**, 25. 1888. — <sup>6)</sup> *Hueck, W.*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **54**, H. 1, S. 116, 1912. — <sup>7)</sup> *Foà, P.*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **5**, H. 2, S. 277, 1889. — <sup>8)</sup> *Ostwald, Wi.*, Grundriß der allgemeinen Chemie. 6. Aufl. Dresden und Leipzig 1920. — <sup>9)</sup> *Ostwald*, Zeitschr. f. phys. Chemie **22**, 289. 1897. — <sup>10)</sup> *Vogelsang, Hermann*, Die Krystalliten. Bonn 1875. — <sup>11)</sup> *Tendeloo, N. Ph.*, Allgemeine Pathologie. 2. Aufl. Julius Springer, Berlin. — <sup>12)</sup> *Pekelharing, C. A.*, Voordrachten over Weefselleer. Tweede Druk. F. Bohn. Haarlem 1917. — <sup>13)</sup> *Liesegang, R. E.*, Kolloidchemie 1914—1922. Bd. VI. Dresden und Leipzig 1922. — <sup>14)</sup> *Virchow, R.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **1**, H. 2, S. 379, 407. 1847. — <sup>15)</sup> *Nernst, W.*, Theoretische Chemie. 8.—10. Aufl. Stuttgart 1921. — <sup>16)</sup> *Lehmann, O.*, Zeitschr. f. Krystall. **8**, 438. 1883. — <sup>17)</sup> *Retgers*, Zeitschr. f. phys. Chemie **8**, 385. 1892. — <sup>18)</sup> *Ewald, August*, Zeitschr. f. Biol. **22**, 459. 1886. — <sup>19)</sup> *Rinne, F.*, Die Krystalle als Vorbilder des feingebau-lichen Wesens der Materie. Gebr. Bornträger. Berlin 1921. — <sup>20)</sup> *Biedermann, W.*, Handbuch der vergleichenden Physiologie von Hans Winterstein Bd. III, Teil I, erste Hälfte, S. 858 u. 859. Gustav Fischer. Jena 1914. — <sup>21)</sup> *Thannhauser, S. J.*, Klin. Wochenschr. **1**, Nr. 17. 1922. — <sup>22)</sup> *Brown, W. H.*, Journ. of exp. med. **13**, 290. 1911. — <sup>23)</sup> *Robin, Charles*, Cpt. rend. de l'Acad. des sc. **41**, 506. 1855. — <sup>24)</sup> *Küster, William*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Emil Abderhalden. I. Chemische Methoden. Teil 8. S. 321. 1922. — <sup>25)</sup> *Aschoff, L.*, Pathologische Anatomie, Bd. II, 4. Aufl. Gustav Fischer. Jena 1919. — <sup>26)</sup> *Schwartz, A.*, Über die Wechselbeziehungen zwischen Hämoglobin und Protoplasma usw. Inaug.-Diss. Dorpat 1888. — <sup>27)</sup> *Anthen, E.*, Über die Wirkung der Leberzelle auf das Hämoglobin. Inaug.-Diss. Dorpat 1889. — <sup>28)</sup> *Klein, J.*, Ein Beitrag zur Funktion der Leberzellen. Inaug.-Diss. Dorpat 1890. — <sup>29)</sup> *Hoffmann*, Einige Beobachtungen betreffend die Funktionen der Leber- und Milzzellen. Inaug.-Diss. Dorpat 1890. — <sup>30)</sup> *Hüfner, G. von*, und *W. Küster*, Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl. 1904, S. 387. — <sup>31)</sup> *Milner, R.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **174**, 475. 1903. — <sup>32)</sup> *Dürck, Hermann*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **130**, H. 1, S. 29. 1892. — <sup>33)</sup> *Brown, W. H.*, Journ. of exp. med. **12**, 623. 1910. — <sup>34)</sup> *Gierke, Edgar*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **167**, 318. 1902. — <sup>35)</sup> *Ziegler, Kurt*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **24**, 223. 1921. — <sup>36)</sup> *Straub, F.*, Zeitschr. f. klin. Med. **82**, 335. 1916.