

Aus der Medizinischen Klinik (Prof. Dr. H. H. BENNHOLD) und dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen (Prof. Dr. E. LETTERER).

Polarisationsoptische Untersuchungen an der Amyloidsubstanz*.

Von

HANS-PETER MISSMAHL und MARGA HARTWIG.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1953.)

Die Entdeckung der Doppelbrechung in der Amyloidsubstanz hat eine längere und sich mehrfach wiederholende Geschichte. DIVRY (1) war 1927 der erste, der sie bei Untersuchungen über die Plaques séniles beschrieben hat.

Er bemerkte dabei schon die Verstärkung der Anisotropie bei der Jodprobe. Noch im gleichen Jahre (2) beobachtete er die Doppelbrechung an experimentellem Mäuseamyloid und ihre Verstärkung nach der Anfärbung mit Kongorot. In weiteren Arbeiten kam DIVRY (3—7) zu dem Schluß, daß die Doppelbrechung auf eine kristalloide Struktur der Amyloidsubstanz hinweise, insbesondere nimmt er diese von den drusenartigen Amyloidablagerungen im Gehirn an. Nach DIVRY hat auch KRÜCKE die Doppelbrechung der kongogefärbten, im Gehirn liegenden Amyloidsubstanz beobachtet (1950).

ROMHANY (1, 2) beschreibt 1943 und 1949 Doppelbrechung am kongorot gefärbten Amyloid. An Hand von Imbibitionskurven schließt er, daß es sich um eine reine, in bezug auf die Längsrichtung der Strukturen positive, Formdoppelbrechung handelt, welche durch einen parakristallinisch ausgefallten Eiweißkörper bedingt wird.

LADEWIG fand 1945 Doppelbrechung am kongogefärbten Amyloid, ohne die oben angeführten Arbeiten zu kennen. Auch er glaubt, daß diese bezüglich der submikroskopischen Struktur des Amyloid von Bedeutung sei.

HASS und SCHULZ bemerkten ein Verschwinden der Doppelbrechung in der Amyloidsubstanz nach Behandlung ihres Materials mit Pufferlösungen von pH 9,5 bis 10,0.

Bei meinen (MISSMAHL) durch LETTERER angeregten Studien über die Eigenschaften der amyloiden Substanz beobachtete ich diese Doppelbrechung ebenfalls. Zuvor hatte schon LETTERER (2) entsprechend den Arbeiten von ROMHANY und LADEWIG angenommen, daß die Doppelbrechung auf eine bestimmte micellare Struktur der amyloiden Substanz schließen lasse.

Inzwischen habe ich nun weitere Untersuchungen über die Doppelbrechung der Amyloidsubstanz systematisch durchgeführt. Sie bezweckten Aufklärung über die Gründe dieses anisotropen Verhaltens

* Die hier mitgeteilten Untersuchungen wurden von H.-P. MISSMAHL im Arbeitskreise von Prof. LETTERER am Pathologischen Institut Tübingen begonnen und an der Medizinischen Klinik Tübingen zu Ende geführt.

zu bekommen und vielleicht Rückschlüsse auf die submikroskopische Struktur und die Ablagerungsweise der Amyloidsubstanz zuzulassen. Insbesondere war der Einfluß der in das Amyloid eingeschlossenen Faserstrukturen zu studieren, da es LETTERER in eigenen Vorstudien an diesem Objekt schon aufgefallen war, daß die Anisotropie der amyloiden Substanz eine eigentümliche Affinität zum Verlauf der eingeschlossenen Fasern zeigte. Ich habe diese Untersuchungen an den verschiedensten „Amyloidsorten“ durchgeführt, aber alle, wie ich gleich vorausnehmen möchte, mit demselben Erfolg.

Es erscheint notwendig, hier einige Erläuterungen über das Wesen der Doppelbrechung zu geben, wobei wir uns teilweise wörtlich an die Ausführungen von W. J. SCHMIDT (1, 2) halten.

Anisotrope Objekte beeinflussen in verschiedenen Richtungen durchgehendes Licht verschieden. Das *Licht erscheint* dann linear polarisiert, und zwar in *zwei Anteile zerlegt*, deren Schwingungsrichtungen senkrecht aufeinander stehen und die sich mit verschiedener Geschwindigkeit fortpflanzen, also auch *verschieden stark gebrochen* werden. Die *Stärke der Doppelbrechung* wird bedingt durch die Differenz der Brechungsindizes und die Dicke des anisotropen Körpers. Sie findet ihren Ausdruck in verschiedenen *Gangunterschieden*, welche ihrerseits die verschiedenen Polarisationsfarben bedingen.

Doppelbrechung an histologischen Präparaten wird zwischen gekreuzten Nicols im Polarisationsmikroskop untersucht, wobei zur leichteren Orientierung ein Ocular mit Fadenkreuz benutzt wird, welches die Schwingungsrichtungen der beiden Nicols markiert. Man bezeichnet den oberen rechten und unteren linken Quadranten des Sehfeldes als positiv (+), die beiden anderen als negativ (−), die Diagonalen durch die Quadranten entsprechend als „Richtung unter + 45°“ und „Richtung unter − 45°“. Liegt ein anisotropes Objekt mit seinen Schwingungsrichtungen parallel zu denen des Polarisators oder Analysators, also auch parallel zu den Achsen des Fadenkreuzes, so herrscht Dunkelheit. Das vom Polarisator kommende Licht durchläuft das Objekt unbeeinflusst. Diese Auslöschstellung wird als „Normallage“ bezeichnet. Bei Drehung des Objektes aus der Normallage leuchtet es entsprechend seiner Doppelbrechung, am stärksten unter + 45° und − 45°, auf.

Ist die Schwingungsrichtung des langsameren und zugleich stärker gebrochenen Lichtanteiles eines Objektes parallel zu seiner Längsrichtung, spricht man von *positiver*, im anderen Fall von *negativer* Doppelbrechung.

Zur Bestimmung positiver oder negativer Doppelbrechung eines Objektes bringt man noch ein zweites, von bekannter Doppelbrechung und bekannten Schwingungsrichtungen, z. B. die Gipsplatte Rot I, derart in den Strahlengang, daß die Schwingungsrichtung des stärker gebrochenen Anteils unter + 45° steht. Stimmen die Schwingungsrichtungen der beiden Objekte überein, so addiert sich ihre Doppelbrechung, es entsteht ein größerer Gangunterschied bzw. eine Polarisationsfarbe höherer Ordnung. Bei senkrecht aufeinander stehenden Schwingungsrichtungen subtrahiert sich dagegen die Doppelbrechung, es entsteht ein geringerer Gangunterschied bzw. eine Polarisationsfarbe niederer Ordnung. Diese bekannten Objekte zur Bestimmung der Art der Doppelbrechung bezeichnet man als *Kompensatoren*. Zur genauen Festlegung des Gangunterschiedes werden Kompensatoren mit veränderlicher und jeweils ablesbarer Stärke der Doppelbrechung benutzt, z. B. ein solcher nach BEREK oder nach BRACE-KÖHLER.

Die Anisotropie kann einerseits durch den molekularen Bau des doppelbrechenden Körpers hervorgerufen werden — *Eigendoppelbrechung* —, oder durch die regelmäßige Anordnung der im Vergleich zur Lichtwellenlänge kleinen anisodiametrischen Teilchen der dispersen Phase, die durch ein Dispersionsmittel von abweichendem Brechungsindex getrennt sind — *Formdoppelbrechung* —. Die Stärke der letzteren wird durch die Differenz der Brechungsindices von disperser Phase und Dispersionsmittel beeinflusst. Doppelbrechung kann z. B. an allen Fasern nachgewiesen werden.

Unser erstes Objekt war die Leber eines an Amyloidose erkrankten Pferdes. Das Amyloid war vorwiegend in der Peripherie der Läppchen abgelagert und die einzelnen Amyloidbalken erreichten die Dicke der Leberzellen. Die Leberzellen selbst waren in den von Amyloid befallenen Bezirken deutlich atrophisiert, jedoch an keiner Stelle völlig geschwunden. Die Kongorotreaktion war positiv, desgleichen die Jod- und Jodschwefelsäureprobe und die Metachromasie mit Methylviolett.

Am kongorotgefärbten Präparat ergibt sich im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nicols sehr deutliche, jedoch nicht über die gesamte Amyloidsubstanz ausgedehnte Doppelbrechung. Bei 540facher Vergrößerung fällt eine, dem Sinus nahe gelegene, seiner Längsrichtung gleichlaufende Anisotropie auf. Um die lokalen Unterschiede der Doppelbrechung und auch die Beziehungen zum Verlauf der Sinusoidwände genauer studieren zu können, wurden nun *Serienschnitte* angefertigt.

Betrachtet man zufällig eine Sinusoidwand von oben, so verläuft in der Mitte eines Amyloidbalkens eine strichförmige Anisotropie. Im nächsten oder übernächsten Präparat der Serie findet sich dann an der gleichen Stelle ein Sinusoid mit Lichtung und zwei seitlichen Wänden. Die eben, zuerst median gelegene, linienförmige Anisotropie war also durch Betrachtung eines Sinusoids von oben, ohne daß dessen Lichtung angeschnitten war, entstanden.

Neben solchen längsverlaufenden Anisotropien finden sich nun noch senkrecht dazu stehende Doppelbrechungen. Diese bestehen aus feinsten, dicht nebeneinander liegenden, punkt- und faserförmigen Strukturen. Überschneidungen dieser beiden längs und senkrecht verlaufenden doppelbrechenden Strukturen sind nicht festzustellen. Zwischen gekreuzten Nicols und bei der Stellung unter $+45^\circ$, bezogen auf die Längsrichtung der anisotropen Strukturen, ergibt sich im kongorotgefärbten Amyloid, ebenso wie unter -45° eine grüne Polarisationsfarbe. Am ungefärbten, in Caedax eingebetteten Schnitt ließ sich ebenfalls eine, allerdings sehr schwache, Doppelbrechung erkennen. Die doppelbrechenden Strukturen sind aber dieselben und die Polarisationsfarbe bei gekreuzten Nicols in der positiven und negativen Richtung gräulich. Der Gangunterschied beträgt, mit dem Berek-Kompensator gemessen, am 15μ dicken Schnitt $14m\mu$. Mit der Gipsplatte Rot I erscheinen zwischen gekreuzten Nicols unter $+45^\circ$ die anisotropen

Stellen blau, zwischen parallelen Nicols bräunlich-orange, d. h. also es tritt eine Polarisationsfarbe zweiter Ordnung auf. Unter -45° leuchten die doppelbrechenden Stellen zwischen gekreuzten Nicols betrachtet,

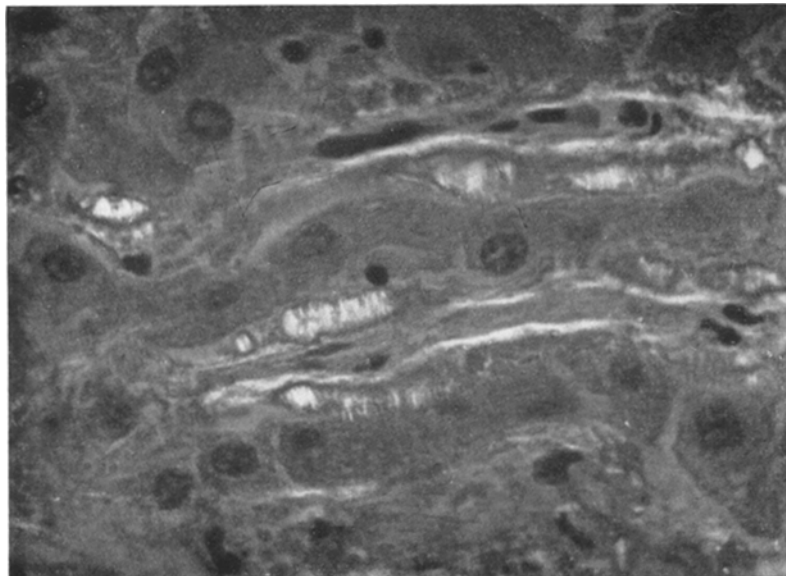


Abb. 1. Polarisationsbild einer amyloidhaltigen Pferdeleber, Kongorotfärbung. Leitz-Objektiv $\frac{1}{4}$, Fl. Öl, 54:1, Ocular 10 \times .

lebhaft gelb, zwischen parallelen Nicols indigofarben auf, was einer Polarisationsfarbe erster Ordnung entspricht. Dies gilt sowohl für die parallel zum Lebersinusoid verlaufenden als auch für die senkrecht dazu stehenden Strukturen. Es handelt sich hierbei also um positive Doppelbrechung in bezug auf die Länge der anisotropen Strukturen.

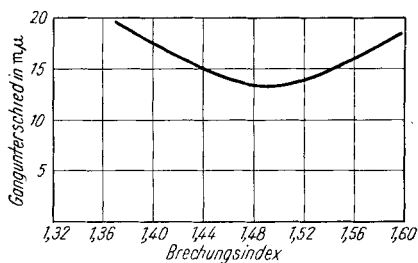


Abb. 2. Imbibitionskurve der Doppelbrechung an der Amyloidsubstanz einer Pferdeleber. Messung an 15μ dicken Schnitten.

Zur weiteren Charakterisierung der Anisotropie imbibitierten wir 15μ dicke Schnitte mit Flüssigkeiten von verschiedenem Brechungsindex und untersuchten sie im blauen Licht.

Wir erhielten dabei mit Äthylalkohol zwischen gekreuzten Nicols, mit dem Berek-Kompensator gemessen, einen Gangunterschied von $19,8\mu$. Mit steigendem Brechungsindex wurden die Gangunterschiede zunächst geringer, den niedrigsten fanden wir mit $13,8\mu$ an benzolimbibierten

Schnitten. Mit Flüssigkeiten von noch höherem Brechungsindex kam es wieder zum Ansteigen des Gangunterschiedes. Entsprechend dem oben über Form- und Eigendoppelbrechung Ausgeführten konnten wir also durch Veränderung des Brechungsindex des Dispersionsmittels die Stärke der Formdoppelbrechung an unseren Präparaten verändern. Der niedrigste gemessene Gangunterschied entspricht hierbei dem Wert der Eigendoppelbrechung des Objektes. Genauer lassen sich diese Verhältnisse aus Abb. 2 ablesen, aus welcher auch ohne weiteres ersehen werden kann, daß bei unserem Objekt positive Form- und Eigendoppelbrechung zusammenwirken.

Mit Nelkenöl eingedeckte Schnitte zeigen zwischen gekreuzten Nicols mit Gips Rot I unter $+45^\circ$ die doppelbrechenden Teile des Amyloid *gelb*, in negativer Stellung *blau*. Diese Umkehr des Vorzeichens verläuft langsamer als an gleichzeitig geprüften kollagenen Fasern. Mit Sumachextrakt¹ konnte die Umkehr der Doppelbrechung nur nach Verdünnung des Extraktes bis zu hellgeber Farbe erreicht werden.

Aus all dem scheint also schon hervorzugehen, daß die festzustellende *Anisotropie nicht der Amyloidsubstanz an sich, sondern bestimmten Faserstrukturen anhaftet*.

Im van Gieson-Schnitt zeigt das Amyloid zunächst eine gelbliche Anfärbung. Aber bei Betrachtung mit Ölimmersion fallen darin feine, faserförmige, rot angefärbte Strukturen auf. Diese verlaufen, wie die oben beschriebene Doppelbrechung, einerseits parallel der Sinusoidwand, andererseits senkrecht dazu. An geeigneten Stellen lassen sich an unseren Präparaten derartige Strukturen quergetroffen als feinste rote Punkte erkennen. Eine Kontrolle unter dem Polarisationsmikroskop zeigt Übereinstimmung der im van Gieson-Präparat rot gefärbten mit den doppelbrechenden Stellen, wobei letztere etwas größer erscheinen. Hieraus wäre zu schließen, daß die *Reticulumfasern*, welche die Sinusoidwände in verschiedener Richtung umspinnen, mit der *Anlagerung von amyloidem Eiweiß*, vielleicht aber auch schon vorher, eine *Kollagenisierung* erfahren, in ähnlicher Weise, wie dies bei Kollapszuständen oder bei Ödem des Lebergewebes der Fall sein kann.

Die Übereinstimmung der Faserstrukturen mit der Doppelbrechung ließ sich an Präparaten, welche nach der von KING angegebenen Methode versilbert und anschließend mit Kongorot gefärbt wurden, besonders eindrucksvoll erkennen. Mit Tageslicht betrachtet, kommt es hierbei zu einer gelb-braunen Anfärbung der Leberzellen. Das Amyloid nimmt einen mahagonibraunen Farbton an. Bei starker Vergrößerung treten faserförmige Strukturen durch eine deutlich intensivere Anfärbung im

¹ Der Sumachextrakt ist ein Absud getrockneter Sumachblätter, der Gerbstoffe enthält. Eine ausführliche Beschreibung dieses Vorganges findet sich bei W. J. SCHMIDT (2).

Amyloid in Erscheinung. Auch diese haben die oben beschriebene Lage, einerseits parallel zu den Lebersinusoiden, andererseits senkrecht zu ihnen. Zwischen gekreuzten Nicols erscheinen sie wieder anisotrop und geben grüne Farbe.

Die geschilderten Beziehungen zwischen Fasertextur und Doppelbrechung kann man nur an 5μ dicken Schnitten erkennen. Fertigen wir 20μ -Schnitte an, so erscheint das gesamte Amyloid anisotrop. Eine Erklärung für diese Beobachtung erbringen erst die Serienschritte. Wir zeichneten mit dem ABESchen Zeichengerät eine geeignete Stelle an vier 5μ dicken aufeinanderfolgenden Serienschritten und stellten jeweils die in verschiedener Richtung laufenden und nicht das ganze Amyloid einnehmenden doppelbrechenden Strukturen dar. Bei Aufeinanderprojektion der vier Zeichnungen lagern sich die einzelnen doppelbrechenden Strukturen mehr oder weniger nebeneinander und nehmen dadurch scheinbar das ganze Amyloid ein. Es ergibt sich dann das gleiche Bild wie bei der Doppelbrechung am 20μ dicken Schnitt. Wir möchten daher die scheinbare Doppelbrechung des gesamten Amyloid an dickeren Schnitten durch eine Aufeinanderprojektion mehrerer doppelbrechender Strukturen in verschiedenen Höhen des Präparates erklären.

Zwei menschliche Lebern, die in ähnlicher Weise wie die vom Pferd stammende von Amyloid ergriffen waren, boten dasselbe Bild der Doppelbrechung. Anders liegen dagegen die Verhältnisse bei zwei weiteren Fällen von sehr hochgradiger menschlicher Amyloidose. Hier sind in den untersuchten Stellen nur noch wenige Inseln von Lebergewebe erhalten, im übrigen besteht das Organ aus Amyloid, durch welches die Sinusoide mit den noch erhaltenen KUPFFERSchen Sternzellen hindurchziehen. Im Polarisationsmikroskop ist im Verhältnis zur Menge der Amyloidsubstanz nur noch wenig Doppelbrechung zu sehen. In den am stärksten amyloidhaltigen Partien sind die Stellen ohne Doppelbrechung ausgedehnter als die anisotropen. Der positive Charakter der Doppelbrechung ist, ebenso wie die übrigen, an der zuerst beschriebenen Leber gefundenen polarisationsoptischen Eigenschaften vorhanden. Im van Gieson-Präparat sind zwar rot färbbare Fasern zu erkennen, aber mengenmäßig geringer.

Eine auffallende Beobachtung ist in einer Insel erhaltenen Lebergewebes ohne Amyloid zu machen. Hier erscheinen die Leberzellen nur wenig atrophiert, die Sinusoide breit. Entlang den Leberzellbalken zieht eine im Kimmelstiel-Präparat deutlich als verdickt sichtbare Sinusoidwand. Mit Kongorot ergibt diese eine schwächere Reaktion als die Amyloidsubstanz, während sie im van Gieson-Präparat deutlich rot erscheint. Zwischen gekreuzten Nicols aber sind die mit Kongorot gefärbten Sinusoidwände mit grüner Polarisation zu sehen. Das heißt also,

die *kollagenisierten Reticulumfasern* nehmen schon, bevor die Ablagerung von *amyloidem Eiweiß* auf ihnen *statthat*, eine *schwache Kongorotfärbung* und eine der in der amyloiden Substanz liegenden entsprechende *Doppelbrechung* an.

Weitere Beobachtungen galten der Doppelbrechung an zwei Sago-
milzen. Das Amyloid, in dem noch Sinusoide erhalten sind, liegt in der Peripherie der Follikel. Jod- und Jodschwefelsäureprobe sind positiv, ebenso die Metachromasie mit Methylviolett, außerdem färben sich die Ablagerungen deutlich mit Kongorot an.

Im Polarisationsmikroskop am kongorotgefärbten Präparat wiederum grüne Doppelbrechung. Die einzelnen anisotropen Strecken kürzer als in der Leber. Zwischen den anisotropen Teilen liegen, mehr Raum einnehmend, kongorotfärbare, homogene Stellen ohne Doppelbrechung. Serienschritte, mit dem ABBESchen Zeichengerät durchgezeichnet, zeigen die anisotropen Strukturen entlang den Sinusoidwänden verlaufend. An Hand der Doppelbrechung ist der Verlauf einiger Sinusoide durch mehrere Schnitte hin zu verfolgen. Wiederum sind in van Gieson-Präparaten rot gefärbte Fasern im Amyloid nachzuweisen, ebenso in versilberten Präparaten.

Eine Schinkenmilz ergibt bezüglich der Doppelbrechung keine neuen Gesichtspunkte.

Die Milzen boten Gelegenheit, *amyloidhaltige Blutgefäße* zu untersuchen. Auch an ihnen war Doppelbrechung vorhanden. Bei der üblichen mikroskopischen Betrachtung ergibt eine Arterie im kongorotgefärbten Präparat das Bild einer die ganze Wand einnehmenden Amyloidose. Nur bei Betrachtung zwischen gekreuzten Nicols, die Längsrichtung des Gefäßes in positiver Diagonale, leuchten bei Verwendung unseres Leitz-Objektives P 1/7 Fl. Öl in dieser Richtung faserförmige Strukturen gelb, dazu senkrecht stehende kürzere grün auf¹. Somit mußten die doppelbrechenden Strukturen verschiedenen Schichten der Gefäßwand angehören. Die parallel zur Gefäßrichtung verlaufenden liegen höher als die senkrecht zu ihr gelegenen. Im weiteren Verlauf kommt unter der quer zur Länge ziehenden Doppelbrechung wieder gelbe Anisotropie zum Vorschein. Es findet sich also bei Einstellung der Längsrichtung des Gefäßes unter $+45^{\circ}$ in der äußeren Schicht gelbe, darunter grüne und in der inneren Schicht wieder gelbe Polarisationsfarbe. Somit verliefen diese Strukturen außen und innen parallel zur Länge des Gefäßes, in der Mitte aber zirkulär um dasselbe. Hieraus wäre zu schließen, daß die *Doppelbrechung* in ihrer Anordnung außen dem *Faserverlauf der Adventitia*, in der Mitte dem *zirkulären der Muskelfasern*, bzw. der dazugehörigen Bindegewebsfasern und innen dem *der Intima* entspricht.

¹ Dieser Wechsel der Polarisationsfarbe in positiver und negativer Richtung ist durch eine geringgradige Kompensationswirkung des Objektives zu erklären.

In Nieren mit glomerulärem Amyloid verhält sich die Doppelbrechung im wesentlichen wie in den oben beschriebenen Gefäßen, was vor allem am Vas afferens deutlich zum Vorschein kommt. Durch die Doppelbrechung wird die Zusammensetzung der Glomeruli aus mehreren Gefäßbündeln besonders deutlich.

Weitere Untersuchungen über die Doppelbrechung der Amyloidsubstanz wurden an Organen von Paramyloidosen angestellt. In dem zunächst untersuchten Fall ist in der Milzkapsel amyloide Substanz abgelagert. Die Bindegewebsfasern

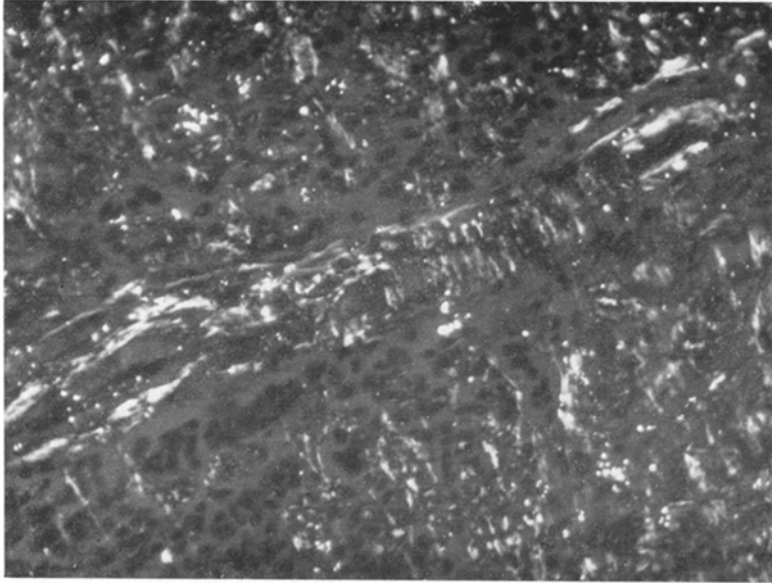


Abb. 3. Polarisationsbild einer amyloidhaltigen Arterie, Kongorotfärbung.
Leitz-Objektiv P 4b, 25:1, Ocular 10 ×.

der Milzkapsel sind außerhalb der amyloiden Substanz scharf zu erkennen. Die doppelbrechenden Fasern im Amyloid verlaufen in den äußeren Teilen der Kapsel parallel zu dieser, in den inneren senkrecht dazu, sie erscheinen im kongorotgefärbten Präparat grün.

Da sich die Strukturverhältnisse in diesen Präparaten besonders leicht erkennen lassen, konnten wir auch *Dichroismus* nachweisen. Nur mit dem Polarisator betrachtet, erscheint das kongorotgefärbte Amyloid in der Nullage nicht mehr homogen, es lassen sich darin stärker rot erscheinende Strukturen erkennen, welche den doppelbrechenden entsprechen. Bei Drehung des Präparates um 90° verlieren sie ihr stärker rotes Aussehen und nehmen die Farbe des in der Umgebung liegenden Amyloid an.

Auch ungefärbte Schnitte lassen an den gleichen Stellen positive Doppelbrechung erkennen, welche nach Behandlung mit Sumachextrakt oder Nelkenöl

negativ wird. Eine mäßig starke Doppelbrechung ist auch im HE- und Kimmelstielpräparat zu erkennen.

Bei Färbung nach VAN GIESON erscheint das Amyloid im wesentlichen gelblich, es lassen sich aber durch dieses hindurchziehende rot angefärbte Fasern deutlich erkennen. Diese entsprechen in ihrer Lokalisation und ihrem Verlauf der oben beschriebenen Doppelbrechung.

Um die größeren Arterien dieses Organes sind Amyloidablagerungen, welche teilweise die 4—5fache Dicke der Gefäßwand erreichen. Bezüglich der doppelbrechenden Eigenschaften verhalten sie sich wie das in der Milzkapsel gelegene Amyloid.

In einem weiteren Fall einer Paramyloidose¹ sind am Herzen vorwiegend subendokardial größere, teils zusammenfließende Inseln von Amyloid. Häufig verläuft in der Mitte dieser Inseln ein Gefäß. Die Mitralklappe des Organes besteht weitgehend aus Amyloid, neben dem noch unveränderte Fasern erhalten sind.

Im van Gieson-Schnitt erscheint das Sarkolemm etwas verquollen und aufgesplittert. Die Amyloidinseln sind deutlich von roten Fasern durchzogen. Im kongorotgefärbten Präparat sind zwischen gekreuzten Nicols im Amyloid wieder deutlich faserige Strukturen zu erkennen, aber auffallend ist, daß bei weitem nicht das ganze Amyloid Anisotropie zeigt. Die Mitralklappe bietet dasselbe Bild der Doppelbrechung. Noch erhaltene Fasern leuchten in positiver und negativer Stellung hellgelblich-weiß auf. Am Sarkolemm ist im kongorot gefärbten Präparat ebenfalls grüne Anisotropie.

Die Umkehr der Doppelbrechung am ungefärbten Präparat mit Nelkenöl, ebenso mit verdünntem Sumachextrakt, tritt auch hier an den Fasern im Amyloid auf.

Vom Gehirn untersuchten wir ventrikelnähe Teile. Unter dem Ependym liegen, dieses etwas vorbuchtend, in ihrer Größe bis zum vierfachen Kerndurchmesser der ependymalen Zellen reichende runde Amyloidherde. An einigen Stellen schließen sich diese runden Herde zu einem dann größer und länglich erscheinenden zusammen. Es fällt dort im Kongorotpräparat eine ungleiche, wolkig aussehende Anfärbung des Amyloid auf.

Im van Gieson-Schnitt erscheinen die Amyloidstellen leicht rötlich mit gelblichem Untergrund. Bei stärkster Vergrößerung erkennt man rot gefärbte faserförmige Strukturen, welche teilweise die Herde durchziehen, teilweise radiär angeordnet sind.

Zwischen gekreuzten Nicols bieten die größeren dieser Amyloidherde im Kongorotpräparat das Bild eines durch radiäre Anordnung bedingten *positiven Polarisationskreuzes*. In den größeren und länglichen Amyloidlagern sind mehrere solcher Polarisationskreuze nebeneinander zu sehen, woraus ihre Entstehung infolge Konfluierens verschiedener Rundherde zu erkennen ist. In den kleinsten Amyloidablagerungen ist das positive Polarisationskreuz nicht voll ausgebildet. Hier überwiegen die parallel

¹ Die Organe dieses Falles wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. KRÜCKE, Frankfurt, überlassen. Dortige Sektions-Nr. 136.

zum Ependym laufenden doppelbrechenden Strukturen über kürzer erscheinende, senkrecht dazu stehende.

Bei 800facher Vergrößerung ist leicht zu erkennen, daß diese an einen radiär angeordneten Kristall erinnernden Bilder durch sich überlagernde und vorwiegend in einem Punkt sich kreuzende Fasern entstanden sind. Es sei hier bemerkt, daß die normale Gliafaser doppelbrechend ist, was sich leicht an jedem entfetteten Präparat erkennen läßt.

Die an das Verhalten von Sphärokristallen erinnernden Sphäritenkreuze wurden schon früher von DIVRY (1, 2, 5, 7) und KRÜCKE beschrieben. Sie haben dieselben Eigenschaften wie die Doppelbrechung im Amyloid der übrigen Organe. Eine Bildung derartiger Sphäritenkreuze durch Fasern beschreibt auch W. J. SCHMIDT (1). Die formale Genese dieser radiär angeordneten Fasern muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Wir fanden also im Amyloideiweiß aller untersuchten Gewebe Doppelbrechung. Bis auf die rundlichen Amyloidherde treten in diesem längsgerichtete, faserförmige, mehr oder weniger dicht durch das Amyloid ziehende Strukturen auf, welche in ihrer Richtung schon vorhandenen Formen folgen. In den amyloidhaltigen Lebern liegt die Doppelbrechung einerseits entlang der Sinusoidwand, andererseits senkrecht dazu. Somit entspricht sie dem Verlauf der Sinusoide und dem des Gitterfasernetzes. An den von Amyloid ergriffenen Arterien mittleren Kalibers kann die ursprüngliche Richtung der Bauelemente der Adventitia, Media und Intima an der Anordnung der Doppelbrechung erkannt werden. Die Anisotropie der Sagomilzen verläuft in Richtung der Sinusoide. In den Paramyloidfällen sind die doppelbrechenden Herde im allgemeinen plumper und nicht so fein aufgefasert wie bei den sekundären Amyloidosen. Sie folgen im wesentlichen der Richtung ursprünglich vorhandener Bindegewebsfasern. Besonders eindrucksvoll ist dies in der Amyloidsubstanz einer Herzklappe und einer Milzkapsel zu finden.

Der *Charakter der Doppelbrechung* kann an ungefärbten Präparaten bestimmt werden. Mit Gips Rot I bekommen wir zwischen gekreuzten Nicols bei positiver Einstellung in bezug auf die Länge der doppelbrechenden Strukturen blaue Polarisationsfarbe, bei parallelen Nicols bräunlich-orange, bei negativer Einstellung zwischen gekreuzten Nicols lebhaft gelb, bei parallelen Nicols indogofarben. Es kommt also unter $+45^{\circ}$ zu einer Polarisationsfarbe zweiter Ordnung, unter -45° zu einer solchen erster Ordnung. Dadurch ist der *positive Charakter dieser Doppelbrechung in bezug auf die Länge* festgelegt. Ebenso wird dieser durch das negative Polarisationskreuz an quergetroffenen amyloidhaltigen Gefäßen mittleren Kalibers, wie sie bei sekundären Amyloidosen vorkommen, dargelegt.

Die Art der *Doppelbrechung* wurde mit Hilfe von Imbibitionskurven mit dem Berek-Kompensator untersucht. In Kurve I sind die hierbei erhaltenen Werte eingetragen. Hieraus kann das Zusammenwirken von *Form* und *Eigendoppelbrechung* im Amyloid abgelesen werden. Die Restdoppelbrechung, welche die Stärke der Eigendoppelbrechung angibt, hat einen Gangunterschied von $13,8\text{ m}\mu$. Die Form der erhaltenen Kurve und ihre Lage im oberen rechten Quadranten des Koordinatensystems bringt ebenfalls den positiven Charakter sowohl der Form- als auch der Eigendoppelbrechung zum Ausdruck.

Durch Behandlung mit Nelkenöl konnten wir an einem Teil der anisotropen Strukturen im Amyloid die vorher positive Doppelbrechung in eine negative umwandeln. Mit Sumachextrakt trat diese Umkehr der Doppelbrechung erst nach Verdünnung des Extraktes bis zu hellgelber Farbe auf. Die Doppelbrechung ist jetzt zwischen gekreuzten Nicols bei positiver Einstellung, unter Verwendung von Gips Rot I, in bezug auf die Länge lebhaft gelb erster Ordnung, bei negativer blau zweiter Ordnung. Die Änderung der Doppelbrechung verläuft hierbei langsamer als an gleichzeitig geprüften kollagenen Fasern.

In den kongorot gefärbten Präparaten ist die Doppelbrechung im ganzen stärker und besser zu erkennen als in ungefärbten, sie erscheint grün. Es handelt sich bei dieser Farberscheinung um eine anomale Absorptionsfarbe. Obwohl sich vor allem bei intensiver Kongorotfärbung, wie sie mit einer alkoholischen Farblösung erreicht werden kann, auch die Bindegewebsfasern deutlich rot darstellen, ergeben diese nicht die im Amyloid auftretende grüne Polarisationsfarbe. Es tritt die den Fasern erfahrungsgemäß zukommende weiß-gelbliche Doppelbrechung auf.

Die Doppelbrechung im Amyloid entspricht daher nach unseren Befunden sowohl nach ihrem Bilde, wie nach ihren Eigenschaften weitgehend derjenigen der kollagenen Fasern. An ihr kann mit Nelkenöl und Sumachextrakt eine Umkehr erreicht werden, die nach W. J. SCHMIDT (3) als weitgehend spezifisch für kollagene Fasern gilt. Der Nachweis rot gefärbter Fasern im van Gieson-Präparat innerhalb der amyloiden Substanz spricht in dem gleichen Sinne. Derartige, im van Gieson-Schnitt rot gefärbte, im Amyloid liegende kollagene Fasern beschrieben auch GÖTZE und KRÜCKE. Ähnlich liegen die Verhältnisse an versilberten und anschließend kongorot gefärbten Präparaten. Übereinstimmung der Doppelbrechung mit argentophilen Strukturen beschrieb auch schon DIVRY (6) an Gehirnen mit ALZHEIMERScher Degeneration.

Wir nehmen daher an, daß innerhalb der amyloiden Eiweißablagerungen Fasern liegen, die mit den üblichen Methoden nicht in Erschei-

nung treten. Derartige maskierte Fasern können nach W. J. SCHMIDT (3) ganz ähnlich wie in unseren Amyloidpräparaten auch im hyalinen Knorpel mit Hilfe der Doppelbrechung und ihrer Umkehr durch Phenolabkömmlinge nachgewiesen werden. Er schreibt: „Auch erlaubt die Phenolreaktion das Kollagen nachzuweisen, wo Fibrillen nicht sichtbar sind und also — von vorneherein — die vorliegende Doppelbrechung auch auf andere Umstände bezogen werden könnte. So sind im hyalinen Knorpel die kollagenen Fibrillen maskiert, nur nach besonderer Vorbehandlung sichtbar. Hier wäre also die Erwägung gegeben, ob nicht dieses scheinbar homogene Gewebe seine Doppelbrechung anderen Umständen, etwa photoelastischem Effekt, verdanke. Knorpelgewebe kehrt aber, wie schon v. EBNER feststellte, den optischen Charakter beim Durchtränken mit Phenolen um, und es muß also seine Doppelbrechung auf unsichtbare kollagene Fibrillen bezogen werden, deren Anordnung dem Polarisationsbild entnommen werden kann.“

Die Verstärkung der Doppelbrechung in der kongorot gefärbten Amyloidsubstanz und die im Vergleich zur normalen kollagenen Faser auftretenden Farberscheinungen hängen nach unserer Ansicht mit der Anfärbbarkeit des Amyloid durch den Farbstoff und mit der Anlagerung des amyloiden Eiweiß an präformierte Fasern zusammen. Der Kongofarbstoff liegt, vermutlich an das Amyloid gebunden, auf andere Art in der Faser als bei der Färbung nicht amyloidhaltiger Fasern mit alkoholischen Kongorotlösungen. Daraus könnte man schließen, daß das Amyloid die Fasern selbst durchtränkt. Eine solche Durchtränkung ließe auch den langsameren Ablauf der Umkehr der Doppelbrechung mit Nelkenöl und Sumachextrakt erklären. Das Eiweiß umgibt die einzelnen Fibrillen gleichsam mit einem Mantel, weshalb diese Durchtränkungsmittel nur langsam eindringen können. Bei Verwendung eines konzentrierten, dunkelbraun aussehenden Sumachextraktes würde demnach das um die Fibrillen liegende Eiweiß sofort so gegerbt, daß ein weiteres Eindringen in die Faser verhindert wird. Ein stark verdünnter, nur wenig Gerbstoff enthaltender Extrakt dringt dagegen, bereits ehe der Gerbprozeß am umgebenden Eiweiß abgelaufen ist, in die Fibrillen ein und kann nun die Umkehr der Doppelbrechung hervorrufen.

In der Amyloidsubstanz liegende Gewebefasern wurden schon früher von EBERT gesehen. Ähnlich kommt PETERS zu dem Schluß, daß an den von ihm untersuchten Nebennieren das Amyloid den fibrillären Zwischenstoff zwischen Capillaren und Rindenzellen durchdringt. Bei ROULET findet sich eine genaue Beschreibung durch Versilberung dargestellter Fasern im Amyloid.

Für die Fasernatur der doppelbrechenden Substanzen im Amyloid glauben wir noch einen weiteren Beweis zu haben.

Wir schnitten von der vorne beschriebenen amyloidhaltigen Pferdeleber kleinere alkoholfixierte Stückchen in zwei gleiche Teile. Den einen davon brachten wir für 2—4 Std in kochendes Wasser, den anderen ließen wir zur Kontrolle ungekocht. Von beiden Stücken fertigten wir Kongorotpräparate an, wobei die ursprünglich gegeneinanderliegenden Flächen zum Schnitt benutzt wurden.

Sowohl in den gekochten, als auch in den ungekochten Schnitten färbt sich das Amyloid in gleicher Weise mit Kongorot an. Die Menge des Amyloid bleibt — unter Berücksichtigung der stärkeren Schrumpfung — am gekochten Material unverändert. Zwischen gekreuzten Nicols bietet die Doppelbrechung in den ungekochten Teilen das seither gewohnte Bild, dagegen ist sie in den gekochten Proben fast vollkommen verschwunden. Dieselbe Beobachtung bezüglich des Verschwindens der Doppelbrechung nach Kochen kann man an kollagenen Fasern im normalen Unterhautfettgewebe machen.

Daher möchten wir auf Grund dieser Befunde über die Doppelbrechung an Amyloidablagerungen im Gewebe im Gegensatz zu ROMHANY (1, 2) und LADEWIG aus der Anisotropie keine Rückschlüsse mehr auf die Feinstruktur dieses Eiweißes ziehen, sondern annehmen, daß die Doppelbrechung auf die in den Geweben präexistenten und durch die Amyloidabscheidung maskierten Fasern zurückzuführen ist.

Die bei der Amyloidbildung vorhandene Veränderung der Bluteiweißkörper im Sinne der Dysproteinämie ist *eine* der Grundbedingungen für die Amyloidablagerung. OTT und SCHNEIDER weisen unter Benützung der Vorstellungen von LETTERER darauf hin, daß zu Ablagerungen des Amyloid das Mesenchym mit seinen Membranen und Grenzflächen, an denen es sich aufbaut, von der gleichen Bedeutung sei wie die Dysproteinämie. Die von uns im Amyloid nachgewiesenen maskierten Fasern machen es nun sehr wahrscheinlich, daß eine vorhergehende Veränderung der Fasern bei der Ablagerung von Amyloideiweiß eine bestimmende Rolle spielt.

Die Beobachtung des Verschwindens der Doppelbrechung an stark von Amyloidose befallenen Lebern führt zu der Annahme, daß die Fasern bei ausgedehntem und lang andauerndem Amyloid ganz zugrunde gehen können, was auch schon ROULET annahm.

Da die Ablagerung von amyloidem Eiweiß im Gewebe nun nicht an allen Orten gleichmäßig statthat, sondern gewisse zeitliche und absolute Prädispositionsstellen vorhanden sind, an denen es schon sehr bald und auch mit Regelmäßigkeit zur Amyloidabscheidung kommt, während andere Gewebe frei bleiben, so liegt der Gedanke nahe, daß auch die Faser selbst zu den lokalen Bedingungen der Amyloidentstehung durch Änderung ihres Zustandes beiträgt.

So ergab sich die Frage, ob vielleicht schon *vor* der *sichtbaren* Ablagerung von Amyloid an den entsprechenden Stellen Doppelbrechung

nachweisbar ist. Wir führten daher Untersuchungen an Milzen und Lebern von Mäusen, welche im Amyloidexperiment standen, aus, ehe Amyloid mikroskopisch nachweisbar abgelagert war.

Dabei war es notwendig, auch schon kleinste Amyloidherde einwandfrei nachzuweisen. Wie schon beschrieben, ist bei Fällen von Paramyloidose am kongorot gefärbten Schnitt durch die Grünfärbung des Amyloid zwischen gekreuzten Nicols der Übergang von amyloidhaltigen zu amyloidfreien Teilen der Fasern deutlich zu erkennen, obwohl sich die gesamte Faser gleichmäßig rot anfärbt. Ebenso zeigen Beobachtungen an Mäusemilzen mit eben beginnendem Amyloid und nicht vollkommen geschlossener Ringbildung des Eiweißniederschlages bei der Kongorotfärbung in den nicht ergriffenen Teilen gelbe Polarisationsfarbe der dort liegenden Fasern, im Gegensatz zu der grünen Polarisationsfarbe der amyloidhaltigen Stellen. Dieser Farbunterschied zwischen grün und gelb läßt sich mit einem elliptischen Kompensator noch verstärken. Bei geeigneter Stellung des Kompensators und des Objektes erscheint die Doppelbrechung im Amyloid leuchtender und intensiver grün. Trotzdem ist der Farbkontrast zwischen gelb und grün bei kleinsten Amyloidherden nicht immer leicht zu erkennen. Deshalb suchten wir nach einer Färbung, welche den Unterschied zwischen amyloidhaltigen und nichtamyloidhaltigen Fasern deutlicher in Erscheinung treten lassen würde. Als sehr günstig erwies sich das polychrome Methylenblau von HOLLBORN und GRÜBLER. Wir färbten Paraffinschnitte und Gefrierschnitte 5 min und differenzierten anschließend in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Dabei muß besonders darauf geachtet werden, daß die Schnitte vor dem Färben völlig entwässert sind. Bei gewöhnlicher mikroskopischer Betrachtung erscheint so gefärbt der ganze Schnitt blau, wobei das Amyloid einen angedeutet lilafarbenen Ton bekommt. Sehr überraschend sind nun die Farbeffekte zwischen gekreuzten Nicols. Die Doppelbrechung der amyloiderkrankten Fasern wird leuchtend carminrot, während die Fasern ohne Amyloid teils bläulich, teils türkisfarben erscheinen. Es treten also Farben auf, die im Spektrum weit auseinander liegen und sich daher sehr gut unterscheiden lassen. Diese rote Polarisationsfarbe sahen wir bis jetzt in allen amyloidhaltigen Organen immer nur an den von Amyloid ergriffenen Stellen und glauben daher mit Sicherheit sagen zu können, daß dieser *Pleochroismus typisch* für die Doppelbrechung an Fasern ist, welche mit dem amyloiden Eiweißstoff durchtränkt sind.

In den weiteren Untersuchungen nahmen wir Mäuse, die jeweils an 5 aufeinanderfolgenden Tagen 1 cm³ einer 3,5%igen Caseinlösung in 0,5%iger NaOH, wie LETTERER mehrfach angegeben hat, erhielten. Nach jeder Serie von 5 Injektionen war 2 Tage Pause eingelegt. Durch

Dekapitation wurden die Tiere nach 5, 10 und 20 Injektionen getötet.

Die Stellen in Milz und Leber, an welchen der Niederschlag des Eiweiß bei der Amyloidose beginnt, sind in der Literatur mehrfach beschrieben. LETTERER (1) fand die ersten Veränderungen in Mäusemilzen konzentrisch oder im Halbkreis in der Peripherie der Follikel in einem Gebiet, in welchem ein breiter Ring von der Pulpa angehörigen venösen Bluträumen verläuft. Die vorhandenen Blutsinusoide bleiben dabei mit ihrem Lumen und dem Endothelbelag zu einem nicht geringen Teil völlig erhalten. Auch HIGUCHI fand den Beginn der Amyloidose bei Sagomilzen in der Randzone der Follikel.

In der Leber sind nach LETTERER (1) die Pfortaderäste und die Leberarterien mit ihren Endverzweigungen, den intraacinosen Capillaren, der Hauptsitz der Affektion, wobei aber vor allem die Peripherie der Läppchen befallen wird.

Zu gleichen Befunden über den Beginn der Amyloidose in Milz und Leber kam auch MAISS.

Einer besseren Übersicht wegen wurden an $7,5\mu$ dicken Präparaten die Kerne mit Hämalun gefärbt, außerdem Präparate mit Kongorot und polychromem Methylenblau angefertigt. Zur Festlegung der Gangunterschiede benutzten wir einen elliptischen Kompensator mit $\lambda/16$. Sämtliche Messungen wurden in einem völlig dunklen Raum ausgeführt.

Bereits am Normaltier läßt sich mit dem elliptischen Kompensator bei vollkommener Dunkeladaption eine geringe Doppelbrechung der reticulären Fasern in der Milz nachweisen, dasselbe gilt für die Sinusoidwände der Leber.

An 15 Tieren der 1. Serie erhielten wir die folgenden Befunde: An den Follikelrändern der Milz ist bei vollkommener Dunkeladaption eine sehr schwache, eben noch meßbare Doppelbrechung zu erkennen. Die doppelbrechenden Gebilde ziehen in kurzen, feinen Strichen ringförmig um die Follikel herum und entsprechen den Sinusoidwänden. Unsere Meßwerte liegen hierbei zwischen $0,15-0,80 m\mu$. Im kongorot gefärbten Präparat tritt nirgends grüne Polarisationsfarbe auf, ebenso fehlt jeglicher roter Farbton in methylenblau gefärbten Präparaten.

In den Lebern war es zunächst schwierig, vergleichbare Stellen zur Messung der Gangunterschiede aufzufinden. Wir wählten diejenigen, an welchen erfahrungsgemäß die Amyloidose beginnt, also die Gebiete um die Pfortaderäste. Während im Zentrum und in der Intermediärzone der Leberläppchen fast keine Doppelbrechung zu erkennen ist, läßt sich in der Peripherie der Läppchen, besonders in der Umgebung von

Pfortaderästen, meßbare Anisotropie, durch die Sinusoidwände bedingt, finden. Die Gangunterschiede liegen zwischen $0,20-1,15\text{ m}\mu$.

Die Tiere der 2. Serie, die je 10 Injektionen erhielten, zeigen in den Follikelrändern der Milz die Doppelbrechung deutlich stärker und es finden sich auch insgesamt mehr doppelbrechende Strukturen. Unsere Meßwerte liegen hier zwischen $0,95\text{ m}\mu$ und $3,05\text{ m}\mu$. Bei einem Teil der Mäuse sieht man bereits kleine Amyloidablagerungen. An Organen mit nicht vollkommen geschlossenen Amyloidringen um die Follikel konnten wir die Doppelbrechung auch am Übergang zwischen amyloidhaltigen und nichtamyloidhaltigen Stellen beobachten. In kongorot gefärbten Präparaten ist die Doppelbrechung im Amyloid jeweils grün, während die Fasern der nichtamyloidhaltigen Teile ihren gelben Farbton behalten. Diesen Befunden entsprechen die Farbunterschiede an methylenblau gefärbten Präparaten: das Amyloid erscheint rot, die übrigen doppelbrechenden Fasern blau. An diesen Organen ist besonders günstig zu erkennen, daß die Anisotropie im Amyloid durch Fasern bedingt ist, da die doppelbrechenden Strukturen in feinen Strichen erscheinen. Messungen des Gangunterschiedes an den mit Hämalan gefärbten Präparaten ergeben für die Doppelbrechung im Amyloid Werte zwischen $1,10-2,15\text{ m}\mu$. In den Schnitten mit unvollkommener Ringbildung des Amyloid lassen sich keine signifikanten Unterschiede in der Stärke der Doppelbrechung zwischen amyloidhaltigen Stellen und solchen ohne Amyloid erkennen.

In den Leberabschnitten ist schon ohne Messung eine Zunahme der Doppelbrechung deutlich, welche sich sowohl in bezug auf die Stärke der Anisotropie, als auch auf die Verbreiterung der doppelbrechenden Gebiete um die Pfortaderäste herum ausdrückt. Während in den Organen der 1. Serie nur die Sinusoidwände der den entsprechenden Gefäßen zunächst liegenden Leberanteile meßbare Doppelbrechung erkennen lassen, sind sie hier auch an den von den Sinusoidwänden mehr entfernt liegenden Stellen deutlich. Die Gangunterschiede liegen zwischen $0,40$ bis $3,05\text{ m}\mu$.

Bei den Tieren, welche nach 20 Injektionen getötet wurden, ist die Milz bis auf 1 Tier (M 38) von Amyloid ergriffen. Die Gangunterschiede entsprechen dabei im wesentlichen denen der 2. Serie.

In den Lebern aber besteht eine deutliche Zunahme des Gangunterschiedes gegenüber der 2. Gruppe, wobei jedoch die Ausbreitung der anisotropen Strukturen dieselbe ist. Die Gangunterschiede liegen hier zwischen $1,50-3,15\text{ m}\mu$.

In einer tabellarischen Übersicht (Tabelle 1) stellen sich die Ergebnisse dar.

Tabelle 1¹.

Tier Nr.	Anzahl der Injektionen	Milz- amyloid	Gangunterschied der Doppel- brechung in der Milz m μ	Leber- amyloid	Gangunterschied der Doppel- brechung in der Leber m μ
1	5	—	0,40	—	0,45
2	5	—	0,35	—	0,55
3	5	—	0,80	—	0,80
4	5	—	0,55	—	0,95
5	5	—	0,40	—	0,90
6	5	—	0,35	—	1,15
7	5	—	0,50	—	0,30
8	5	—	0,75	—	0,35
9	5	—	0,55	—	0,55
10	5	—	0,30	—	0,60
11	5	—	0,50	—	0,50
12	5	—	0,40	—	0,20
13	5	—	0,15	—	0,40
14	5	—	0,20	—	0,55
15	5	—	0,15	—	0,40
16	10	—	0,95	—	0,40
17	10	(+)	1,10	—	2,30
18	10	(+)	2,45	—	2,10
19	10	—	3,05	—	0,80
20	10	—	1,60	—	0,60
21	10	—	1,30	—	0,80
22	10	—	1,95	—	1,15
23	10	—	1,75	—	0,90
24	10	—	1,30	—	0,75
25	10	—	1,40	—	1,20
26	10	+	2,20	—	2,10
27	10	+	2,75	—	3,05
28	10	+	2,15	—	2,15
29	10	+	1,95	—	1,95
30	10	—	1,95	—	0,80
31	20	++	1,95	—	2,35
32	20	+++	2,30	—	2,35
33	20	++	2,10	(+)	2,80
34	20	(+)	2,15	—	1,50
35	20	++	1,80	(+)	2,35
36	20	(+)	1,95	—	1,80
37	20	(+)	2,85	—	2,00
38	20	—	2,15	—	1,75
39	20	+	2,20	+	3,15
40	20	++	2,40	—	2,00
41	20	+	2,35	—	2,10
42	20	+++	2,90	(+)	2,30
43	20	+	3,20	(+)	2,15
44	20	+++	3,30	—	2,50

¹ Die Stärkegrade entsprechen den von LETTERER angegebenen Graduierungen.
 (+) Spuren von Amyloid; + einfache Ringe um alle oder einzelne Follikel; ++ die Ringe berühren sich gegenseitig; +++ diffuse Amyloidose.

In Tabelle 2 errechneten wir die Durchschnittswerte der Gangunterschiede der Doppelbrechung in den Milzen und Lebern der einzelnen Serien. Dabei ist in den Milzen zwischen amyloidhaltigen und nicht-amyloidhaltigen Organen unterschieden.

Tabelle 3 enthält die durchschnittlichen Gangunterschiede der Lebern, getrennt nach Tieren ohne und mit Milzamyloid.

Tabelle 2.

Anzahl der Injektionen	Gangunterschied in der Milz bei Tieren		Gangunterschied in der Leber
	ohne Milz-amyloid $m\mu$	mit Milz-amyloid $m\mu$	
5	0,42	—	0,51
10	1,69	2,10 2,41	1,40 2,23

Tabelle 3.

Gangunterschied in der Leber bei Tieren	
ohne Milz-amyloid $m\mu$	mit Milz-amyloid $m\mu$
0,71	2,27

Aus diesen Meßwerten wird ersichtlich, daß *schon vor dem Auftreten von Amyloid* sowohl in der Milz wie auch in der Leber der im Amyloidversuch stehenden Tiere eine deutliche *Zunahme der Doppelbrechung nachweisbar* ist. Nach den morphologischen Befunden an diesen Organen findet die Zunahme der Doppelbrechung an den Stellen statt, an welchen die Amyloidose beginnt. In der Milz sind dies die Sinusoidwände in den Randzonen der Follikel, in der Leber die Peripherie der Läppchen im Gebiet der Pfortaderäste. Bei den Tieren mit 10 Injektionen ohne Milz-amyloid sind, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, solche mit starker und solche mit schwächerer Reaktion erfaßt. Dadurch kann der Eindruck entstehen, als ob mit dem Auftreten von Amyloid in der Milz eine weitere Zunahme der Doppelbrechung erfolgte. An den Tieren aber mit eben beginnendem Milzamyloid fand sich kein wesentlicher Unterschied in den Meßwerten zwischen amyloidhaltigen und nichtamyloidhaltigen Stellen desselben Organes.

Die Zunahme der Doppelbrechung in der Leber vor dem Auftreten von Amyloid in diesem Organ geht besonders deutlich aus der Tabelle 3 hervor.

Nach diesen Befunden glauben wir, daß die Veränderungen der Fasern, die in einer Zunahme der Faserdoppelbrechung zum Ausdruck kommen, ein Vorstadium und wohl auch eine Vorbedingung für die Ablagerung des dann auch histologisch nachweisbaren Amyloid sind. Wir möchten jedoch nicht annehmen, daß es sich bei diesen Veränderungen der Doppelbrechung um einen spezifischen und nur für das Amyloid geltenden Vorgang handelt. Viel eher glauben wir, daß diese

micellare Strukturänderung eine unspezifische Reaktion des Mesenchyms sein kann.

Nach den bisherigen Untersuchungen kann auch noch nicht sicher entschieden werden, ob die Zunahme der Anisotropie auf reeller Faser Vermehrung, oder lediglich auf verschiedenen Quellungszuständen beruht, welch letzteres wahrscheinlicher zu sein scheint.

Zusammenfassung.

1. In der amyloiden Substanz jeder Art (allgemeines, Paramyloid, experimentelles und Drusenamyloid des Gehirns) konnte Doppelbrechung nachgewiesen werden.

2. Die Doppelbrechung ist in mit Kongorot und mit polychromem Methylenblau gefärbten Präparaten besonders gut zu erkennen. Sie erscheint bei ersteren grün, bei letzteren rot.

3. Die Doppelbrechung bedeutet Form- und Eigendoppelbrechung zusammen. Der Gangunterschied der Eigendoppelbrechung betrug in 15 μ dicken Präparaten einer amyloidhaltigen Pferdeleber 13,8 m μ .

4. Form- und Eigendoppelbrechung haben positiven Charakter.

5. Durch Einwirkung von Nelkenöl oder Sumachextrakt läßt sich die zunächst positive in negative Doppelbrechung umkehren.

6. Im van Gieson-Präparat lassen sich im Amyloid rot gefärbte Faserstrukturen erkennen.

7. Der Doppelbrechung im Amyloid liegen daher maskierte Fasern zugrunde.

8. In Organschnitten von Mäusen, die im Amyloidversuch standen, kann schon vor dem Auftreten der Amyloidablagerung eine Zunahme des Gangunterschiedes der Doppelbrechung nachgewiesen werden.

Literatur.

BOHLE, HARTMANN u. POLA: Klin. Wschr. 1950, 106. — DIVRY: (1) J. belge Neur. 9, 1 (1927). — (2) C. r. Soc. Biol. Paris 97 (1927). — (3) J. belge Neur. 1934, No 3, 197. — (4) J. belge Neur. 1936, No 1, 24. — (5) J. belge Neur. 1939, No 6, 444. — (6) J. belge Neur. 1940, No 7, 331. — (7) J. belge Neur. 1941/42, No 5/6, 1. — EBERT: Virchows Arch. 216, 77 (1914). — GÖTZE u. KRÜCKE: Arch. f. Psychiatr. 114, 183 (1941). — HASS and SCHULZ: Arch. of Path. 30, 240 (1940). — HIGUCHI: Virchows Arch. 279, 538 (1931). — JOHANNSEN: Klin. Wschr. 1949. — KING: Amer. J. Path. 24, 1095 (1948). — KRÜCKE: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. 185, 165 (1950). — LADEWIG: Nature (Lond.) 1945, No 3951, 81. — LETTERER: (1) Beitr. path. Anat. 75, 538 (1926). — (2) Dtsch. med. Wschr. 1950, 15. — MAISS: Diss. Tübingen 1950. — MISSMAHL: Virchows Arch. 318, 518 (1950). — OTT u. SCHNEI-

DER: Z. exper. Med. **116**, 545 (1951). — PETERS: Virchows Arch. **231**, 467 (1921). — ROMHANY: (1) Ref. Zbl. Path. **80**, 943. — (2) Schweiz. Z. Path. u. Bakter. **12**, 235 (1949). — ROULET: Erg. Path. **32**, 1 (1937). — SCHMIDT, W. J.: (1) Methodik der wissenschaftlichen Biologie. Berlin: Springer 1928. — (2) ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Bd. 2/2. Berlin: Gebrüder Bornträger 1932. — (3) Ber. oberhess. Ges. Naturwiss. u. Heilk., N. F. Naturwiss. Abt. **23** (1947).

Dr. HANS-PETER MISSMAHL,
Medizinische Klinik der Universität Tübingen.
