

(Aus der pathologisch-anatomischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses im Friedrichshain-Berlin [Abteilungsdirektor Prof. Dr. L. Pick].)

Zur experimentellen Hämatoporphyrrose der Knochen.

Von

Dr. med. et Dr. med. dent. H. Hammer (Potsdam).

Mit 5 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 7. Oktober 1929.)

Nach den grundlegenden Arbeiten von *Hans Günther*, der als erster sich eingehender mit der Frage der Beziehungen des Hämatoporphyrins zum Organismus befaßte, haben seitdem zahlreiche Forscher, so vor allem *Willstätter*, *H. Fischer*, *Schumm*, *Borst* u. a. versucht, Klarheit über das Wesen der Porphyrie zu schaffen. Auf Grund einer größeren Anzahl eigener Beobachtungen und durch Auswertung der aus dem Schrifttum bekannten Fälle gelangte *Günther* dazu, mehrere scharf-umrissene Formen der Hämatoporphyrrie aufzustellen. So unterscheidet er die akute Hämatoporphyrrie, die akute toxische Hämatoporphyrrie und die angeborene Hämatoporphyrrie. Die akute Form, bei der Erscheinungen von seiten des Magen-Darmschlauches (Darmkoliken, Verstopfungen und Erbrechen) im Vordergrund sind, wird hervorgerufen durch natürlich im Körper entstehende Stoffwechselgifte, die toxische Form durch dem Körper von außen zugeführte Gifte (Sulfonal, Trional). Die angeborene Form erhält ihre Prägung durch die auffallende braun-rote Färbung des gesamten knöchernen Skeletsystems. Außerdem tritt in den meisten Fällen der angeborenen Form, infolge der photodynamischen Wirkung des Porphyrins, eine schwere Schädigung der äußeren Haut an den Stellen ein, die dem Lichte zugänglich sind. Wie der von *Eugen Fränkel* veröffentlichte Fall zeigt, tritt diese Schädigung der Haut aber nicht in allen Fällen ein und beweist damit, daß die von den einzelnen Forschern erhobenen Befunde nicht eindeutig zu sein brauchen.

Die neueren Forschungen beziehen sich vor allem auf die Art, das Wesen und die Entstehung der bei diesen eigenartigen Krankheitszuständen gefundenen Porphyrine und auf ihre Ablagerung im Organismus. Ganz besonders hat sich in allerletzter Zeit *Borst*, in Gemeinschaft mit *Königsdörfer*, mit diesen Fragen beschäftigt und wesentlich zur Klärung der strittigen Probleme beigetragen. Während man bislang

der Meinung war, daß das bei den Porphyrikranken gefundene Porphyrin übereinstimme mit dem seit langem bekannten Hämatoporphyrin, hat sich allmählich diese Anschauung gewandelt. *Willstätter* gelang es, zahlreiche Porphyrine aus dem Chlorophyll darzustellen. *H. Fischer* konnte den Nachweis des Porphyrins in der Hefe erbringen. Im Jahre 1913 wurde durch *H. Fischer* und *Willstätter* gemeinsam das Ätioporphyrin, das dem Chlorophyll wie dem Blutfarbstoff gemeinschaftlich ist, dargestellt. Von dem Ätioporphyrin kann man durch Einführung von Eisen bzw. von Magnesium in die Blut- oder in die Blattfarbstofffreie hineingelangen. In dem bekannten Fall *Petri* konnte *H. Fischer* zwei weitere Porphyrine, das Uroporphyrin und das ganz eng mit diesem in Verbindung stehende Koproporphyrin nachweisen. *H. Fischer* bewies, daß nicht, wie bislang angenommen wurde, das Hämatoporphyrin, sondern das Uroporphyrin die unter dem Namen Hämatoporphyrie bekannte Erkrankung hervorruft. Seitdem wird zweckmäßigerweise nicht mehr von einer Hämatoporphyrie, sondern allgemein von einer Porphyrie gesprochen. Der Unterschied bei diesen beiden Porphyrinen besteht in der Anzahl der Carboxylgruppen; das Uroporphyrin enthält deren acht, das Koproporphyrin nur vier. Nach *H. Fischer* ist das Koproporphyrin das primäre Porphyrin, aus dem sich erst sekundär das Uroporphyrin bildet. Nach Untersuchungen von *Garrod* kommt das Koproporphyrin auch im normalen Harn und Kot vor, so daß danach die Porphyrie nur die pathologische Weiterentwicklung eines physiologischen Vorganges wäre. Auch nach *H. Fischer* tritt unter pathologischen Verhältnissen eine starke Vermehrung des Koproporphyrins auf, das sich dann in vielen Fällen durch Angliederung von vier weiteren Carboxylgruppen in Uroporphyrin umwandelt. In der chemischen Reihe zwischen dem Koproporphyrin und dem Uroporphyrin bestehen aber wahrscheinlich noch weitere bisher noch nicht näher bekannte Zwischenstadien. Da durch *H. Fischer* chemisch und biologisch erwiesen ist, daß Koproporphyrin nicht vom normalen Blutfarbstoff abstammen kann, andererseits das Koproporphyrin aber die Quelle für das Uroporphyrin ist, kommt *H. Fischer* zur Annahme des Dualismus des Blutfarbstoffes. Er nimmt entsprechend zum Chlorophyll A und B an, daß es auch ein Hämoglobin A und B gibt. Das Hämoglobin A entspricht dem normalen Blutfarbstoff, während von dem Hämoglobin B die normalerweise im Harn und Kot vorkommenden Porphyrine abstammen sollen. Unter pathologischen Verhältnissen würde dann dieser an sich physiologische Vorgang eine Steigerung erfahren und es so zur Entstehung der Porphyriurie kommen. Seine Ansicht, daß das Hämoglobin B dasselbe sei wie der Muskelfarbstoff, hat *H. Fischer* inzwischen fallen lassen. Außer den bisher näher charakterisierten Porphyrinen kommt noch das sog. *Kämmererporphyrin* im Organismus sowohl von Mensch als auch von Tier vor. *Kämmerer* fand dieses Porphyrin zuerst

im Auswurf, der aus gangränösen Lungenherden stammte. Es entsteht durch Fäulnis von bluthaltigem Material aus dem Hämoglobin A im Gegensatz zu dem aus dem Hämoglobin B entstehenden Koproporphyrin.

Von einer Reihe von Forschern wird nun freilich die gesamte Porphyrinbildung für den menschlichen Körper als von außen stammend betrachtet. Sie rechnen mit der Bildung des Porphyrins aus dem Chlorophyll, ferner bei Aufnahme von Fleisch und bluthaltiger Nahrung. Auch *Hymans von den Bergh* läßt z. B. Koproporphyrin, das er im Zahnstein eines Porphyrinkranken nachweisen konnte, aus dem Brot, der Milch des Frühstücks oder aus der Hefe entstehen, keinesfalls aber aus dem Hämoglobin des Körpers.

Demgegenüber läßt die zum Teil schon vorher besprochene endogene Theorie zu, daß das Porphyrin im Körper selbst gebildet wird. Auch hier stehen sich wieder zwei Anschauungen gegenüber; die einen nehmen an, daß durch krankhaftes Geschehen einsteils das Hämoglobin zu Bilirubin und Urobilinogen abgebaut wird, andererseits aber ein Teil des abgebauten Hämoglobins auf der Porphyrinstufe stehen bleibt. Auch aus dem Gallenfarbstoff soll unter Umständen durch Bakterieneinfluß eine enterale Porphyrinbildung möglich sein. Oder aber das Porphyrin bildet sich im Organismus selbstständig im Knochenmark, aber auch in den anderen Organen, so vor allem in der Körpermuskulatur. Der Klärung dieser noch strittigen Fragen gelten die neuerdings von *Hans Fischer*, *Borst* und *Königsdörfer* vorgenommenen umfangreichen Untersuchungen. *Borst* sieht auf Grund dieser Forschungen das Wesen der angeborenen Porphyrie darin, daß in den Fällen menschlicher Porphyrie der intermediäre Porphyrinstoffwechsel auf einer stammes- und keimesgeschichtlichen Entwicklungsstufe stehen bleibt, und zwar scheint es sich dabei um das Bestehenbleiben eines vom Hämatinstoffwechsels unabhängigen Vorgangs im Sinne der Synthese selbstständiger Organpigmente zu handeln.

Schließlich steht auch die physiologische Rolle, die dem Porphyrin im Organismus gegebenenfalls zukommt, zur Erörterung. Die Versuche, die von *v. Leersum* an rachitischen Ratten — bei Haltung im Dunkeln — ausgeführt wurden (Einspritzung von Hämatoporphyrin), scheinen die Annahme von *Borst* und *Königsdörfer* zu bestätigen, daß das Porphyrin zu gewissen Zeiten für den physikalisch-chemischen Ablauf der Verkalkung eine Rolle spielt. Auch die Befunde *Derriens*, der das Porphyrin als normalen Bestandteil in den Zahnwurzeln und im Knochen nachwies, lassen sich vielleicht in diesem Sinne deuten.

Nach dem jetzigen Stande würden wir, wenn man von vielen in der Natur vorkommenden Porphyrinen absieht, vor allem zu unterscheiden haben:

1. Natürliche Porphyrine: a) Ooporphyrin, b) Uroporphyrin, c) Koproporphyrin, d) Kämmererporphyrin.

2. Künstliche Porphyrine, hergestellt durch chemische Methoden aus dem Hämatin oder dem Chlorophyll: a) Ätioporphyrin, b) Proto-porphyrin, c) Hämatoporphyrin, d) Mesoporphyrin.

Die natürlichen Porphyrine sind unter normalen bzw. pathologischen Verhältnissen im menschlichen und tierischen Organismus nachweisbar.

Die bei der angeborenen Porphyrie so auffällige braunrote Verfärbung des knöchernen Skeletsystems hat nun vor Jahren *Eugen Fränkel* veranlaßt, zu versuchen, einen der angeborenen Porphyrie entsprechenden Zustand beim Tier hervorzurufen. *Fränkel* benutzte zu seinen Versuchen ein Rohporphyrin, das aus dem Harn des porphyrinkranken Petri durch Ausfällung gewonnen wurde. Soda-lösungen mit 0,5—1% Gehalt an Farbstoff wurde den Versuchstieren unter die Bauchhaut gespritzt. Bei diesen Versuchen konnte *Eugen Fränkel* eine ausgesprochene Elektivität des Porphyrins zum wachsenden Knochen feststellen. Das knöcherne Skelet sämtlicher jungen Versuchstiere war je nach Dauer des Versuches mehr oder weniger stark braunrot gefärbt, während der Knorpel vollkommen ungefärbt blieb. Dentin und Zement der Zähne nahmen ebenfalls eine starke braunrote bis kirschrote Färbung an. An ausgewachsenen Tieren konnte eine Färbung des Knochens nicht erzielt werden, während eine allerdings leichte Verfärbung der Zähne auch bei alten Tieren von ihm beobachtet werden konnte. *Eugen Fränkel* schließt daraus, daß auch bei Verfärbung der Zähne der Versuchstiere ein Rückschluß auf die Färbung des Skelets nicht gemacht werden könne. Wurden im Oberschenkel bzw. Unterschenkel von ausgewachsenen Versuchstieren Brüche gesetzt, so konnte *Eugen Fränkel* auch im Callus eine starke braunrote Färbung erzielen. Im allgemeinen vertrugen seine Versuchstiere die Einspritzungen sehr gut, nur ganz geringe Schwankungen des Gewichts wurden von ihm beobachtet. An einem Tier war eine photodynamische Wirkung des Porphyrins zu erkennen.

Ähnliche Versuche hat danach im beschränkteren Umfange *H. Fischer*, in ausgedehnterem Maße *Königsdörfer*, und zwar dieser mit verschiedenen isolierten Porphyrinen, sowohl mit natürlichen, dem Koproporphyrin, Uroporphyrin und Ooporphyrin, wie mit künstlich hergestellten, dem Hämatoporphyrin und dem Mesoporphyrin angestellt. *Königsdörfer* machte seine Versuche an weißen Mäusen und Meerschweinchen, jungen wie alten, denen er Einspritzungen einer 1%igen Lösung in no. $1/100$ Kalilauge, 2—3 mal wöchentlich 0,3—0,6 ccm verabfolgte. Die Versuche von *H. Fischer* und von *Eugen Fränkel* wurden hierbei bestätigt. Bei der Einspritzung von Uroporphyrin wurde das gesamte knöcherne Skeletsystem der jungen Versuchstiere braunrot; die Nagezähne wurden im Bereich der Krone blaßviolett, die Wurzeln braunrot gefärbt; eine Färbung der Molaren konnte nicht beobachtet werden. Durch Einspritzung von Koproporphyrin konnte *Königsdörfer* eine Färbung des

Knochens oder der Zähne der Versuchstiere nicht hervorrufen, auch konnte er chemisch-physikalisch das Koproporphyrin im Organismus nicht wieder nachweisen. Auch Ooporphyrin war in seinen Versuchen wirkungslos. *Die Versuche mit den künstlich hergestellten Porphyrinen führten ebenfalls zu keinem positiven Ergebnis, „da diese Porphyrine weder auf den Knochen noch auf die Zähne aufzogen, noch auch chemisch-physikalisch wieder nachgewiesen werden konnten“.* Eine Ablagerung von Porphyrin im Organismus der Versuchstiere und eine Färbung des Knochens und der Zähne ist also *Königsdörfer* nur mit Uroporphyrin gelungen. Eine Färbung mit den anderen natürlichen Porphyrinen und ebenso mit den *künstlichen Porphyrinen* soll demzufolge überhaupt nicht möglich sein.

Die Ablagerung des Porphyrinpigments erfolgt in den während der Einspritzungszeit neugebildeten Knochenlamellen und zwar ganz diffus in der Knochengrundsubstanz, ein Ergebnis, das auch schon die Versuche *Eugen Fränkels* gezeigt hatten. Allerdings waren die Ergebnisse *Fränkels* in dieser Richtung nicht einheitlich. Denn bei anderen Versuchstieren fand er die ganze Grundsubstanz völlig farblos, dagegen jede einzelne Knochenzelle körnig braun bis purpurrot pigmentiert.

Bei der Versuchsgruppe „Dauerinjektionen“ (*E. Fränkel, Königsdörfer*) macht sich der schwankende Porphyringehalt des tierischen Organismus durch eine feinstreifige Anordnung von mehr oder weniger stark gefärbten Lamellen bemerkbar. Wo bei den Versuchstieren eine Unterbrechung der Einspritzungen stattgefunden hatte, konnte eine Neuanlagerung gefärbter Schichten während der Unterbrechungszeit nicht beobachtet werden. Die während der Unterbrechungszeit angesetzten Schichten blieben völlig farblos; die Farbe der Zähne verblaßte in dieser Zeit. Hingegen nahmen nach Wiederaufnahme der Einspritzungen die jetzt neugebildeten Knochenschichten und ebenso die Zähne wieder eine braunrote Färbung an.

Während *Eugen Fränkel* eine spätere Wiederabgabe des in den Knochen und den Zähnen abgelagerten Porphyrinpigments verneint, findet nach *Borst* und *Königsdörfer* diese Abgabe tatsächlich statt, wenn auch nur ganz allmählich. So konnten von *Königsdörfer* bei einem Tier, das 2 Monate nach Aufhören der Einspritzungen getötet wurde, noch deutlich gefärbte Lamellen nachgewiesen werden, während bei einem anderen Tier, das erst sehr viel später getötet wurde, keinerlei Porphyrin im Knochen mehr vorhanden war. Es muß also das Porphyrinpigment wieder abgebaut worden sein.

Meine eigenen Versuche, die ich zur Frage der Porphyrinablagerung in Knochen und Zähnen auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. *L. Pick* unternahm, sollten nach Möglichkeit Einzelheiten der bemerkenswerten Verwandtschaft des Porphyrins zu den Geweben des Knochens und der Zähne feststellen, desgleichen aber auch prüfen, ob entsprechend

den Ergebnissen *Königsdörfers* tatsächlich eine Osteo- oder Odontoporphyrose mit künstlichen Porphyrinen nicht zu erzeugen wäre. Diese Fragestellung war für uns um so mehr die gegebene, als ja für uns ein natürliches Porphyrin, wie es *Borst*, *Fischer*, *Fränkel* und *Königsdörfer* zur Verfügung gestanden hatte, nicht zu erlangen war. Herr Dr. *Brahn*, Direktor der chemischen Abteilung des Krankenhauses am Friedrichshain, hatte die sehr große Liebenswürdigkeit, mich mit der für meine Versuche genügenden Menge von Hämatoporphyrin zu versorgen. Das Hämatoporphyrin wurde aus Rinderblut nach Vorschrift von *Willstätter* dargestellt. Als Lösungsmittel für den Farbstoff wurde eine dünne wässrige Sodalösung genommen. Die Versuche wurden ausgeführt an Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen und einem Hund. Das Alter der Versuchstiere im Beginn der Versuche schwankte zwischen 4 und 14 Tagen. Außerdem wurden dieselben Versuche auch an alten und trächtigen Tieren vorgenommen. Eingespritzt wurde täglich, mit Ausnahme Sonntags, je nach Größe und Alter des Tieres 0,5—2 ccm einer 0,5—1%igen Lösung. Die Einspritzungsdauer schwankte zwischen wenigen Tagen und mehreren Wochen je nach der Duldsamkeit der Tiere für Hämatoporphyrin. Außer den fortgesetzten Einspritzungen wurden auch Versuchsreihen mit kurzzeitigen und unterbrochenen unternommen. Nicht alle Tiere vertrugen die Einspritzungen von Hämatoporphyrin gleichmäßig gut. Am besten fanden sich die Kaninchen und der Hund mit ihnen ab, gebrauchten dabei infolge ihrer Körpergröße auch die stärkste Menge zur Erzielung eines Erfolges. Am schlechtesten vertrugen junge Ratten die Versuche; sie gingen sämtlich schon nach wenigen Tagen ein und wurden dann zum größten Teil von dem Muttertier aufgefressen. Die Versuche *Eugen Fränkels* wurden sämtlich in der von ihm angegebenen Ausführung wiederholt, nur eben mit dem Unterschied, daß *Fränkel* ein natürliches Porphyrin, gewonnen aus dem Harn des porphyrinkranken Petri, verwenden konnte, während ich ein künstliches Hämatoporphyrin für meine Versuche zur Verfügung hatte. Im großen und ganzen konnte ich die Versuchsergebnisse *Eugen Fränkels* bestätigen, betreffs des Wiederabbaues des Porphyrins aus Knochen und Zähnen bin ich zu abweichender Auffassung gelangt. Ich komme hierauf noch später zurück; stärker sind die Abweichungen meiner Versuchsergebnisse von denen *Königsdörfers* und *Hans Fischers*.

I. Versuche mit fortgesetzten Einspritzungen.

Die Tiere wurden in einem mäßig hellen Stall gehalten und wie gewöhnlich ernährt.

Versuch 1. *Kaninchen, 8 Tage alt.* Zunächst 3 Tage Einspritzung einer 0,5%igen Hämatoporphyrinlösung je 0,5 ccm unter die Bauchhaut, dann 10 Tage Einspritzung einer 1%igen Lösung je 0,5 ccm, dann 27 Tage Einspritzung einer 1%igen Lösung je 1 ccm. Am 24. Tage nach Beginn des Versuchs trat eine leichte Rosafärbung der oberen Schneidezähne auf, die sich allmählich und dann ebenfalls auch an den

unteren Zähnen bis zum 40. Tage zu einer leicht rotbraunen Färbung steigerte. Auch die Molaren zeigten die gleiche Verfärbung. Am 40. Tage wurde der Versuch abgebrochen, das Versuchstier und das Kontrolltier getötet und entblutet. *Sektion:* Häute und Schleimhäute des Versuchstieres auffallend dunkel gegenüber denen des Vergleichstieres, ebenso Leber, Milz und Nieren ausgesprochen dunkel. Außerdem Leber klein, Milz sehr groß und weich, Nieren groß. Knochen und Zähne (mit Ausnahme des Schmelzes) rötlichbräunlich.

Versuch 2. Kaninchen, 8 Tage alt. Versuchsanordnung wie bei 1. Hier tritt schon am 20. Tage eine leichte Rotfärbung der oberen und unteren Nagezähne auf. Der Versuch wurde über den 40. Tag fortgesetzt unter täglicher Einspritzung von 2 ccm einer 0,5—1%igen Lösung (abwechselnd). Am 48. Tage wurden Versuchstier und Vergleichstier getötet und entblutet. Die Ergebnisse der Sektion entsprechen denen bei Versuch 1, nur ist die Färbung, besonders der Knochen und der Zähne, weit stärker. Auch Haut, Schleimhäute, Muskulatur und Organe sind wesentlich dunkler. Milz sehr stark vergrößert, ebenso die Nieren, Leber klein und derb.

Versuch 3. 4 Ratten, 5 Tage alt. Je 0,5 ccm einer 0,5%igen Lösung bei täglicher Einspritzung. Eine Ratte starb bereits am 5. Tage, das ganze Skelet war dunkelbraunrot gefärbt, ebenso waren sämtliche Organe, Haut und Schleimhäute dunkelbraun



Abb. 1. Versuch 4. *Meerschweinchen, 4 Tage alt.* Macerierter Schädel. H.P.-Injekt. 15 Tage vom 23. 1. 29 bis 9. 2. 29.



Abb. 2. Versuch 4. Vergleichstier.

bis dunkelrot. Die drei anderen Ratten wurden weiter wie oben behandelt. Am 7. Tage ging die 2. Ratte ein. Das Tier war bis zu zwei Dritteln von der Mutter aufgefressen; an den restlichen Knochenteilen war eine deutliche dunkelbraunrote Färbung festzustellen. Die beiden letzten Ratten gingen am 10. bzw. 11. Tage der Einspritzung zugrunde und wurden zum Teil ebenfalls aufgefressen. Auch hier waren die Skelete dunkelbraunrot, ebenso die Organe dunkel.

Versuch 4. Meerschweinchen, 4 Tage alt. 15 Tage je 1 ccm einer 0,5—1%igen Lösung. Am neunten Tage deutliche Rosafärbung der Nagezähne im Oberkiefer, am 12. Tage auch im Unterkiefer. Am 16. Tage ging das Tier an Ermattung zugrunde, das Vergleichstier wurde getötet und entblutet. Skelet und Zähne dunkelbraunrot (Abb. 1 u. 2), Organe, Haut, Schleimhäute auffallend dunkel, Milz sehr groß und weich, Nieren groß, Leber klein und derb.

Versuch 5. Weißes Kaninchen, 4 Tage alt. 1 ccm einer 1%igen Lösung bis zum 26. Tag, dann täglich 2 ccm derselben Lösung bis zum 42. Tage. Am 13. Tage Rosafärbung der Nagezähne im Oberkiefer und Unterkiefer, am 39. Tage sind die Zähne burgunderrot (Abb. 3). Das Tier bleibt im Wachstum auffallend zurück hinter sämtlichen Geschwistertieren. Nach 42 Tagen wurde der Versuch abgebrochen, Versuchstier und Vergleichstier werden getötet und entblutet. Das Versuchstier war sehr klein und mager, keinerlei Fettansatz, Gewicht des toten Tieres 420 g, des toten Vergleichstieres 720 g. Das Tier war also etwa um die Hälfte im Wachstum zurückgeblieben. Die Haut und besonders die Schleimhäute des Darms dunkelbraunrot. Leber derb, klein, im Durchschnitt glatt, bräunlichgrau, Gewicht 26,1 g (Leber des Vergleichstieres 48,8 g). Nieren bräunlichgelblich, ohne Besonderheiten, aber

auffallend groß, Gewicht je 4,6 g (Vergleichstier 3,4 g). Milz dunkelrot, weich und glatt, übermäßig groß, Gewicht 1,8 g, Länge 7,6 cm, Breite 1,1 cm (Vergleichstier Gewicht 0,7 g, Länge 3,6 cm, Breite 0,6 cm), Knochen und Zähne burgunderrot.

Versuch 6. *3 weiße Ratten, 11 Tage alt*, je $\frac{1}{4}$ ccm einer 1%igen Lösung, auch diese Ratten gingen bereits nach wenigen Tagen ein und wurden von dem Muttertier fast vollkommen aufgefressen. Die restlichen Skeletteile sind sämtlich dunkelbraunrot gefärbt.

Versuch 7. *Meerschweinchen, 4 Tage alt.* 48 Tage mit Hämatoporphyrineinspritzungen behandelt, zunächst täglich 0,5 ccm einer 1%igen Lösung, zuletzt 2 ccm einer 1%igen Lösung. Vom 15. Tage an beginnen sich zunächst die Nagezähne im Oberkiefer deutlich zu färben, einige Tage später auch die des Unterkiefers. Am 35. Tage sind die Zähne tief burgunderrot. Am 49. Tage wurden Versuchstier



Abb. 3. Versuch 5. *Kaninchen, 4 Tage alt. H.P.-Injekt. vom 26. 1. 29 bis 7. 3. 29.*
(Status am 39. Tag.)

und Vergleichstier getötet. Das Versuchstier war wiederum wesentlich kleiner. Gewicht des getöteten Tieres 226 g gegenüber 292 g des Vergleichstieres. Haut und Schleimhäute sehr dunkel, Leber schwarzbraun, sehr klein, im Durchschnitt glatt. Nieren dunkelbraungelb, groß. Milz dunkelrot, weich und sehr groß (Gewicht 2,3 g, des Vergleichstieres 0,6 g), Knochen und Zähne dunkelbraunrot.

Versuch 8. *Drei Ratten, 3 Wochen alt.* $\frac{1}{4}$ ccm einer 1%igen Lösung bei täglicher Einspritzung. Auch diese wesentlich älteren Ratten vertragen die Hämatoporphyrin-gaben nicht und gehen, täglich sichtbar matter werdend, nach 3 bzw. 5 und 10 Tagen ein. Bei allen 3 Ratten sind Skelet und Zähne braunrot gefärbt. Organe, Haut und Schleimhäute, besonders des Darms, sehr dunkel. Bei einem dieser Tiere war in der gefüllten Harnblase purpurroter Urin vorhanden. Sämtliche Versuchstiere waren wesentlich kleiner als die Vergleichstiere.

Versuch 9. *Meerschweinchen, 170 g schwer*, einmalige Einspritzung von 0,05 g Hämatoporphyrin. Am nächsten Tage Tier getötet und entblutet, das ganze Skelet vollkommen ungefärbt, auch histologisch kein Hämatoporphyrin nachweisbar. Ebenso Haut, Schleimhäute, Muskulatur in keiner Weise von denen des Vergleichstieres unterschieden.

II. Versuch mit kurzzeitigen Einspritzungen.

H. Fischer und *Königsdörfer* berichten über Versuche, bei denen eine einmalige Einspritzung von 0,05 g Uroporphyrin das Skelet eines 170 g schweren Meerschweinchens vollständig rot gefärbt hatte. Dieselben Versuche habe ich auch mit dem künstlich gewonnenen Hämatoporphyrin angestellt.

Versuch 10. *Meerschweinchen, 160 g schwer*, viermalige Einspritzung von 0,05 g Hämatoporphyrin; das Tier ging am 5. Tage ein, gleichzeitig Vergleichstier getötet und entblutet. *Sektion*: Haut, Schleimhäute, Organe sehr dunkel gefärbt, keinerlei Gewichtsunterschiede gegenüber dem Vergleichstier. Knochen graurot, Dentin braunrot. Histologisch im Knochen deutlich gefärbte Lamellen nachweisbar.

Somit konnte auch hier bei kurzzeitigen Einspritzungen eine Färbung des Knochens mit Hämatoporphyrin erzielt werden, wenn auch nicht in so kurzer Zeit, wie es *H. Fischer* und *Königsdörfer* mit Uroporphyrin gelang. Es scheint danach also die Affinität des Uroporphyrins zum Knochen doch vielleicht eine stärkere zu sein als die des künstlichen Hämatoporphyrins. Vielleicht ist diese besonders starke Affinität des Uroporphyrins zum Knochen auf die größere Anzahl der Carboxylgruppen zurückzuführen; im Hämatoporphyrin sind zwei Carboxylgruppen enthalten gegenüber acht Carboxylgruppen des Uroporphyrins.

III. Versuche an ausgewachsenen und trächtigen Tieren.

Nach *Eugen Fränkel* bleibt (wie schon erwähnt) bei den Porphyrineinspritzungen der Knochen alter Tiere vollkommen ungefärbt. *Borst* und *Königsdörfer* bestätigen diese Versuche, haben allerdings auch bei erwachsenen Tieren nachweisen können, mit dem äußerst empfindlichen Verfahren der Untersuchung durch das Fluorescenzmikroskop, daß auch bei diesen Tieren neugebildete Knochenlager Porphyrin annehmen. Um Anbildung jugendlichen Knochens bei ausgewachsenen Tieren hervorzurufen, hatte *Fränkel* bei solchen den Ober- bzw. Unterschenkel gebrochen. Er erwies, daß der neugebildete Knochen dunkelrot gefärbt war, während das übrige Skelet vollkommen ungefärbt blieb. Auch diese Versuche wurden von *Königsdörfer* mit dem gleichen Erfolg wiederholt, und zwar verwandte er, wie *Fränkel*, auch hier ein natürliches Porphyrin. Meine Versuche mit dem künstlichen Hämatoporphyrin hatten auch hier die nämlichen Ergebnisse.

Versuch 11. *Ausgewachsenes Meerschweinchen; künstlicher Bruch im rechten Oberschenkel.* 45 Tage tägliche Einspritzung von 1—2 ccm einer 1%igen Hämatoporphyrinlösung. Am 46. Tage Tier getötet. Skelet vollkommen ungefärbt, dagegen der Callus braun. Organe und der gesamte Magen-Darmschlauch auch hier sehr dunkel.

Versuch 12. *Ausgewachsenes Meerschweinchen, künstlicher Bruch im rechten Unterschenkel.* 55 Tage mit Hämatoporphyrin behandelt wie Versuch 11. Genau derselbe Befund.

Beide Versuchstiere von Versuch 11 und 12 waren im Verhältnis zu den gleichaltrigen Geschwistertieren, die bei Beginn des Versuches fast dasselbe Gewicht aufwiesen, auffallend im Gewicht zurück.

Versuch 13. Auch die Versuchsergebnisse an einem tragenden Tier bestätigten den Befund *Fränkels* und *Königsdörfers*, daß Porphyrin durch das Placentarfilter

anscheinend nicht hindurchdringt. Am 18. Tage nach Beginn der Einspritzungen (täglich 1—2 ccm einer 1%igen Lösung) abortierte das Meerschweinchen; im Föt war weder im Skelet, noch an den Organen, weder makroskopisch, noch mikroskopisch Hämatoporphyrin nachweisbar; auch der chemische Nachweis gelang nicht.

IV. Versuche mit Unterbrechung der Einspritzungen.

Einen brauchbaren Maßstab zum äußeren Vergleich der Wirkung unterbrochener Einspritzungen gibt schon beim lebenden Tier die Färbung der Zähne.

Versuch 14. 2 Meerschweinchen, je 4 Tage alt, wurden 25 Tage lang mit Hämatoporphyrinlösung behandelt, täglich 1 ccm einer 1%igen Lösung. Am 26. Tage werden die Einspritzungen 6 Wochen eingestellt. Bei beiden Tieren (ein albinotisches Tier und ein schwarzes) waren am gleichen Tage der Einstellung der Einspritzungen die Zähne nur ganz blaßrosa gefärbt. In der Zeit des Intervalls nahm die Färbung aber in den ersten drei Wochen so stark zu, daß die Zähne schließlich schwarzbraun gefärbt aussahen. Nach drei weiteren Wochen fingen die Zähne an, abzublassen, so daß nach Ablauf der 6 Wochen die Zähne bei beiden Tieren wieder ihre normale Farbe besitzen.

Wenn auch, wie das Verschwinden der Farbe aus den Zähnen beweist, das Tier allmählich das eingeführte Hämatoporphyrin abzustoßen imstande ist, so muß doch eine Schädigung des Organismus zurückgeblieben sein, denn nach Wiederaufnahme des Versuches bei dem einen (schwarzen) Tier starb dieses, stark abgemagert, bereits nach der zweiten Einspritzung von 1 ccm einer 1%igen Lösung. Der Sektionsbefund war derselbe wie bei den sonstigen Versuchen, auch die Knochen waren noch stark rot gefärbt. Von einer Anlagerung ungefärbter Schichten war nichts zu sehen, der ganze Knochen war gleichmäßig durchgefärbt. Nur haben im Gegensatz zum Knochen, entsprechend dem im Leben verglichenen Verhalten, die Zähne ihre Farbe fast vollkommen verloren.

Während es mir bisher nicht gelungen war, trotzdem die Tiere tage- und wochenlang starker Sonnenbestrahlung ausgesetzt wurden, weder an einem albinotischen noch an einem anderen Tier irgendeine photodynamische Wirkung zu erzielen, begannen bei dem albinotischen Meerschweinchen am 5. Tage nach Aussetzen der Einspritzungen die Haare um Auge und Ohr auf beiden Seiten so stark auszufallen, daß der ganze Hautabschnitt um Auge und Ohr schließlich von Haaren vollkommen entblößt war. Die Augenwimpern gingen verloren, ebenso trockneten auf beiden Seiten die Ohrmuscheln ein, wurden schwarz und fielen ab. Das Tier wurde äußerst lichtscheu und verkroch sich in den dunkelsten Winkel seines Käfigs; außerdem trat eine ganz rapide Abmagerung ein. Der Höhepunkt dieses Zustandes lag 3 Wochen nach Aussetzen der Einspritzungen, dann erfolgte allmählich eine Besserung; das Tier wurde wieder lebendiger, die Haare wuchsen wieder, die Lichtscheu wurde geringer, und zwar setzte die Besserung zu derselben Zeit ein, wie die Farbe in den Zähnen verblaßte. In dieser Zeit scheint also das Tier

der durch das Porphyrin bedingten biologischen Schädigungen Herr geworden zu sein.

Das andere schwarze Tier hatte, trotzdem es unter ganz denselben Bedingungen gehalten war, keinerlei Veränderungen photodynamischer Art gezeigt.

Zwei Monate nach der letzten Einspritzung wurde das albinotische Tier getötet, die Sektion ergab blaßgraurote Verfärbung des Skelets, die Zähne so gut wie gar nicht mehr gefärbt. Haut, Schleimhäute und Organe dunkel, Milz groß und weich, dunkelrot; Leber klein, im Durchschnitt glatt, derb, dunkelbraun; Nieren groß, dunkelbraun, sonst ohne Besonderheiten.

Versuch 15. 4 Meerschweinchen, je 5 Tage alt, 4 Wochen täglich Hämatoporphyrineinspritzungen 1 ccm einer 1%igen Lösung, dann 3 Wochen Intervall, darauf abwechselnd mehrwöchige Einspritzungen mit Einspritzpausen. Sektion: Dieselben Ergebnisse wie bei den bisherigen Versuchen. An den Skeletten zweier Tiere deutlich schichtweise Anordnung der Knochenlamellen (Lupenbetrachtung).

Zum Schluß der Versuche gelang es mir, auch an dem letzten Versuchstier, an dem jungen Hunde, eine photodynamische Wirkung des Hämatoporphyrins zu erzielen.

Versuch 16. Hund, 4 Tage alt, täglich mit Hämatoporphyrin behandelt, anfangend mit 1 ccm einer 1%igen Lösung, steigend bis 3 ccm. Am 30. Tage nach Beginn des Versuches zeigen die Fangzähne eine deutliche blaßrosa Färbung. Gleichzeitig tritt eine Geschwürsbildung über dem linken Auge auf, ebenso beginnt am linken Auge ein starker Haarausfall, der sich nach und nach so steigert, daß bei Abbruch des Versuches am 40. Tage das ganze Gebiet um das linke Auge in Größe von ungefähr eines 5-Markstückes vollkommen von Haaren entblößt ist. Auch dieses Tier wird ebenso wie das unter der photodynamischen Wirkung des Porphyrins stehende Meerschweinchen (Versuch 14) stark lichtscheu. Am 40. Tage nach Beginn des Versuches wird das Tier getötet und entblutet, ebenso das Vergleichstier. Sektion: Gewicht 600 g (Vergleichstier 990 g). Haut, Schleimhäute und Organe Dunkelfärbung, Milz und Nieren auffallend groß, Leber klein und sehr derb. Knöchernes Skelet braunrot gefärbt, klein und zart im Verhältnis zum Skelet des Vergleichstieres, der Größenunterschied ist am auffallendsten am Schädel. Das Dentin und Zement der Zähne deutlich blaßrotlich gefärbt. Zähne klein und zart.

Wie meine Versuchsergebnisse zeigen, ist der von *Königsdörfer* und *H. Fischer* aufgestellte Satz, daß nur ein natürliches Porphyrin und von den natürlichen auch nur das Uroporphyrin auf den Knochen aufzieht, in dieser Form nicht aufrechtzuhalten. Denn ich habe zu den geschilderten Versuchen ein künstliches, aus Rinderblut hergestelltes Hämatoporphyrin verwendet und habe in allen Fällen eine Färbung des Skelets und der Zähne erzielen können. Wodurch der Unterschied der Ergebnisse in dieser Frage zwischen *Königsdörfer* und mir bedingt ist, ist schwer zu sagen. Tatsache ist, daß in jedem meiner Versuchsfälle eine Färbung an Knochen und Zähnen z. T. stärkster Art eingetreten ist. Daß diese Färbung durch Porphyrinpigment bedingt war, konnte Herr Dr. *B. Brahn* durch Rückgewinnung des Farbstoffes aus den Knochen exakt erweisen.

Allerdings scheint mir, wie schon gesagt, der Eintritt der Wirkung beim Versuch mit Hämatoporphyrin wesentlich langsamer vor sich zu

gehen, ebenso scheint die Anwendung einer größeren Menge des künstlichen Hämatoporphyrins nötig zu sein, um einen Erfolg zu erzielen. Während *Eugen Fränkel* bereits vom 4. Tage an eine stärkere Färbung der Zähne beobachten konnte und den Durchschnittstag des Auftretens der Verfärbung auf den 13. Versuchstag ansetzt, liegt bei meinen Versuchen der Durchschnittstag einer starken Färbung zwischen dem 25. und 30. Tag nach Versuchsbeginn. Auch bei den kurzzeitigen Einspritzungen gelang es mir ja nicht, durch Hämatoporphyrin zu erzielen, was *Königsdörfer* durch eine einmalige Einspritzung von 0,05 g Uroporphyrin erreichte. Ich sah erst nach 4 Tagen, bei täglicher Einspritzung von 0,05 g Hämatoporphyrin, eine nicht einmal sehr starke Färbung des Skelets.

Ferner scheint das Hämatoporphyrin wesentlich schlechter vertragen zu werden, wie das Eingehen sämtlicher Versuchsratten und mehrerer Meerschweinchen beweist. *Eugen Fränkel* konnte nur geringe Schwankungen im Gewicht der Versuchstiere feststellen und sah nur in einem Fall eine stärkere Abmagerung. Er konnte daher nach seinen Versuchen von einer guten Toleranz der Tiere für das Porphyrin sprechen, demgegenüber war bei allen meinen Versuchstieren eine sehr starke Gewichtsabnahme festzustellen; so ging in manchen Fällen das Gewicht des Versuchstieres fast bis zur Hälfte des Gewichtes des Vergleichstieres herunter.

Mir fehlt ein Teil der Hilfsmittel (Fluoreszenzmikroskop), um das gesamte Material in ähnlicher Weise zu bearbeiten, wie es *Borst* und *Königsdörfer* in so klassischer Weise in neuester Zeit getan haben. Bei meinen Versuchen mußte ich mich auf die gewöhnlichen makroskopischen, mikroskopischen und chemischen Untersuchungsmethoden beschränken. Die mikroskopischen Untersuchungen am Knochen hatten in bezug auf die Ablagerung des Porphyrinpigments durchweg dieselben Ergebnisse, wie sie auch *Eugen Fränkel*, *Borst*, *Fischer* und *Königsdörfer* beschreiben. Das Porphyrin ist ganz diffus in der Knochengrundsubstanz abgelagert (Abb. 4 und 5). Der Knorpel bleibt vollkommen ungefärbt. Bei jedem Tier war nachzuweisen, worauf, soweit ich sehe, bisher noch nicht hingewiesen ist, die starke Dunkelfärbung der Haut und der Schleimhäute, vor allem des gesamten Darmschlauchs, ferner die Dunkelfärbung fast aller Organe einschließlich des Herzens. Nur die Lungen erschienen in der Farbe unverändert. Ferner war bei allen Tieren eine teilweise außerordentliche Vergrößerung von Milz und Nieren, eine Verkleinerung der Leber festzustellen. Die in allen Fällen angestellte *Turnbulsche Eisenreaktion* fiel sowohl im Knochen wie in den Organen vollkommen negativ aus.

Die Anschauung *Eugen Fränkels*, daß der in dem Knochen und in den Zähnen angelagerte Farbstoff nicht wieder abgebaut, sondern nur durch Auflagerung von neuen Knochenschichten bzw. in den Zähnen

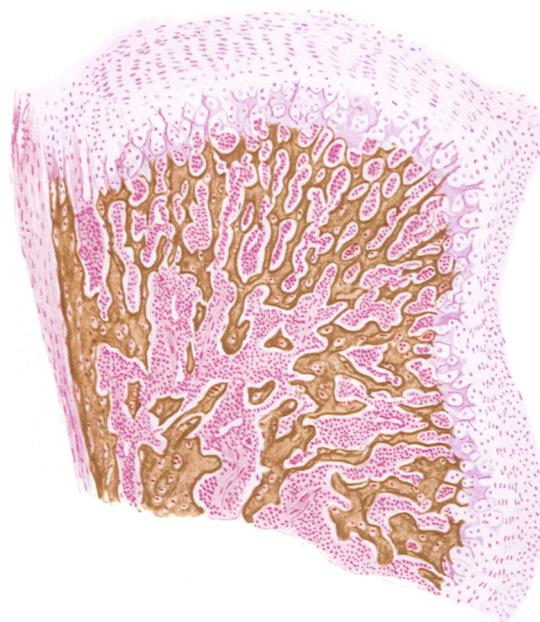


Abb. 4. *Ratte*, 14 Tage alt, 9 H.P.-Injekt. $1/2$ ccm, vom 21. 1. 29 bis 1. 2. 29. Distales Ende der Tibia, unentkalkt in Gelatine eingebettet. Alauncarmin. Knochengrundsubstanz diffus braun gefärbt, Knorpel ungefärbt. E. Leitz-Wetzlar Ok.: 3, Obj.: 3. Tubuslänge: 170.

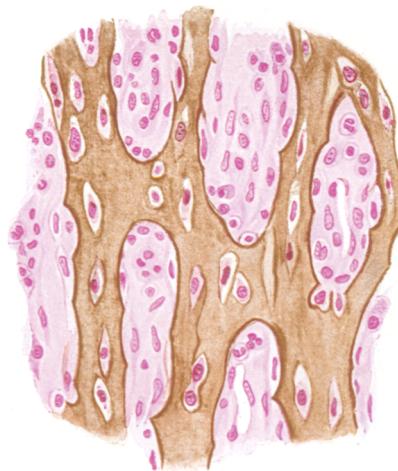


Abb. 5. *Ratte*, 14 Tage alt, 9 H.P.-Injekt. $1/2$ ccm, vom 21. 1. 29 bis 1. 2. 29. Distales Ende der Tibia, unentkalkt in Gelatine eingebettet. Alauncarmin. Gleichmäßige Braunkärbung der Knochengrundsubstanz. (Stärkere Vergrößerung.) E. Leitz-Wetzlar Ok.: 3, Obj.: 7, Tubuslänge: 160.

von neuem Dentin nur überlagert wird und dadurch nur scheinbar verschwindet, dürfte, wenn überhaupt, nur zu einem Teil und nur für den Knochen im engeren Sinne zutreffen. Im Knochen wäre an sich eine Überlagerung denkbar, da ja die Knochenapposition von außen her erfolgt. Tatsächlich konnte ich bei meinen Versuchen an den Tieren mit Einspritzungsunterbrechung, ebenso wie *Eugen Fränkel*, teilweise eine schichtweis erfolgende, streifige Anordnung der Knochenlamellen unter Lupenvergrößerung beobachten, die auf eine Überlagerung der gefärbten Lamellen durch nichtgefärbte Knochenlamellen, die in den einspritzungsfreien Zwischenzeiten gebildet waren, schließen lassen. Andererseits war bei einem anderen Tier dieser Versuchsreihe auch bei längerer Unterbrechung von der streifigen Anordnung nichts zu sehen, der Knochen vielmehr vollkommen gleichmäßig gefärbt. Ich möchte daher dahingestellt sein lassen, ob der obige Befund wirklich im Sinne *Eugen Fränkels* zu deuten ist, oder ob nicht nur der Abbau des Porphyrinpigments noch nicht ganz vollständig vollzogen gewesen ist. Gegen die Ansicht *Fränkels* spricht auch die Beobachtung an einem Tier, das $3\frac{1}{2}$ Monate nach Aufhören der Versuche getötet wurde und bei dem weder makroskopisch, noch mikroskopisch im Knochen und in den Zähnen auch nur eine Spur von Hämatoporphyrinpigment zu finden war.

Für das Dentin kann die *Fränkelsche* Anschauung aber auf keinen Fall Anwendung finden, da ja das Dentin nicht von außen her, sondern von innen her von den Odontoblasten der Pulpa gebildet wird, eine „Überlagerung“ im Sinne einer Verdeckung der von außen sichtbaren Färbung somit ganz ausgeschlossen ist. Da aber das Dentin und das Zement den angenommenen Farbstoff ohne Zweifel wieder vollkommen verlieren kann, muß man diesen Vorgang notgedrungen durch Wiederabbau des Farbstoffs erklären; und darum dürfte der Vorgang im Knochen sich entsprechend dem Vorgang im Dentin vollziehen, das Schwinden der Färbung also nicht durch Überlagerung, sondern durch Abbau des Porphyrinpigments zu erklären sein.

Zusammenfassung.

1. Daß eine Färbung des Knochens und der Zähne nicht mit künstlichem Porphyrin experimentell zu erzielen sei (*Königsdörfer*), konnten meine Versuche nicht bestätigen. Auch durch Einfuhr des aus Rinderblut hergestellten Hämatoporphyrins läßt sich bei den Versuchstieren (Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden) eine starke Färbung von Knochen und Zähnen erzielen.

2. Die Wirkung dieses künstlichen Hämatoporphyrins tritt anscheinend zeitlich wesentlich langsamer ein. Die Erzeugung von Skeletporphyrose gelingt durch Uroporphyrin nach einmaliger Einspritzung von 0,05 g (*Hans Fischer, Königsdörfer*), durch Hämatoporphyrin erst nach mehrmaliger Einspritzung von je 0,05 g.

3. Die Duldsamkeit der Versuchstiere gegen die Einführung von Hämatoporphyrin scheint eine geringere zu sein als bei den Uroporphyrineinspritzungen.

4. Das in Knochen und Zähnen abgelagerte Porphyrin kann durch Wiederabbau aus den Geweben schwinden (meine Versuche). Die von *Eugen Fränkel* als Ursache des Verschwindens der Knochenhämatoporphyrose vorausgesetzte bloße „Überdeckung“ durch neue pigmentfreie Schichten kann zum mindesten für das Dentin nicht angenommen werden, da die Neuanlagerung des Dentins nicht zur Zahnoberfläche, sondern zur Pulpa hin erfolgt.

Literaturverzeichnis.

Borst, M.: Untersuchungen über kongenitale Porphyrie. Verh. dtsch. path. Ges. 1928, 353. — *Borst, M.* und *H. Königsdörfer*: Untersuchungen über Porphyrine. Leipzig: S. Hirzel 1928. — *Fischer, H.*: Über den Dualismus des Blutfarbstoffes und über Porphyrine. Strahlenther. 18 (1924). — *Fischer, H., Hilmer, Lindner* und *Pützer*: Zur Kenntnis der natürlichen Porphyrie. Z. physik. Chem. 150 (1925). — *Fränkel, Eugen*: Experimentelles über Hämatoporphyrin. Virchows Arch. 248 (1924). *Garrod*: Quart. J. med., Juli 1922, Nr 15, 6. — *Günther, Hans*: Die Hämatoporphyrie. Dtsch. Arch. klin. Med. 1911, H. 1/2, 89. — Erg. Path. 1922, 1. — *Hegeler, C., E. Fränkel* und *Schumann*: Zur Lehre von der Hämatoporphyria congenita. Dtsch. med. Wschr. 1913, Nr 18. — *Hymans v. d. Bergh* und *A. J. Hyman*: Studien über Porphyrin. Dtsch. med. Wschr. 54, Nr 36 (1928). — *Königsdörfer, H.*: Zur Kenntnis der Porphyrie. Strahlenther. 28 (1928). — *Pick, L.* und *Schnney*: Berl. klin. Wschr. 1922, Nr 26. — *Renner, A.*: Stoffwechselstörungen und Niere. Handbuch der Urologie. Herausg. *A. v. Lichtenberg, F. Voelker, H. Wildbolz*, Bern. Bd. 4. Berlin: Jul. Springer. — *Weiß*: Dtsch. Arch. klin. Med. 149. — *Willstätter* und *Stoll*: Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin: Jul. Springer 1913. Hier auch die gesamte ältere Literatur.

Eine vollständige Angabe der Literatur über Porphyrine befindet sich bei *Borst* und *Königsdörffer* (siehe oben).
