

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität München. — Vorstand: Geh. Rat
Prof. Dr. M. Borst.)

Zur Kenntnis hämoglobinogener Pigmente.

Von

J. Oberzimmer und L. Wacker.

(Eingegangen am 3. April 1924.)

Wenn man hämosiderinhaltige Leber oder Milz auf dem kochenden Wasserbad in 60 proz. Kalilauge auflöst, so scheidet sich beim Verdünnen mit Wasser, besonders nach längerem Stehen, ein rotbrauner Bodensatz ab, der auf getrocknetem, gewogenem Filter gesammelt, ausgewaschen und gewogen, seiner Menge nach ungefähr parallel geht mit der Menge des unter dem Mikroskop wahrnehmbaren Hämosiderins; dabei ist der prozentische Eisengehalt in der Leber stets größer als in der Milz, der Unterschied ist speziell bei perniziösen Anämien ganz beträchtlich. Neben organischen Bestandteilen enthält das rotbraune Sediment der Hauptsache nach Eisenhydroxyd, ferner etwas phosphorsaures Eisenoxyd und Magnesia. Über die Art der Bindung des Eisenoxydhydrats im Pigment konnten keine Anhaltspunkte gewonnen werden, da nicht zu ermitteln war, welche Veränderungen auf die Wirkung der heißen Kalilauge zurückzuführen sind. Im Laufe dieser Untersuchungen haben sich aber einige andere Gesichtspunkte ergeben, die vielleicht geeignet sind, zur Aufklärung des Verhaltens hämoglobinogener Pigmente beizutragen.

Von der Annahme ausgehend, daß der Organismus physiologischerweise oder unter pathologischen Verhältnissen gezwungen ist, untergegangenes oder aus der regelrechten Bahn geworfenes Zellmaterial zu beseitigen, müssen wir uns vergegenwärtigen, welche Hilfsmittel ihm hierfür zur Verfügung stehen, welcher Natur das zu verarbeitende Material ist und inwieweit die bei diesem Abbauprozess entstehenden Produkte lösliche Substanzen sind, so daß sie entweder als Energiematerial oder Bausteine für neue Zellen verwertet, oder als unbrauchbar aus dem Organismus ausgeschieden werden können. Fassen wir speziell die roten Blutkörperchen ins Auge, so werden wir zunächst Substanzen begegnen, die mehr oder weniger gefärbt sind. Die Pigmentforschung befaßt sich hauptsächlich mit den gefärbten Produkten, weil diese begreiflicherweise unter dem Mikroskop am leichtesten verfolgt werden

können. Dies schließt aber nicht aus, daß nebenher auch weniger gefärbte lipoidartige Abbauprodukte auftreten können.

Bei seiner Spaltung liefert das Hämoglobin neben dem der wirklichen Eiweißgruppe zugehörigen Globin, die dem Abbau weniger zugänglichen Abkömmlinge des Hämatins, nämlich Hämatoidin und Hämosiderin. Das Hämatoidin ist nach den neueren Untersuchungen von *H. Fischer* und *F. Reindel* identisch mit Bilirubin, das normalerweise beim Blutzerfall entsteht und in die Galle abgeschieden wird. Es ist unlöslich in Wasser und Säuren, leicht löslich in Alkalien unter Salzbildung. Das Hämosiderin besteht im wesentlichen aus Eisenoxydhydrat, das unlöslich in Wasser und Alkalien ist. Durch Reduktion kann das Eisenoxydhydrat in Eisenoxydulhydrat übergeführt werden, das sich in schwacher Säure, wie z. B. Kohlensäure, zu doppelkohlensaurem Eisenoxydulhydrat auflöst.

Die Ablagerung des Hämosiderins im Gewebe ist durchaus verständlich, da es sich ja in der Hauptsache um einen anorganischen, unlöslichen Körper handelt. Dagegen findet man in Blutextravasaten und Infarkten neben Hämosiderin auch Hämatoidin vor, doch kann das beim Blutzerfall freigewordene Eisen geschwunden sein. Dies ist um so unverständlicher, als gerade das Eisen in der zu erwartenden Form als Eisenoxydhydrat einen völlig unlöslichen Körper darstellt, der an Ort und Stelle liegenbleiben sollte. So haben *Thoma* und *Pansky* einen völligen Schwund des Eisens im infarzierten Gebiet bei Unterbindung von Milzvenenästen von Hunden und *M. B. Schmidt* das gleiche bei menschlichen Infarkten beobachtet und beschrieben. Die bestehenden Verhältnisse charakterisiert *Hueck* in seiner Abhandlung über die hämatogenen Pigmente in treffenden Worten wie folgt: „Beim Abbau des Hämoglobins im Organismus entstehen chemisch immer mindestens zwei Körper, ein eisenhaltiger und ein eisenfreier. Unter bestimmten Bedingungen kann der eisenhaltige Körper histochemisch in Form von Hämosiderin, der andere in Form von Hämatoidin in Erscheinung treten; diese Bedingungen sind derart, daß histochemisch die beiden Pigmente nur getrennt entstehen, und zwar Hämosiderin unter der Einwirkung des lebenden, Hämatoidin nur unter der Einwirkung des absterbenden Gewebes.“

Zur Erklärung dieser eigenartigen Verhältnisse stellt sich *Neumann* vor, daß im lebenden Gewebe Oxidationsprozesse, und im absterbenden Reduktionen eine Rolle spielen. Auch *Thoma* und *Pansky* glauben als Ursache des Eisenschwundes den Sauerstoffmangel verantwortlich machen zu sollen. So einleuchtend diese Vorstellungen mit Rücksicht auf das Wesen der Blutversorgung sein mögen, so lassen sie in dieser Form für das absterbende Gewebe doch keinen Rückschluß zu, warum das Eisen verschwindet und das organische Hämatoidin

erhalten bleibt, ebensowenig für das lebende Gewebe, warum hier das Hämosiderin auftritt, und das Hämatoidin verschwindet. Eine Vorstellung läßt sich u. E. leichter erzielen, wenn man einerseits die analogen Vorgänge beim Energiestoffwechsel, andererseits die Eigenschaften des Hämatoidins und Hämosiderins von chemischen Gesichtspunkten aus in Zusammenhang bringt, mit den Vorgängen, die sich im lebenden und absterbenden Gewebe abspielen:

Zwecks Ausnützung der Nahrungsmittel werden im intermediären Stoffwechsel die großen Moleküle der hydrolytischen Spaltung durch Zellfermente unterworfen und durch Oxydationsprozesse schließlich zu Kohlensäure, Wasser und Ammoniak, bzw. Harnstoff usw. abgebaut, wobei der erforderliche Sauerstoff letzten Endes durch den Blutkreislauf zugeführt wird. Besonders widerstandsfähige ringförmige Atomkomplexe werden bekanntlich mit anderen Gruppen gekuppelt oder sonst in löslicher Form abgeschieden. Übertragen wir die soeben geschilderten Verhältnisse auf den Blutzerfall, speziell den Hämatinabbau im lebenden Gewebe, so vollzieht sich dieser in ähnlicher Weise. Das Molekül wird zunächst durch Gewebsfermente in Eisen und den organischen Komplex gespalten. Diese ringförmigen Pyrrolabkömmlinge werden in Form von Bilirubin ausgeschieden. Da nun dieses Bilirubin, bzw. Hämatoidin in den alkalisch reagierenden Medien der lebenden Gewebe löslich ist, wird es weggeschafft. Das alkaliunlösliche Eisenoxydhydrat bleibt liegen und kann sekundäre Veränderungen erleiden, insofern es an eiweiß- oder fettartige Körper adsorbiert wird; wissen wir doch, daß z. B. das kolloide Eisenoxyd mit Serumeiweiß einen unlöslichen Niederschlag gibt, auf welcher Eigenschaft *Michaelis* ein Enteiweißungsverfahren des Blutes begründet hat. Es ist also kaum anzunehmen, daß das Hämosiderin in der Form wie es in dem Gewebe erscheint ein reines Eisenoxydhydrat darstellt.

Wie sind nun aber die Verhältnisse im absterbenden Gewebe? Dort kommt es bekanntlich sehr häufig zu Reduktionsvorgängen, da in den Geweben sehr sauerstoffgierige chemische Substanzen sind. Schon *Liebig* hat in seinen bekannten Abhandlungen über die Gärungsvorgänge beschrieben, daß frische Kalbsleber, in warmem Wasser von 37–40° nach 5 Stunden Wasserstoff in Gasform entwickelt, ohne daß gleichzeitig ein Fäulnisgeruch bemerkbar wäre. Wir haben diesen Versuch mit frischer Meerschweinchen- und Hundeleber wiederholt und aus 210 g Hundeleber nach 2stündigem Erwärmen auf 40° und dem Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur 36 ccm Wasserstoffgas erhalten. Weiter wissen wir, daß es in allen absterbenden Geweben zu einer Säurebildung kommt. Diese Säurebildung ist nun allerdings nicht so aufzufassen, daß freie organische Säure wie Milchsäure entsteht, die durch eine mächtige Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration

nachweisbar sein müßte, sondern die entstehende Säure wird sofort durch die vorhandenen Puffersubstanzen wie Dialkaliphosphat neutralisiert, so daß die saure Reaktion vornehmlich durch Monoalkaliphosphat und Kohlensäure bedingt ist. Die Fermente sind im absterbenden Gewebe noch einige Zeit wirksam und sind die Ursache der Säurebildung. Mit dem Fortschreiten der Alkaleszenzabnahme werden schließlich auch diese abbauenden Fermente inaktiviert.

Übertragen wir diese Erfahrung wieder auf die Vorgänge des Hämatinabbaues im absterbenden Gewebe, so wird zunächst wieder die Spaltung in Eisen und den Gallenfarbstoffkomplex erfolgen. Da dieser Komplex in vorwiegend sauer reagierenden Medien, wie sie im abgestorbenen Gewebe vorhanden sind, unlöslich ist, kann er nicht abtransportiert werden, sondern bleibt an Ort und Stelle liegen. Gleichzeitig setzen aber sehr energische Reduktionsvorgänge ein, die auf das Eisenoxydhydrat einwirken. Es wird daher das Eisen in die Eisenhydroxydulform übergeführt. Da bei der postmortalen Säurebildung auch Kohlensäure vorhanden ist, wird diese das Eisenoxydulhydrat ganz oder teilweise in Form von doppelkohlensaurem Salz in Lösung bringen, so daß es sich entweder diffus verteilt, oder was wahrscheinlicher ist, durch Diffusion verschwindet. Für das Auftreten des doppelkohlensauren Eisenoxyduls sprechen folgende Umstände: Dieses Salz hat wie alle Eisenoxydulsalze in hohem Grade die Eigenschaft, sich an der Luft zu oxydieren und in die Oxydform überzugehen. Da das Eisenoxyd nur sehr schwach basisch ist, wird die Kohlensäure abgespalten und rotbraunes Eisenoxydhydrat scheidet sich ab. Diesem Vorgang begegnet man häufig bei eisenhaltigen Quellen, den sog. Sauerlingen. Im Inneren der Erde ist das doppelkohlensaure Eisenoxydul gelöst; sobald das Wasser an die Oberfläche der Erde tritt, vollzieht sich unter dem Einfluß des Luftsauerstoffes der oben geschilderte Prozeß, so daß sich das Flußbett mit rotem Eisenoxydhydrat beschlägt. Ähnliche Vorgänge vollziehen sich im absterbenden Gewebe. Auf diese Weise erklärt sich die von *Brown* irrtümlicherweise als Vermehrung des Hämosiderins gedeutete und von *Hueck* bereits widerlegte Erscheinung. Wenn nämlich die Flüssigkeit durch Verdunstung von Wasser vom zentralen Teil eines hämosiderinhaltigen Leberstückchens nach der Oberfläche diffundiert, so kommt sie mit Luft in Berührung, so daß sich an den Randpartien Eisenoxyd bzw. Hämosiderin in größerer Menge unter dem Einfluß des Luftsauerstoffes niederschlägt. In analoger Weise läßt sich die Grünschwartzfärbung an Rändern von Organen der Bauchhöhle erklären, die den Darmschlingen anliegen. In diesem Falle rührt die Verfärbung von Schwefeleisen her, das sich mittels des bei der Fäulnis entstehenden Schwefelwasserstoffes aus dem doppelkohlensauren Eisenoxydul niederschlägt.

Da die abbauenden, hämoglobinzerlegenden Fermente begreiflicherweise nicht im Blut, sondern in den Geweben sind, besteht zwischen den Vorgängen bei der Autolyse von Blut und der Autolyse von Geweben ein grundsätzlicher Unterschied. Daraus erklärt sich, daß *Leupold* bei der Autolyse von Blut erst dann Hämosiderin beobachten konnte, wenn er Gewebstückchen hinzusetzte, eine Erscheinung, die *Leupold* selbst in diesem Sinne gedeutet hat.

Nun noch einige Worte zur sogenannten Wandelbarkeit des Hämosiderins. Der Abbau des Hämoglobins vollzieht sich bekanntlich in folgender Weise: Nach Abspaltung der Globingruppe entsteht das eisenhaltige Hämatin, das ein organisches Molekül, bestehend aus 4 Pyrrolringen, verbunden mit Eisen enthält. In diesem ist das Eisen ebensowenig nachweisbar wie im Hämoglobin. Die Spaltung des Hämatins im Organismus in seine Bestandteile kann sich nur so vollziehen, daß das Eisenoxyd von dem organischen Molekül abgespalten wird. Man kann sich also vom chemischen Standpunkt aus keine richtige Vorstellung machen, worin die in der Literatur so viel besprochene Wandelbarkeit des Hämosiderins bestehen soll, selbst wenn man annimmt, daß das abgespaltene Eisenhydroxyd nachträglich noch physikalisch an andere organische Substanzen adsorbiert wird. Die Beobachtungen der betreffenden Autoren über den verschiedenartigen Ausfall des Hämosiderinnachweises scheinen demnach eine andere Ursache zu haben. Bekanntlich tritt die Berlinerblaureaktion dann sofort auf, wenn sich das Eisen in Oxydform und in ionisiertem Zustande vorfindet¹⁾. Ist es dagegen in kolloider Form, oder sogar noch in Bindung mit Eiweißkörpern zugegen, so wird es einige Zeit dauern, bis die Salzsäure das Eisenoxyd gelöst, d. h. in den Ionenzustand übergeführt hat, die Blaufärbung wird also zunächst nicht, oder nur unvollkommen eintreten. Man kann sich von dieser Eigenschaft des kolloidgelösten Eisenoxys überzeugen, wenn man zu einer solchen Lösung ein Gemisch von Ferrocyankali und Salzsäure zusetzt. Zunächst entsteht bloß eine schmutzigrüne oder bei stärkerer Verdünnung eine hellgrüne Färbung, die jedoch bei längerem Stehen oder rascher in der Wärme in die tiefblaue Farbe übergeht. Gemäß diesem Reagensglasversuch haben wir an einer großen Anzahl von Schnitten hämosiderinhaltiger Organstückchen die Eisenreaktion kalt und vergleichsweise auch in der Wärme durchgeführt, wobei sich herausstellte, daß beim Arbeiten in der Wärme stets tiefblaue Verfärbung der Granula eintrat,

¹⁾ Nach Angaben von *W. Hueck* und *Hans Fischer* und *F. Reindel* befindet sich das Eisen des Hämosiderins in den Organen in der Oxydulstufe. Wir sind der Meinung, daß das ursprünglich als Oxyd vorhandene Hämosiderineisen postmortal reduziert worden ist. Wenn trotzdem eine Berlinblaureaktion eintritt, so ist dies wohl auf eine Oxydation während der Reaktion selbst zurückzuführen.

während die gleichen Schnitte in der Kälte alle Übergänge von hellgrün über schmutziggrün nach tiefblau zeigten. Eine Ausnahme hiervon machen bisweilen nur jene Hämosideringranula, die mit Hämatoidin vermennt vorkommen, wie z. B. bei apoplektischen Herden des Gehirns. Hier bleibt vielfach ein grünlicher Ton eines Teiles des Pigmentes bestehen, was u. E. auf eine optische Wirkung zurückzuführen ist, denn das gelbe Hämatoidin und das durch die Eisenreaktion blaugefärbte Hämosiderin mischen sich zu „Grün“.

Literaturverzeichnis.

Fischer, Hans, und *F. Reindel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **127**. 1923. — *Thoma* und *Panski*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **31**. 1895. — *Schmidt, M. B.*, Verhandl. d. pathol. Ges. 12. Tagung Kiel 1908, S. 271. — *Hueck, Werner*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **54**. 1912. — *Neumann, E.*, Virch. Arch. **111**. 1888. — *Liebig, J. v.*, Liebigs Ann. d. Chem. **77**. 1870. — *Leupold*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **59**. 1914.
