

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Göttingen. — Direktor: Geh.-Rat
Kaufmann.)

Untersuchungen über autogene Pigmente¹⁾.

Von

Privatdozent Dr. **M. Staemmler.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juni 1924.)

Das Wesen und die Entstehung körniger Pigmente in den Zellen des menschlichen und tierischen Körpers ist in den letzten Jahren in mehreren Arbeiten (*Hueck, Oberndorfer*) so ausführlich behandelt worden, daß es überflüssig erscheinen möchte, noch einmal auf die Pigmentfrage einzugehen. Und doch geht gerade aus den beiden großen Zusammenstellungen von *Hueck* auf das deutlichste hervor, wie viele Fragen noch weit ab von einer endgültigen Lösung sind. Das gilt besonders für die sog. autogenen Pigmente, d. h. die Farbstoffe, die „wir aus den Bestandteilen der Zellen, in denen wir sie finden, unmittelbar, also autochthon, durch metabolische Tätigkeit hervorgehen lassen“ (*Hueck*).

Unter den autogenen Pigmenten spielen zwei eine wesentliche Rolle, die Melanine und die Lipofuscine oder „Abnutzungspigmente“ (*Lubarsch*). Beides sind in der Hauptsache amorphe, körnige Stoffe von hellgelber bis dunkelbrauner Farbe. Die Farbe der ersteren ist meist etwas dunkler als die der letzteren. Doch sind die Übergänge fließend.

Auch in ihrem chemischen und färberischen Verhalten zeigen beide Pigmentarten weitgehende Übereinstimmungen, im besonderen in ihrem Verhalten zu Säuren, Alkalien, Bleichungsmitteln. Zu demselben Resultat sind *Brahn* und *Schmidtman* mit Hilfe der chemischen Elementaranalyse gekommen. Doch scheinen die beiden Pigmentgruppen sich in drei Punkten grundsätzlich voneinander zu unterscheiden. Der erste ist ihr Verhalten zu den Fettfarbstoffen. Seit den systematischen Untersuchungen von *E. Sehr* aus dem Institut von *Lubarsch* wissen wir, daß die sog. Abnutzungspigmente sich zum großen Teil mit Sudan und Scharlachrot färben, also irgendwelche Fettstoffe enthalten müssen. Daher hat sich für sie der Name Lipofuscin eingebürgert. Auch mit Neutralrot und Nilblausulfat, mit Osmiumsäure, nach *Fischler* und

¹⁾ Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der *Rockefeller-Stiftung* ausgeführt.

Smith-Dietrich lassen sich die Pigmente wenigstens zum Teil färben, während das Melanin alle diese Reaktionen nicht gibt. Doch schon die Untersuchungen von *Sehrt* ergaben, daß der Fettgehalt der Pigmente in den einzelnen Organen recht verschieden war: ziemlich regelmäßig in Herz, Samenblasenepithel, Hoden und Nebenhoden, wechselnd in Leber und Ganglienzellen. Das Pigment in der Darmmuskulatur ließ nach *Sehrt* und *Goebel* eine Reaktion auf Fettfarbstoffe regelmäßig vermissen.

Schmidtman hat dann neuerdings unter *Lubarsch* gezeigt, daß der Fettgehalt der Abnutzungspigmente der Leber und des Herzens durchaus wechselnd ist, vom Alter und Ernährungszustand abhängig, verschieden bei den einzelnen zum Tode führenden Krankheiten. Auch die Nilblaureaktion hat sie durchaus nicht regelmäßig gefunden. Sie ist mit *Lubarsch* der Ansicht, daß man nicht von einem lipoiden Pigment sprechen darf, sondern daß nur eine lockere Verbindung zwischen Pigment und Lipoid vorliegt.

Auf der anderen Seite hat *Kreibich* gefunden, daß auch das Melanin der Epithelien der äußeren Haut vielfach Lipoidkörnchen oder Krystalle enthält und nimmt geradezu an, daß das Melanin eine lipoide Vorstufe habe.

So ist es also wohl kaum angängig, aus dem Fettgehalt resp. der Fettbeimengung des Farbstoffes auf grundsätzliche Wesensverschiedenheiten der Pigmente zu schließen.

Ein zweiter Unterschied scheint darin zu liegen, daß die „Abnutzungspigmente“, wie schon ihr Name sagt, ein — wenigstens in gewissem Grade — pathologisches Stoffwechselprodukt sind, während das Melanin als physiologischer Bestandteil des Protoplasmas vieler Zellen anzusehen ist. Doch darf auch auf diesen Unterschied kein allzu großer Wert gelegt werden. Denn einmal muß in einzelnen Organen, wie Herz, Leber, Samenblasen, Nebennieren usw., ein gewisser Pigmentgehalt im mittleren Alter zweifellos als physiologisch angesehen werden, und andererseits können wir auch bei manchen Melaninen (Subst. nigra, Pigment in der Pia der Medulla obl.) sehen, daß es sich erst im Lauf des Lebens entwickelt oder wenigstens erst, wie in der Haut, in größerer Menge auftritt.

Im Jahre 1908 gaben nun *Schreiber* und *Schneider* eine Methode an, melanotisches Pigment, im besonderen das des Auges und der Haut, in charakteristischer Weise darzustellen. Sie sahen, daß bei einer Silberimprägnation von Hautstücken nach der Methode von *Levaditi* oder *Bertarelli* das Pigment braunschwarz gefärbt wurde, und konnten dieselbe Reaktion auch in den Chromatophoren der weichen Hirnhaut und in Ganglienzellen nachweisen. Diese reduzierende Eigenschaft und die von *Bloch* entdeckte Dopareaktion in den Epidermiszellen schien nun doch das Melanin scharf von den Abnutzungspigmenten zu unterscheiden. Und diese *Schreiber-Schneidersche* Reaktion wird denn auch

von *Hueck* in seiner Tabelle über die Reaktionen der einzelnen Pigmente aufgeführt und ihre Bedeutung auch sonst mehrfach ausdrücklich betont. Neuerdings haben *Kutschera-Aichbergen* und *Lubarsch* allerdings energisch dagegen Stellung genommen.

Eine weitere Frage ist die, ob denn die als „Abnutzungspigmente“ bezeichneten Ablagerungen in den verschiedenen Organen als einander völlig gleichwertig anzusehen sind, oder ob auch zwischen diesen noch Unterschiede bestehen. Schon *Maass* war der Ansicht, daß sie zwar nahe verwandt, aber nicht gleichartig sind, eine Anschauung, die auch von *Hueck* vertreten wird.

Und in der Tat zeigt ja schon die einfache Untersuchung des ungefärbten Präparates, daß hier gewisse Unterschiede bestehen. So ist der Färbungsgrad der Pigmente in den einzelnen Organen ein durchaus verschiedener. Das Leberpigment ist in der Regel etwas dunkler als das im Herzmuskel, dunkler auch als der Farbstoff in den Epithelien der Nebennieren. Ja, selbst in dem gleichen Organ können Farbstoffe von verschiedener Intensität vorkommen. So zeigt das Pigment in den Epithelien der Samenblasen meist einen ganz blaß-gelblichen Farbenton, während das im bindegewebig-muskulären Stroma eine dunklere Farbe besitzt. Zu gleicher Zeit ist das Pigment in den Epithelzellen meist fetthaltig, während das Muskelpigment lipoide Substanzen vermissen läßt. *Oberndorfer* hat außerdem darauf hingewiesen, daß, abgesehen von der Pigmentierung, die Epithelzellen gewöhnlich völlig normal aussehen, während die pigmentierten Muskelfasern Quellungserscheinungen zeigen.

Zwei verschiedene Pigmentarten hat man auch in den Ganglienzellen des Sympathicus annehmen zu müssen geglaubt, ein helleres, fetthaltiges, und ein dunkleres, fettfreies. Eine genauere Zusammenstellung der Ansichten über das Verhalten beider Pigmentarten zueinander findet sich in der Arbeit von *Spiegel* und *Adolf* über die Ganglien des Grenzstranges. Die Untersucher kommen zu der Ansicht, daß das dunklere Pigment aus dem helleren hervorgehe. Das würde mit der Auffassung von *Lubarsch* übereinstimmen, daß Unterschiede in der Farbstärke nicht auf chemischen Unterschieden, sondern auf ungleichen Dichtigkeitsverhältnissen in der Ablagerung beruhen.

So ließen sich die Beispiele über feinere Unterschiede schon morphologischer Art zwischen den Abnutzungspigmenten noch vermehren.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchung ist nun, unter Anwendung neuer Methoden festzustellen,

1. ob sich die grundsätzliche Scheidung zwischen Melaninen und Abnutzungspigmenten, die durch die reduzierende Kraft des Melanins gegeben erscheint, aufrecht erhalten läßt, und

2. ob sich mit feineren Methoden noch gewisse Unterschiede zwischen den Abnutzungspigmenten in den einzelnen Organen nachweisen lassen.

Technik.

Für die Entscheidung der ersten Frage stand die Reaktion nach *Schreiber* und *Schneider* zur Verfügung. Sie entspricht dem *Levaditischen* Verfahren zur Silberimprägnierung der Spirochäten. Wenn diese Methode an sich auch relativ leicht zu handhaben ist, so hat sie doch mehrere Nachteile: den einen sehe ich darin, daß sie sehr lange Zeit erfordert. *Schreiber* und *Schneider* geben selbst an, daß die Versilberung 6—12, die Reduktion 2 Tage durchgeführt werden soll. Das ganze Verfahren nimmt also bei jedem Objekt 2 Wochen in Anspruch. Ein zweiter Nachteil ist, daß sich bei ihr leicht Silberniederschläge bilden, und daß das ganze Bild oft für die histologische Untersuchung recht unübersichtlich wird. Außerdem halte ich es für etwas bedenklich, daß bei dem Verfahren ein Reduktionsmittel angewandt wird, und es schien mir zweckmäßiger, eine Methode zu verwenden, wo auf ein solches *völlig* verzichtet werden kann. Erhält man dann in bestimmten Teilen des Gewebes Niederschläge von metallischem Silber, so kann man mit viel größerer Bestimmtheit sagen, daß diese Substanzen wirklich selbst reduzierende Eigenschaften haben und nicht evtl. nur katalytisch einwirken, indem sie einen an sich auch so verlaufenden chemischen Prozeß beschleunigen und evtl. verstärken.

Derselbe Nachteil haftet der von *Kutschera-Aichbergen* angewandten Methode von *Bielschowsky* an, wenn er auch schon angibt, daß er unter Umständen auf das Reduktionsmittel verzichtet.

Beide Nachteile der eben besprochenen Methode glaube ich durch eine sehr einfache Technik vermeiden zu können.

Ich stellte mir eine Lösung von Silberhydroxyd in Ammoniak her, wie sie für die *Bielschowsky*-Färbung gebraucht wird, verdünne sie nur um das Doppelte mit Wasser. Diese Lösung wird in einem Reagensglas bis zum Kochen erhitzt und dann durch ein, evtl. doppeltes, Filter auf den plan gelegten Objektträger gegossen, der den entparaffinierten Schnitt des zu untersuchenden Organes trägt. Man läßt die Lösung etwa 3 Minuten einwirken und hat nur darauf zu achten, daß die Flüssigkeit nirgends eintrocknet, weil sonst Silberniederschläge entstehen.

Dann wird der Schnitt erst in Aqua dest., dann kurz (ca. $\frac{1}{2}$ Minute) in einer 5proz. Lösung von Natriumthiosulfat abgespült und durch Alkohol und Xylol in Kanadabalsam eingebettet.

Die Färbung kann an jedem Paraffinschnitt vorgenommen werden. Es bedarf keinerlei besonderer Einbettung oder sonstiger Vorbereitung. Wichtig ist lediglich, daß man frisch zubereitete Lösung von Argentum nitricum verwendet, da mir ältere öfters versagt haben.

Beim Suchen nach weiteren Methoden zum Nachweis reduzierender Wirkungen von Zellbestandteilen stieß ich auf die Arbeiten von *Unna*. Er gibt drei Reaktionen zu diesem Zweck an.

1. Färbung der Paraffinschnitte mit 1proz. Kal. permanganicum, 1—2 Minuten. Die „Reduktionsorte“ der Zellen sollen sich braun färben.
2. Färbung mit einer gleichteiligen Mischung von 1proz. Eisenchlorid und 1proz. rotem Blutlaugensalz, 5 Minuten. Reduktionsorte blau gefärbt (Entstehung von Ferrocyankali, Bildung von Berliner Blau mit dem Eisenchlorid).
3. Färbung mit einer 1proz. Lösung von Tetranitrochrysophansäure in Chloroform, 10 Minuten. Reduktionsorte rot.

Von diesen drei Methoden schien mir aus praktischen Gründen für mich die zweite am brauchbarsten, weil der Farbenumschlag der Pigmente von gelb oder braun in blau am leichtesten zu beurteilen sein muß.

Eine dritte Methode wurde dadurch gefunden, daß ein vorher mit Silberlösung behandelter Schnitt nachträglich in das Eisencyanreagenz gebracht wurde.

Die Ergebnisse waren dabei grundsätzlich die gleichen wie bei der einfachen Eisen-cyanprobe, aber so kontrastreich und kräftig, daß ich diese „Kombinationsmethode“ dann regelmäßig mit anwandte. Sie übertrifft die beiden ersten Methoden an Sicherheit und Klarheit des Farbumschlages. Was im einfachen Eisen-cyanpräparat oft nur grünlich oder gar gelbgrün gefärbt ist, zeigt bei der Färbung mit der Kombinationsmethode eine intensiv blaue Farbe. Ich möchte mir diese Verbesserung so vorstellen, daß das an den Orten der Reduktion metallisch niedergeschlagene Silber beim Ansetzen der zweiten Reaktion als Katalysator dient und so die Reduktion des roten zum gelben Blutlaugensalz verstärkt. Besonders wichtig ist bei dieser Methode, daß die Schnitte nach dem ersten Akt in Natriumthiosulfat gut abgespült werden, weil man sonst durch Behandlung mit dem zweiten Reagenz sehr störende Silberniederschläge erhält.

Da die Ergebnisse mit den drei Methoden nicht gleichmäßig sind, muß ich sie getrennt besprechen.

1. *Ergebnisse mit der Silbermethode*¹⁾.

Die stärkste Reduktion der Silberlösung bewirkte das melanotische Pigment der Haut. Es färben sich nicht nur die pigmenthaltigen, besonders die basalen Epidermiszellen, sondern auch die Chromatophoren in der Cutis lassen eine starke Färbung ihres Pigmentes erkennen. Die Farbe wird dunkelbraun bis fast schwarz. Das Bild erinnert durchaus an die von *Schreiber* und *Schneider* wiedergegebenen und zeigt damit zugleich, daß diese einfachere Methode der ihrigen gleichwertig ist. Das geht auch daraus hervor, daß häufig in Epidermiszellen dort Braunfärbung auftritt, wo am ungefärbten Präparat noch kein Pigment zu erkennen gewesen war. Es werden also anscheinend auch gewisse, noch ungefärbte Vorstufen des Melanins mit der Methode dargestellt. Die Zellkerne bleiben stets völlig ungefärbt. Das Bindegewebe der Cutis kann einen hellgelben Farbenton annehmen, der meist nicht so stark ist, wie man ihn im *Levaditi*-Präparat findet.

Ganz ähnlich fällt die Färbung pigmentierter Naevi oder sonstiger Tumoren aus, die melanotisches Pigment enthalten, wie ich das an mehreren Fällen von melanotischen Geschwülsten (Metastasen der Leistenrüsen und in der Leber) feststellen konnte.

Fast ebenso stark ist die Reaktion des Farbstoffes in den Chromatophoren der weichen Hirnhaut am verlängerten Mark, die meist auch völlig schwarz oder wenigstens schwarzbraun herauskommt.

Schon etwas mehr ins Braune geht die Färbung in den Ganglienzellen der Substantia nigra. Sie ist auch nicht an allen Zellen gleich, läßt aber durchweg noch einen dunkelbraunen Ton erkennen.

Größere Unterschiede in der Stärke der Pigmentreaktion sind in den Ganglienzellen des Sympathicus zu erkennen. Allerdings ist dieser

¹⁾ Die Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen von *Kutschera-Aichbergen* und *Lubarsch*, die mit etwas abweichender Technik gewonnen wurden, überein.

Unterschied wohl weniger durch die geringere Färbung des Einzelkornes als durch die wechselnde Größe der Pigmentkörnchen und ihre mehr oder weniger dichte Lagerung bedingt. Es sind aber in den einzelnen Präparaten mit Sicherheit auch Unterschiede in der Braunfärbung der einzelnen Körner vorhanden. Aber ebenso bestimmt ließ sich feststellen, daß sämtliches Pigment, das überhaupt in den Ganglien vorkommt, die Silberreaktion gibt. Es muß danach unwahrscheinlich erscheinen, daß in den Sympathicusganglien zwei verschiedene Pigmente

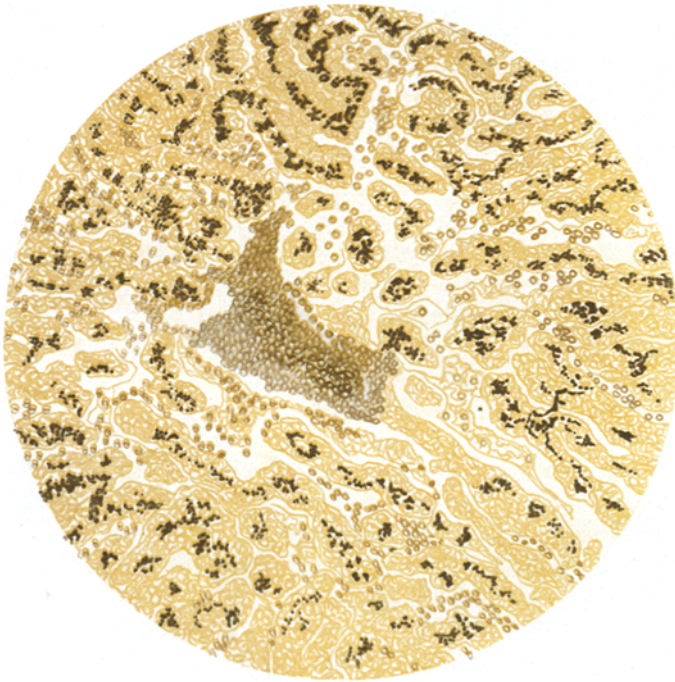


Abb. 1. Leber, Silberreaktion. Stark pigmentiert. Mittlere Vergrößerung.

vorkommen. Diejenigen Farbkörnchen, die schon am ungefärbten Präparat dunkler erscheinen, ergaben durchweg auch eine dunklere Silberreaktion, die helleren zeigten sie in einer schwächeren Braunfärbung.

Bei dem Pigment der Sympathicuszellen sind die Ansichten geteilt, ob es sich hier um ein Melanin oder um ein Abnutzungspigment handelt. Die übrigen, eben besprochenen, werden im allgemeinen sämtlich zu den Melaninen gerechnet. Sie zeigen die Silberreaktion stets in sehr ausgeprägter Weise. Aber schon hier ließ sich eine gewisse Abstufung in der Dunkelheit der Färbung, vom Schwarz bis zu einem dunkleren Braun, feststellen.

Von typischen Abnutzungspigmenten wurden das der Leber, der Samenblasen, des Herzens und der Nebennieren untersucht.

Abb. 1 zeigt ein Präparat von einer braunen Atrophie der Leber eines 40jährigen Mannes. Man sieht in der Mitte eine stark gefüllte Zentralvene, deren Wand nicht deutlich zu erkennen ist; sieht ferner eine gewisse zentrale Stauung in den Pfortadercapillaren und reichlich dunkelbraun gefärbtes, körniges Pigment in den Leberzellen, ein Pigment, das keine Eisenreaktion gab und im ungefärbten Präparat einen gelblichen Farbenton hatte, der sich sehr stark von dem hier erkennbaren Dunkelbraunen unterschied. Diese Reaktion des Leberpigmentes ließ sich fast durchweg nachweisen. In einzelnen Fällen, so besonders bei jugendlichen Personen, war allerdings die Braunfärbung nicht so stark wie in dem abgebildeten Präparat.

Aber der Vergleich mit dem ungefärbten ließ stets einen deutlichen Unterschied erkennen. Zuweilen hatte man den Eindruck, als ob im Silberpräparat auch mehr Pigment zu sehen sei als im Vergleichspräparat. Es wäre also denkbar, daß auch hier schon gewisse Vorstufen des Pigmentes die Reaktion geben, die selbst noch farblos sind.

Von demselben Mann stammt Abb. 2 aus der

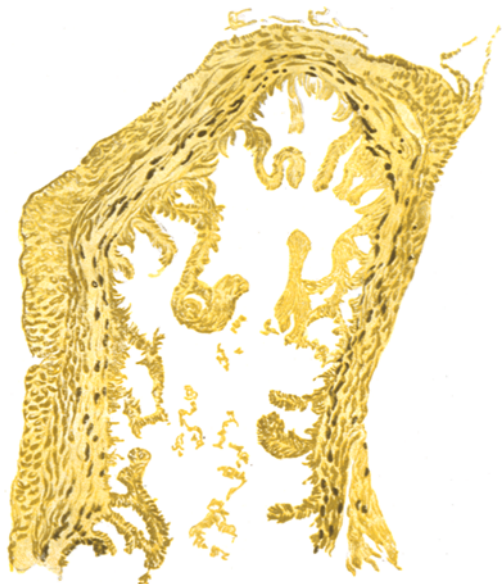


Abb. 2. Samenblase. Silberreaktion. Epithelpigment ungefärbt. Muskelpigment braun. Mittlere Vergrößerung.

Samenblase. Hier sehen wir einen eigenartigen Unterschied. Das in reichlicher Menge vorhandene Pigment in den Epithelzellen ist ungefärbt geblieben, während das in den Muskel- und Bindegewebszellen überall deutliche Braunfärbung erkennen läßt. Noch klarer ist das bei stärkerer Vergrößerung ersichtlich. Meist kann man von dem im ungefärbten Präparat gut erkennbaren, wenn auch nur blaß-gelblichen Epithelpigment gar nichts sehen, während der Farbstoff in den Muskel- und Bindegewebszellen sehr schön dunkelbraun hervortritt. Das beweist gleichzeitig, daß die Braunfärbung nicht etwa nur durch eine Summierung der schwachen Eigenfarbe mit dem allgemeinen gelben Farbenton bei der Behandlung mit der Silberlösung entsteht. Pigmente, die die Silber-

reaktion nicht geben, sind im gefärbten Präparat meist überhaupt nicht mehr oder schwächer als vorher zu erkennen. Das gilt z. B. auch von dem Hämosiderin, das in den Silberpräparaten jedenfalls nie dunkler gefärbt ist als von Natur. Was aus diesem einen Bild ersichtlich war, ist als ständige Regel zu beobachten.

In der Samenblase färbt sich das Pigment des Epithels nicht, während das Muskelpigment eine deutliche Silberreaktion gibt. Die von anderen aufgestellte Behauptung, daß es sich hier um zwei verschiedene Farbstoffe handelt, wird also durch meine Untersuchungen durchaus bestätigt. Wir werden später sehen, daß gerade das Pigment der Epithelien der Samenblasen auch mit den anderen Reaktionen sich von den übrigen Abnutzungspigmenten unterscheidet.

Das braune Pigment des Herzmuskels ließ wohl hier und da eine leichte Braunfärbung erkennen, die einen gewissen Unterschied gegen den Farbstoff im ungefärbten Präparat zeigte, eine deutliche Reaktion gab es aber nie, auch nicht in solchen Fällen, wo die braune Atrophie des Herzens schon makroskopisch deutlich war.

Noch ablehnender verhielt sich das Pigment in der Zona reticularis der Nebennierenrinde, bei dem ich nie eine Silberreaktion habe nachweisen können. Es war durchweg in den Silberpräparaten nur sehr schwer überhaupt noch zu erkennen.

2. Ergebnisse mit der Eisencyanmethode.

Ähnlich sind die Ergebnisse, die mit der zweiten Methode, dem Eisencyanreagenz von *Unna*, erzielt wurden. Doch kann man wohl sagen, daß im großen und ganzen diese Reaktion weniger empfindlich ist und häufig etwas unklare Bilder gibt.

Im einzelnen sei folgendes hervorgehoben:

Abb. 3 zeigt einen Hautnaevus einer 59jährigen Frau. Man sieht, wie die Kerne der Epithelzellen überall als ungefärbte Lücken erscheinen. Der Zelleib der basalen Zellschicht resp. das Pigment in ihm hat einen hellgrünen Farbenton angenommen, der in dem in die Tiefe gehenden Epithelzapfen stellenweise in ein deutliches Dunkelblau übergeht.

Kräftig blau gefärbt ist auch das Pigment in den Naevuszellen. Diejenigen, die sich im ungefärbten Präparat als pigmentfrei erwiesen, treten auch im Eisencyanbild nicht hervor.

Dieselbe deutliche Reaktion ließ sich in anderen Melaninen nachweisen.

Vergleicht man ein solches „Eisencyanbild“ mit dem entsprechenden Silberbild, so ist die große Ähnlichkeit der beiden Präparate ohne weiteres einleuchtend. Die Reaktion ist vielfach mit dem Eisencyanreagenz so stark, daß die einzelnen Pigmentkörnchen nicht mehr deutlich abzugrenzen sind, sondern daß eine dunkelblaue Zone in der Zelle die Stelle anzeigt, wo Pigment in dichter Anhäufung gelegen hat.

Auch die Ganglienzellen des Sympathicus lassen in der Regel die Blaufärbung ihres Pigmentes mit der Eisencyanlösung erkennen. Weniger eindeutig ist der Befund in Leber und Samenblase.

Häufig bleibt das Pigment der Leber völlig ungefärbt. Man sieht es dann in Form gelblicher Körnchen in dem blaß-bläulich gefärbten Protoplasma der Leberzellen liegen. In anderen Fällen nimmt es einen schmutzig-grünen oder grün-blauen Farbenton an, und man hat den Eindruck, daß hier eine gewisse Reduktion des Ferricyankaliums stattgefunden hat.

Ähnlich verhalten sich die Samenblasen. Das Epithelpigment färbt sich allerdings nie. Das Pigment der Muskulatur nimmt aber hier und da einen blaugrünen Farbenton an.

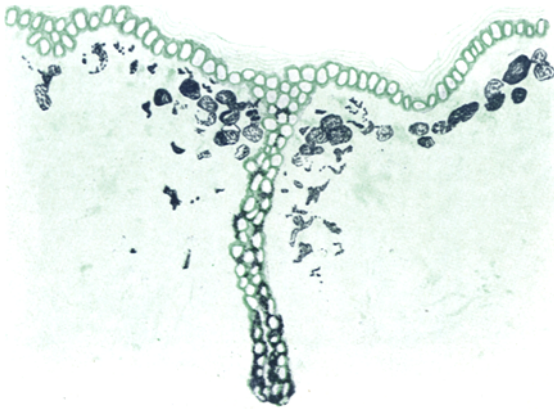


Abb. 3. Haut, mit Naevus. Eisencyanreaktion. Mittlere Vergrößerung.

Dasselbe gilt für das braune Pigment des Herzens, bei dem das Ungefärbtbleiben die Regel ist. Stets negativ verhält sich das Pigment der Nebenniere.

3. *Ergebnisse mit der Kombinationsmethode.*

Am stärksten und ausgebreitetsten ist die Reaktion mit der Kombinationsmethode. Auch hier lassen aber diejenigen Pigmente, die sich schon mit den beiden anderen oder wenigstens mit der Silbermethode färbten, eine deutlichere Reaktion erkennen.

Für die Melanine ist die Methode fast zu empfindlich. Die Pigmentkörner sind oft so stark dunkelblau gefärbt, und auch zwischen den Granula ist Berliner Blau in so reichlicher Menge gebildet worden, daß schwarzblaue Abschnitte in den Zellen entstehen, in deren Bereich die einzelnen Pigmentkörnchen nicht mehr zu erkennen sind. Dasselbe sieht man oft in der Haut und in den melaninhaltigen Geschwülsten.

Die Ganglienzellen des Sympathicus zeigen eine gewisse Abschwächung, indem die Körnchen selbst sich zwar stark färben, aber noch deutlich voneinander getrennt bleiben. Stets ist hier eine rein dunkelblaue Farbe zu erkennen. Dasselbe gilt für das Pigment in der Muskulatur der Samenblase.

Auch in der Leber ist oft, wie Abb. 4 zeigt, eine schöne deutliche, von der Umgebung gut abgesetzte Blaufärbung des Pigmentes zu sehen. Nicht immer ist die Färbung hier so reich an Gegensätzen. Zuweilen treten mehr blau-grüne Farbtöne auf.

Dasselbe gilt von dem Pigment des Herzens. Während die Silberreaktion hier nur recht unklare Bilder gab und sich mit der reinen

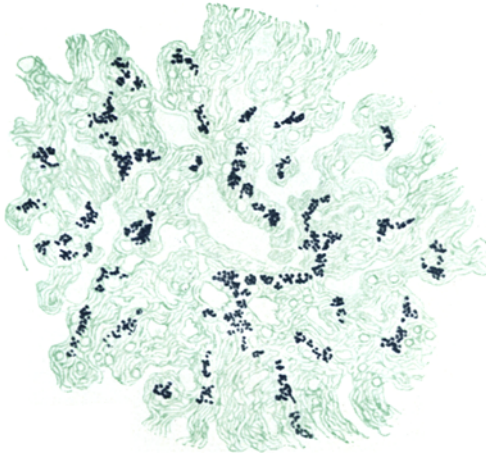


Abb. 4. Leber. Mäßig stark pigmentiert. Kombinationsmethode. Mittlere Vergrößerung.

Eisencyanmethode nur zuweilen eine blaugrüne Färbung erzielen ließ, zeigt die Kombinationsmethode insofern ein regelmäßiges Ergebnis, als sich das Pigment durchweg in blaugrüner Farbe darstellen läßt, die sich deutlich von der Umgebung abhebt.

Auch in den Nebennieren, deren Pigment weder mit der Silbermethode noch im Eisencyanbild darstellbar war, ist das Pigment ganz regelmäßig blaugrün gefärbt. Wenn meine Ansicht richtig ist, daß die größere Empfindlichkeit der Kombinationsfärbung darauf beruht, daß feinste Silberteilehen die Reduktion katalytisch beeinflussen, so würden die Ergebnisse dieser Methode am Herzen und an den Nebennieren dafür sprechen, daß auch in den Pigmenten dieser Organe tatsächlich schon eine geringe Menge von Silber durch einen Reduktionsprozeß niedergeschlagen waren, nur in so geringer Menge, daß sie keine wesentliche Braunfärbung mehr erzeugten. Es wäre dann also auch die Silberreaktion in diesen Organen als positiv anzusehen.

Ein Pigment nur hat sich auch der Kombinationsmethode gegenüber als unzugänglich erwiesen, das ist der Farbstoff in den Epithelien der Samenblasen, der nie auch nur die geringste Färbung zeigte.

Fassen wir noch einmal kurz die Ergebnisse der oben ausgeführten Untersuchungen zusammen, so sehen wir, daß sich die melanotischen und die Abnutzungspigmente als Stoffe herausstellten, die imstande waren, in bald stärkerem, bald schwächerem Grade aus einer Lösung von ammoniakalischem Silberhydroxyd durch Reduktion metallisches Silber auszuschcheiden. Dasselbe Reduktionsvermögen erwiesen sie gegenüber Ferricyankalium, eine Reaktion, die sich verstärken ließ, wenn man die Schnitte vorher der Silberbehandlung aussetzte.

Diese reduzierende Eigenschaft kommt also in dem Wesen nach gleichem Grade sowohl den Melaninen als auch den sog. Lipofuscinen zu. Kommen wir auf unsere erste Fragestellung zurück, so werden wir also sagen müssen, daß in dieser Hinsicht eine Trennung der Melanine von den Abnutzungspigmenten nicht mehr zu Recht besteht. Was die Untersuchungen von *Brahn* und *Schmidtman* elementaranalytisch ergeben haben, wird hiermit auf anderem Wege bestätigt. Damit dürfen die beiden Stoffe noch nicht ohne weiteres als gleichartig angesehen werden¹⁾. Denn Gradunterschiede in dem Reduktionsvermögen sind ja nicht zu verkennen. Aber dieselben Unterschiede bestehen auch unter den Abnutzungspigmenten der einzelnen Organe selbst. Auch hier sehen wir eine Stufenreihe von dem Pigment in den Sympathicuszellen über Leber, Herz zu den Farbstoffen in der Zona reticularis der Nebenniere. Allein das Pigment der Samenblasenepithelien erwies sich als ablehnend.

Damit ist auch zugleich die zweite Frage beantwortet. Die Abnutzungspigmente gehören zwar zweifellos in eine gemeinsame Gruppe, verdanken wohl sehr ähnlichen Bedingungen ihr Entstehen, sind aber ebenfalls nicht als völlig gleichartig anzusehen. Das geht nicht nur aus der verschiedenen Reduktionskraft, sondern auch aus anderen Untersuchungsergebnissen hervor, die eine verschiedene Stärke des Farbstoffes, einen verschiedenen Gehalt des Pigmentes an lipoiden Substanzen usw. gezeigt haben.

Fragen wir uns zum Schluß, ob aus den dargelegten Untersuchungen sich Schlüsse auf die Entstehung der Pigmente ziehen lassen, so deutet die reduzierende Fähigkeit der Pigmente auf einen örtlichen Mangel an Sauerstoff im Protoplasma der Zellen hin. Daß die Farbstoffe in dem Protoplasma selbst gebildet werden, geht besonders wieder aus der letzten Arbeit von *Mitsuda* hervor. In ihr wird auch die proteinogene Natur derselben sehr wahrscheinlich gemacht. Es liegt also nahe anzu-

¹⁾ Ich halte deshalb den Schluß von *Kutschera-Aichbergen* (S. 53) für zu weitgehend.

nehmen, daß es mangelhafte Oxydationsprozesse im Protoplasma sind, die zur Abscheidung dieser pigmentierten Schlacken führen. Damit würde durchaus in Einklang zu bringen sein, daß sie häufig in Gemeinschaft mit lipoiden Substanzen auftreten. Der Tiefstand der Oxydationsvorgänge verhindert auch die normale Verbrennung der Fette und läßt sie in unverbrannter Form im Protoplasma erscheinen.

Für diese Auffassung des Entstehens der Pigmente infolge mangelhafter Oxydationsvorgänge lassen sich mehrere Umstände anführen: Einmal zeichnen sich alle diese Pigmente dadurch aus, daß sie sich durch H_2O_2 , d. h. ein starkes Oxydationsmittel, bleichen lassen.

Zweitens spricht die Lokalisation der Pigmente gerade in der Leber in diesem Sinne. Wir finden hier die Abnutzungspigmente ganz vorzugsweise, wie ich das auch nach meinen eigenen Untersuchungen bestätigen kann, im Zentrum der Leberläppchen um die Zentralvene herum. Hier ist ganz zweifellos die Sauerstoffspannung des Blutes am geringsten. Es müssen also die Oxydationsprozesse ganz besonders herabgesetzt sein. Im gleichen Sinne, also als Folge einer ungenügenden Zuführung von Sauerstoff, ist wohl die Entstehung des Pigmentes in den Explantaten von Lebergewebe anzusehen, über das *Mitsuda* aus dem Institut von *Lubarsch* berichtet.

Aber es ist noch eine andere Möglichkeit der Entstehung denkbar. Es wäre möglich, daß nicht die mangelhafte Zufuhr von Sauerstoff, sondern die schlechte Ausnützung desselben zu der Herabsetzung der Oxydationsvorgänge führte. Diese ungenügende Verwertung des Sauerstoffes könnte durch einen Mangel an oxydierenden Fermenten im Zellleib bedingt sein. Und in der Tat hat *Gräff* darauf aufmerksam gemacht, daß „gerade jene Organe bzw. Zellen, welche im Alter reich an Abnutzungspigment sind, geringere Nadi-Reaktion geben, während dieselben Zellen im jugendlichen Alter besonders stark reagieren“.

Meine eigenen Untersuchungen über diese Frage sind noch nicht abgeschlossen. Doch habe ich gerade in den Ganglienzellen des Sympathicus den auffallenden Befund erheben können, daß diese in dem Alter, wo sie Pigment enthalten, die *Gierke*sche Oxydasereaktion entweder überhaupt nicht geben oder nur einen ganz matt bläulich-violetten Schimmer enthalten, während die gleichen Zellen im jugendlichen Alter, wenigstens stellenweise, deutliche blaue Körnchen enthielten. Die Untersuchungen darüber werden im hiesigen Institut fortgesetzt. Auch darüber sind Untersuchungen im Gange, ob sich in dieser Beziehung die melaninhaltigen Zellen ebenso verhalten wie die mit Abnutzungspigment.

Das würde sich schwer mit den Untersuchungen von *Bloch* über die Dopaoxydase vereinigen lassen, wie es überhaupt nicht ganz leicht ist, die reduzierende Eigenschaft des Melanins mit dem Vorhandensein der spezifischen Oxydase in Einklang zu bringen. Das Eine steht aller-

dings fest, daß beide Reaktionen nicht an demselben Substrat haften. Die Dopareaktion ist an die Epidermiszellen gebunden. Sie findet sich deswegen nicht in den Chromatophoren der Cutis. Die Reduktionswirkung des Melanins ist eine Eigenschaft des Pigmentes selbst. Das konnte ich sehr schön in einem Fall von multiplen Metastasen eines Melanosarkoms in der Leber verfolgen. Hier hatten sich in der Umgebung der Metastasen zahlreiche *v. Kupffersche* Sternzellen mit Pigment beladen. Alle diese Zellen waren nach der Behandlung mit Silberlösung mit schwarzbraunen Körnchen gefüllt.

Wir müssen also vorläufig uns mit der Tatsache abfinden, daß in den Epidermiszellen einmal ein oxydierendes Ferment nachweisbar ist, das mit der Pigmententstehung irgendwie in Zusammenhang steht (denn bei Albinismus fehlt die Dopaoxydase), und daß trotzdem das Pigment dieser Zellen ausgesprochen reduzierende Eigenschaften besitzt.

Literaturverzeichnis.

- Hueck*, Die pathologische Pigmentierung. *Krehl-Marchand* **3**, 2. 1921. — *Oberndorfer*, Die pathologischen Pigmente. *Lubarsch-Ostertag, Ergebn.* **19**, 2. 1921. — *Brahn* und *Schmidtman*, *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **227**, 137. 1920. — *Sehrt*, *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **177**, 248. 1904. — *Schmidtman, M.*, *Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionsl.* **2**, 75. 1918. — *Kreibich*, *Arch. f. Dermatol. u. Syphilis* **118**. 1913. — *Schreiber* und *Schneider*, *Münch. med. Wochenschr.* 1908, S. 1918. — *Kutschera-Aichbergen*, Frankfurt. *Zeitschr. f. Pathol.* **27**, 21. 1922. — *Maass*, *Arch. f. mikroskop. Anat.* **34**, 452. 1889. — *Oberndorfer*, *Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol.* **31**, 325. 1902. — *Spiegel* und *Adolf*, *Arb. a. d. neurol. Inst. Wien* **23**, H. 1. — *Unna*, *Arch. f. mikroskop. Anat.* **87**, 96. 1916. — *Unna*, *Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Lieferung 17.* — *v. Gierke*, *Münch. med. Wochenschr.* 1911, H. 44, S. 2315. — *Gräff*, *Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol.* **70**, 1. 1922. — *Bloch*, *Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem.* **98**. 1916–1917. — *Mitsuda*, *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **248**, 91. 1924. — *Lubarsch*, *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **239**, 491. 1922.