

(Aus dem Pathologischen Institut [Direktor: Prof. Dr. W. Gerlach] und dem Physiologisch-chemischen Institut [Direktor: Prof. Dr. W. Lintzel] der Friedrich-Schiller-Universität Jena.)

Beitrag zur Frage des Vitamin A-Stoffwechsels * **.

Von

E. Schairer, J. Rechenberger, H. Goekel und K. Patzelt.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 8. September 1939.)

Die Veröffentlichungen von *Hirt*² und vor allem von *Querner*⁵ haben auf einen stark leuchtenden Stoff aufmerksam gemacht, der bei Benutzung des Lumineszenzmikroskopes am ungefärbten Schnitt in verschiedenen tierischen und menschlichen Organen, vor allem in der Leber, aber auch in Nebennieren, Netzhaut und an anderen Stellen, nachzuweisen ist. *Querner* konnte den Beweis erbringen, daß dieser Stoff, den er zunächst Leuchtstoff X genannt hatte, mit größter Wahrscheinlichkeit mit dem Vitamin A gleichzusetzen ist.

Da uns von der Carl-Zeiss-Stiftung ein Lumineszenzmikroskop zur Verfügung gestellt wurde, waren wir in der Lage, an unserem Sektionsgut lumineszenzmikroskopische Untersuchungen durchzuführen, um die Angaben von *Querner* und *Hirt* nachzuprüfen und zu vervollständigen und gewisse strittige Punkte zu klären. Während *Hirt*, der hauptsächlich am lebenden Tier arbeitete, behauptete, daß der Leuchtstoff X besonders in den Sternzellen der Leber erscheine, konnte ihn *Querner* vor allem im Protoplasma der Leberepithelzellen nachweisen.

Wir stellten bei der Untersuchung von weit über 100 menschlichen und tierischen Lebern fest, daß der Leuchtstoff in der Mehrzahl der Lebern sich findet und sowohl in den Leberepithelzellen wie in den Sternzellen nachzuweisen sein kann. Zum Teil hängt der Ort, an dem der Leuchtstoff gefunden wird, zweifellos von der Art der Behandlung, vor allem der Fixierung ab. *Querner* untersuchte formalinfixierte Präparate, und wir sahen, daß infolge der Fixierung, und zwar je länger ein Gewebsstück in Formalin lag, desto mehr der Leuchtstoff in den Sternzellen verschwand und dafür in den Fetttropfen der Leberzellen auftauchte, so daß sich das Bild des Präparates völlig ändern konnte. Man gewann den Eindruck, daß der Leuchtstoff aus den Sternzellen in die Leberzellen hinüberwechselte. Auch an fertigen, mit Glycerin-Gelatine eingedeckten Präparaten ging diese Wanderung vor sich. Der Leuchtstoff hielt sich, besonders wenn er in größeren Mengen vorhanden war, in den formalin-

* Vortrag, der anlässlich der Tagung der Deutschen Pathologischen Gesellschaft in Greifswald von Doz. Dr. E. Schairer gehalten werden sollte.

** Die Untersuchungen wurden mit freundlicher Unterstützung durch die Gräfin Bose-Stiftung durchgeführt.

fixierten Gewebsblöcken oft wochenlang, jedoch nahm seine Menge dauernd ab. Feinste Ablagerungen verschwanden im Formalin nach kürzester Zeit.

So haben wir unsere Untersuchungen sämtlich an unfixiertem, gefrier-geschnittenem Material durchgeführt und die Schnitte mit Glycerin eingedeckt. Wenn man die Präparate vor Lichteinwirkung schützte, konnte man noch nach Stunden oder sogar Tagen das ursprüngliche Bild wiedergewinnen. Allmählich setzte jedoch auch hier die oben beschriebene Wanderung ein. Deshalb tut man am besten, an ganz frischen Schnitten sofort zu untersuchen.

Die Luminescenz des Leuchtstoffes ist sehr stark und glänzend, von gelbgrüner Farbe. Jedoch erlischt sie schon nach kurzer, meist nur wenige Sekunden dauernder Bestrahlung mit ultravioletem Licht. Infolgedessen ist die Herstellung von photographischen Aufnahmen ziemlich erschwert. Nach einiger Mühe gelang es uns trotzdem, einige Diapositive und Farbaufnahmen von einigen besonders stark leuchtenden Lebern anzufertigen. Jedoch kommt die Leuchtkraft des ursprünglichen Bildes, das mit einem funkelnden Sternenhimmel im Winter zu vergleichen ist, nicht genügend zur Darstellung (Abb. 1 und 2).

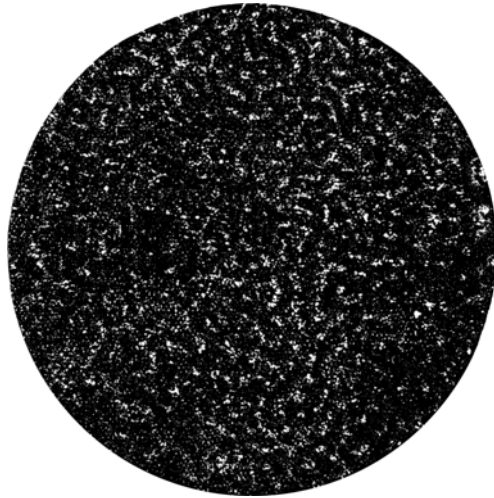


Abb. 1. Leuchtstoff (helle Körnchen) in den Sternzellen einer menschlichen Leber. Schwache Vergrößerung.

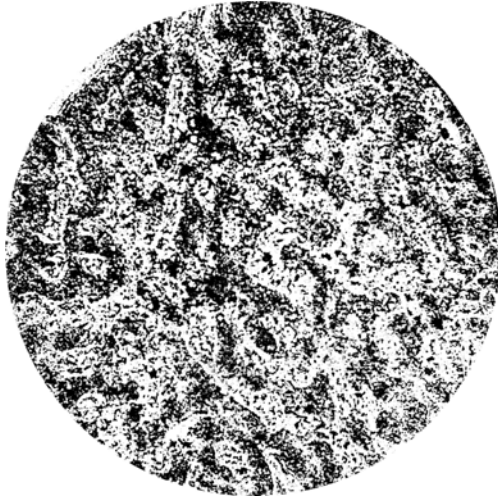


Abb. 2. Leuchtstoff in menschlicher Leber. Stärkere Vergrößerung. Man beachte vor allem die Anhäufungen von größeren, weißen Körnchen in den Sternzellen. Die feinen Körnchen in den Leberzellen entsprechen dem braungelb lumineszierenden Lipofuscin.

Wir konnten den Leuchtstoff sehr häufig in der menschlichen Leber sowie in der Nebennierenrinde nachweisen. Seltener fand er sich in anderen Organen, z. B. in der Brustdrüse von Schwangeren (einmal unter 4 untersuchten Fällen), ganz selten in der Hypophyse, von der *Querner* angibt, daß sie häufig Leuchtstoff enthalte. Netzhäute haben wir beim Menschen noch nicht auf ihren Leuchtstoffgehalt untersucht.

Da *Querner* mit großer Wahrscheinlichkeit bewiesen hat, daß der Leuchtstoff dem Vitamin A gleichzusetzen ist, war eine naheliegende Frage, ob der Leuchtstoffgehalt der Leber ihrem Vitamingehalt, der auf chemischem Wege bestimmt wurde, parallel geht. *Rechenberger* vom Physiologisch-chemischen Institut Jena führte Vitamin- und Carotinbestimmungen an Lebern aus, die wir mit dem Lumineszenzmikroskop untersucht hatten. Die Ergebnisse der gemeinsamen Untersuchungen finden sich in Tabelle 1. Wir haben zum Zwecke der besseren Übersichtlichkeit den histologischen Befund in Ziffern ausgedrückt: 0—IV bedeutet verschiedene Intensität des Leuchtstoffes in den Sternzellen, a—c deutet Leuchtstoff im Protoplasma der Leberzellen an. Dabei

Tabelle 1.

Nr.	Sekt.-Nr.	Geschl.	Alter	Hauptkrankheit, Leberbefund	Leuchtstoff histologisch	Vitamin A chemisch	Carotin mg-%
1	514	♂	23 J.	Miliartuberkulose	II	0—I	0,5
2	516	♀	38 J.	Akuter Herztod am Ende der Schwangerschaft	II	III	0,3
3	522	♀	3 Tage	Aspirationspneumonie	0—I	I	0,2
4	524	♂	25 J.	Oberlippenfurunkel, Sepsis	I—II	II	0,5
5	535	♂	58 J.	Diabetes, Urämie bei arteriosklerotischer Schrumpfnieren	Ia	IV	0,7
6	536	♂	?	Eisenbahnunfall, Verblutungstod	II—IIIa	III	0,9
7	537	♂	?	Eisenbahnunfall, Schädelquetschung	IIIb	II—III	0,7
8	584	♂	61 J.	Lungengangrän, Lebercirrhose	I—III (sehr ungleich)	Spuren	0,4
9	586	♀	70 J.	Basedow (Herztod nach Operation)	I—IIa	IV	0,7
10	616	♂	52 J.	Urämie bei arteriosklerotischer Schrumpfnieren	0	0	—
11	629	♂	60 J.	Bronchopneumonie, Lebercirrhose	0—I	Spuren	—
12	658	♂	?	Verblutung bei Lebercirrhose	Ia	Spuren	—
13	662	♂	67 J.	Lebercirrhose, geringgradig, Arteriosklerose	IIa	0—I	—
14	Ratte			Avitaminose A	0	0	—
15	Ratte			Avitaminose A	0	0	—
16	8 Mäuse			Normale Tiere	0	II	—

bedeutet a kleine, b mittlere, c große Tropfen mit Leuchtstoff. Die Intensität der *Carr-Price*-Reaktion wurde entsprechend ebenfalls in 5 Stufen (0—IV) angegeben; in vielen Fällen wurde außerdem noch der Carotingehalt bestimmt (in mg-% angegeben).

Aus der Tabelle 1 ergibt sich, daß der chemisch bestimmte Vitamin-gehalt der Leber und die Menge des Leuchtstoffes durchaus nicht immer parallel gehen. Im allgemeinen besteht eine gewisse Übereinstimmung. Vor allem kann man sagen, daß, wenn nach der chemischen Bestimmungsmethode nur wenig Vitamin A vorhanden ist, auch der Leuchtstoff nur in geringeren Mengen aufzufinden sein wird. Dagegen kann trotz Fehlens des Leuchtstoffes eine ziemlich große Menge Vitamin A chemisch nachzuweisen sein, was besonders Nr. 16 der Tabelle beweist. Hier wurden 8 Mäuse untersucht, in deren Lebern kein Leuchtstoff aufzufinden war, bei denen aber chemisch eine Blaureaktion von mittlerer Intensität sich einstellte.

Nach diesen Ergebnissen muß man schließen, daß das Vitamin A nur zum Teil und unter besonderen Bedingungen in Form des Leuchtstoffes sichtbar wird, vorausgesetzt, daß der Leuchtstoff überhaupt dem Vitamin A entspricht. Wir waren darauf aus, diese Bedingungen näher zu ergründen, und wir haben zunächst einmal geprüft, welche Beziehungen zum mikroskopisch nachweisbaren Fettgehalt der Leber- und Sternzellen bestehen.

Es ging schon aus den chemischen Untersuchungen von *Breusch* und *Scalabrino*¹ u. a. hervor, daß eine Parallelität zwischen dem Gehalt der Leber an Fett und an Vitamin A und Carotin nicht besteht. Aus unserer Tabelle 2, die eine Auswahl aus einer größeren Anzahl untersuchter Fälle bringt, muß man denselben Schluß ziehen. Längst nicht in allen Fetttropfen der Leberzellen ist Leuchtstoff nachzuweisen, auch nicht, wenn sich reichlich Leuchtstoff in den Sternzellen findet. Häufig tritt, wie schon oben erwähnt, der Leuchtstoff erst postmortal in diesen Fetttropfen auf; vielleicht wandert er von den Sternzellen hinüber. Aber auch am frisch getöteten und untersuchten Tier, besonders bei Hypervitaminose A, ist Leuchtstoff in Fetttropfen der Leberzellen und manchmal auch diffus in den Leberzellen verteilt, nachzuweisen.

In den Sternzellen geht Verfettung und Leuchtstoffgehalt häufig parallel; es kommen jedoch auch Fälle vor, in denen reichlich Leuchtstoff in den Sternzellen vorhanden ist, ohne daß mit Scharlachrot färbbare Fetttropfen zu sehen wären. Auch umgekehrt kann man starke Sternzellenverfettung finden, ohne daß Leuchtstoff in den Sternzellen nachzuweisen wäre.

Wir sehen also, daß eine engere Beziehung zwischen Fettgehalt der Leber und Leuchtstoff nicht zu bestehen scheint; trotzdem darf man sagen, daß der Leuchtstoff zumindest meist zusammen mit Fett vorkommt. *Querner* hat schon nachgewiesen, daß der Leuchtstoff durch Alkohol,

Tabelle 2.

Nr.	Sekt.-Nr.	Geschl.	Alter	Hauptkrankheit, Leberbefund	Lumineszenz		Fettfärbung	
					Leberzellen	Sternzellen	Leberzellen	Sternzellen
1	342	♀	55 J.	Herzwandaneurysma, Stauungsleber	0	0	Feintr. Verfettung	II—III
2	343	♂	65 J.	Nasenkrebek, Sepsis	a	0	Fein-mitteltr., ausgedehnt	II—III
3	344	♀	73 J.	Lungenpneumonie, Stauungsleber	0	0	Stellenweise mittelgroßtr.	II
4	345	♂	1 Mon.	infektiöse Leberschwellung	0	0	Einzelne, mittelgroße Fetttr.	0
5	361	♂	47 J.	Lungentuberkulose, braune Atrophie	a	II	Periphere, mittelgroßtr. Verfettung	0
6	363	♂	56 J.	Arteriosklerose, Schrumpfleber, Urämie	a	0	Fein-mitteltr. Verfettung	0—I
7	366	♀	28 J.	Miliartuberkulose	a	I	zentrale mitteltr. Verfettung	0
8	370	♀	79 J.	Bronchopneumonie	0	0	Feintr. Verfettung	0
9	373	♀	38 J.	Maligne Sklerose, Urämie	a	III	Geringe, feintr. Verfettung	II
10	377	♂	52 J.	Pankreaskopfkrebs, Lebermetastasen	0	II	Ausgedehnte feintr. Verfettung	I
11	386	♂	Frühgeb. 3 Std.	Falkblutung	a	I	Ganz gering	0—I
12	387	♂	?	Magenkrebs, Lebermetastasen	a	II	Mittelgroßtr. Verfettung	0
13	388	♀	45 J.	Magenkrebs, Stauungs-Fettleber	c	II	Periphere starke Verfettung	III—IV
14	393	♂	60 J.	Herzinsuffizienz bei Hypertonie	b	III	Fein-mitteltr. Verfettung	III
15	403	♂	5 J.	Diphtherie, Bronchopneumonie, Ödem der Leber	a	III	Diffuse, feintr. Verfettung	IV
16	404	♂	8 Mon.	Aplastische Anämie	b	II	Mittelgroßtr. zentrale Verfettung	0—I

Äther und andere fettlösende Mittel aus den Organen herausgelöst wird, also unter die Lipotide zu rechnen ist.

Damit komme ich nochmals auf die Natur des Leuchtstoffes zu sprechen. Aus folgenden Punkten, die wir größtenteils nachprüften und erweiterten, schloß *Querner*, daß der Leuchtstoff mit dem Vitamin A identisch sei:

1. Aus den oben genannten Lipotideigenschaften.
2. Der Leuchtstoff zeigt dasselbe Leuchtvermögen im UV-Licht wie Vitaminkonzentrate, etwa *Vogan*, während z. B. Carotin in Kristallen oder in öliger Lösung eine solche Lumineszenz nicht oder nur in ganz geringem Maße zeigt. Durch UV-Licht wird dieses Leuchtvermögen des Leuchtstoffes ebenso schnell zerstört wie das des *Vogans*.

Wir haben versucht, ebenso wie schon *Querner*, eine Analyse des Lumineszenzlichtes mittelst des Spektralokulars durchzuführen. Leider ist das Lumineszenzspektrum des Vitamins A, wie es z. B. das Vogan zeigt, sehr uncharakteristisch. Es findet sich ein kontinuierliches Spektrum zwischen 5—6000 Å.E. Da in den Präparaten der Leuchtstoff sehr schnell zerstört wird, waren uns, ebenso wie *Querner*, bisher verlässliche Messungen nicht möglich (s. Abb. 3).

Das gleiche gilt für die Herstellung eines Absorptionsspektrums, das ja für Vitamin und seine Homologen recht charakteristisch sein soll.

3. Bei Ratten mit Avitaminose A ist keine Spur von Leuchtstoff in den Organen, vor allem nicht in der Leber in der Nebennierenrinde und in der Netzhaut nachzuweisen. Bemerkenswert scheint, daß der Leuchtstoff zuerst in der Leber, dann in der Nebennierenrinde und zuletzt in der Netzhaut verschwindet.

Füttert man solchen vitaminfreien Tieren Vitamin A, so tritt der Leuchtstoff sehr schnell wieder in den genannten Organen auf. Besonders früh und reichlich sieht man dabei den Leuchtstoff wieder

in Nebennierenrinde und besonders Netzhaut; vor allem ist zu bemerken, daß nach Carotinfütterung in der Netzhaut reichlich Leuchtstoff zu finden war, ehe in der Leber überhaupt Spuren auftraten. Man gewinnt den Eindruck, daß das Vitamin A aus dem Blute sehr rasch und begierig von der Netzhaut aufgenommen wird.

Diese Beobachtung stimmt sehr gut mit den Angaben des Schrifttums, besonders von *Wald* und Mitarbeitern⁶, überein, nach denen bei Hemeralopie durch orale Verabreichung von Vitamin A schon nach 80 Min. normale Adaptation wiederhergestellt werden kann. Nach Einnahme von Carotin und besonders nach intramuskulärer Gabe desselben waren die Zeiten sogar noch wesentlich kürzer.

4. Als 4. Beweispunkt ist die Untersuchung hypervitaminotischer Tiere heranzuziehen. Im Gegensatz zu *Querner*, der bei hypervitaminotischen Meerschweinchen keine Vermehrung der Lumineszenz nachweisen konnte, fanden wir bei hypervitaminotischen Ratten eine mächtige Steigerung des Leuchtstoffgehaltes in Leber und Nebennieren, sowie

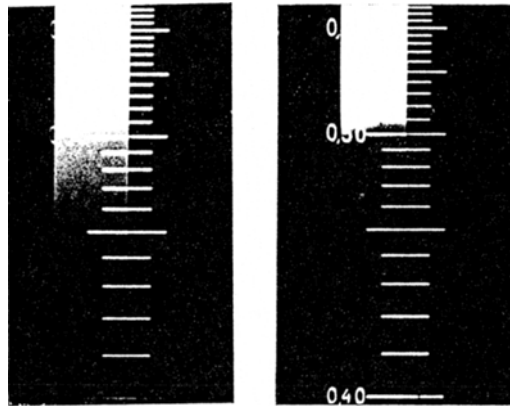


Abb. 3. Lumineszenzspektrum des Vogans (rechts) und des Laktoflavin (links).

Leuchtstoffablagerungen in vielen anderen Organen wie Lunge, Lymphknoten, Milz, vor allem im Fettgewebe, einmal auch im Gelbkörper des Eierstockes.

Bei Mäusen, die gegenüber großen Dosen des Vitamins stärker empfindlich sind, waren die Befunde verschieden; in manchen Fällen fand sich ein auffallend geringer Leuchtstoffgehalt der Lebern und besonders der Nebennieren, in anderen sahen wir eine diffuse Verteilung des Leuchtstoffes wie bei den Ratten. Erwähnen möchte ich noch, daß bei schwangeren Mäusen auch Leuchtstoff in der Placenta und in den Feten, besonders in Leber und Lunge, nachzuweisen war.

5. Schon *Querner* und *Hirt* haben darauf hingewiesen, daß als leuchtende Stoffe unter Umständen auch Flavine, besonders das Laktoflavin, in Frage kämen, jedoch wegen seiner vom Leuchtstoff verschiedenen Eigenschaften (Löslichkeitsverhältnisse) nicht mit dem Leuchtstoff identisch sein können. Wir haben zahlreiche Mäuse und Ratten, auch Ratten mit Avitaminose A, mit Laktoflavin gespritzt und konnten nie Auftreten von Leuchtstoff in den Organen nachweisen.

Zusammenfassend ist aus diesen Untersuchungen der Schluß zu ziehen, daß unser Leuchtstoff mit großer Wahrscheinlichkeit einer Form des Vitamins A entspricht. Sicher ist jedoch, daß das Vitamin auch in anderer, nicht lumineszierender Form im Körper vorkommt. Über die Beziehungen dieser beiden Zustandsformen untereinander können wir zunächst nur Vermutungen äußern.

Wir haben daran gedacht, daß der in den Sternzellen sichtbare Leuchtstoff parallel dem Blutserumspiegel des Vitamins A gehe, also mit der Abgabe des Vitamins aus der Leber ins Blut und umgekehrt zu tun habe. Diese Beziehungen sind jedoch zumindest verwickelt. Wir fanden z. B. bei schwerem Basedow mit Leberschädigung, bei dem nach dem Schrifttum neben normalem Vitamin A-Gehalt der Leber ein erniedrigter Vitamin A-Spiegel im Serum bestehen soll, reichlich Leuchtstoff in den Sternzellen. Bei Schrumpfnieren mit Urämie ist die Leber oft chemisch frei von Vitamin A, die Sternzellen enthalten keinen Leuchtstoff. Trotzdem fand *Lindqvist*⁴ häufig hohe Serumwerte. Ich möchte dazu erwähnen, daß die Nebennierenrinde in diesen Fällen oft mit Leuchtstoff vollgestopft sein kann. Wir sehen also auch hier Verteilungsunterschiede, deren Gesetzmäßigkeiten wir noch nicht aufdecken konnten. Wir hoffen aber, diese Fragen durch weitere Untersuchungen klären zu können.

Schrifttum.

- ¹ *Breusch* u. *Scalabrino*: Z. exper. Med. **94**, 569 (1934). — ² *Hirt*: Verh. dtsch. anat. Ges. **1938**, 97. — ³ *Hirt* u. *Wimmer*: Klin. Wschr. **1939** I, 733. — ⁴ *Lindqvist*: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. **97** (1938). — ⁵ *Querner*: Klin. Wschr. **1935**, 1213. — ⁶ *Wald*, *Jeghers* und *Arminio*: Amer. J. Physiol. **123**, 732 (1938).