

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. C. KRAUSPE).

Ultraviolett-Studien an pathologischen Eiweißkörpern*.

Von

JÜRGEN MEYER-ARENDT.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Dezember 1954.)

BOLCK und ARNDT haben kürzlich für die Verfolgung von Problemen der serösen Entzündung 3 Wege genannt: die physikalisch-chemische Analyse ihrer Stoffwechselerscheinungen, die morphologische Betrachtung ihrer Erscheinungsformen und Wirkungen und 3. die Aufklärung kausaler und pathogenetischer Beziehungen. Diese Einteilung dürfte eine ganz allgemeine Geltung für Forschungsprobleme der pathologischen Anatomie beanspruchen. Die vorliegende Arbeit, der die Dissertationen von OTTO JURSCH, LOTHAR MAASS, JUTTA RALL, BARBARA SCHMIDT, ROLF TESCH und HERMANN WULF zugrunde liegen, beruht auf dem zuerst genannten methodologischen Prinzip, der physikalisch-chemischen Analyse von Stoffwechselvorgängen, und schließt sich damit an die Untersuchungen an, die ich unter ähnlichen Gesichtspunkten über den Milzstoffwechsel und über den Ablauf der serösen Entzündung in diesem Archiv veröffentlicht habe (1952a, 1953 b, i). Darüber hinaus sollen hier aber auch andere Eiweißkörper, die teils schon normalerweise im Gewebe vorkommen, teils erst unter pathologischen Bedingungen dort vorhanden sind, in die Untersuchung einbezogen werden. Diese Arbeit möge deshalb als ein Versuch angesehen werden, wenn auch nur von einem sehr eng begrenzten Aspekt her, an die grundlegenden Ausführungen von KURT APITZ (1940) anzuknüpfen.

Insoweit bedarf der Begriff „pathologische Eiweißkörper“, wie er im Titel benutzt wird, zunächst einer Erläuterung. Dieser Begriff deckt sich nicht mit dem Begriff der Paraproteine oder überhaupt der abartigen Eiweißkörper, wie er mittlerweile zu einem festen Bestandteil der pathologischen Anatomie geworden ist. Er umfaßt hier vielmehr alle Eiweiße, die in einer solchen Ausdehnung im Gewebeverband vorliegen, daß sie uv-photometrisch ohne weiteres erfaßt werden konnten, und schließt Eiweißansammlungen von Art der Ödeme, Hyaline, Amyloide,

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

kolloidähnlicher Massen und einiger altersbedingter Umsetzungsprodukte ein.

Methodik. Bezuglich der Methodik der Absorptionsanalyse im ultravioletten Spektralbereich sei hier lediglich auf die umfassenden Arbeiten von CASPERSSON sowie auf die Arbeiten des Verfassers (1952 e, f; 1953 b, g; 1954 h) und seiner Mitarbeiter BAYER, E. MEYER-ARENDE, E. ROTTMANN und TESCH hingewiesen. Im allgemeinen wurde für die UV-Messungen ein Zeiss-Spektralphotometer mit Quarzmonochromator und Sekundärelektronenvervielfacher verwendet. Die mikroskopischen Messungen erfolgten über ein Reflexionsmikroskop. Als Lichtquelle dienten eine Wasserstoff- wie auch eine Quecksilberhochdrucklampe. Die Vorbereitung der histologischen Präparate geschah wie in 1953 b beschrieben. Eine weitergehende Diskussion über die zweckmäßigste Art der Fixierung von Eiweißen für die UV-Analyse findet sich in einer Arbeit von MEYER-ARENDE, v. TROTT, PAPE und BONK.

Das Untersuchungsmaterial entstammte in erster Linie dem Obduktionsgut des Pathologischen Instituts der Universität Hamburg. Außerdem wurden Gewebeproben zur Verfügung gestellt aus dem Einsendungsmaterial vom Direktor des Instituts, Herrn Prof. KRAUSPE, sowie von Herrn Prof. FRITZ, Gerichtsmedizinisches Institut der Universität Hamburg, von Herrn Prof. HOEPKE, Anatomisches Institut der Universität Heidelberg, von Herrn Prof. MYLIUS, Augenklinik des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck, von Herrn Doz. Dr. BECKER, Pathologisches Institut der Freien Universität Berlin, und von Herrn Doz. Dr. KÜCHMEISTER, II. Medizinische Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf, denen allen ich an dieser Stelle nochmals danke.

Mit der Abb. 1, die — schematisierend — einige typische Extinktionsdiagramme von Eiweißkörpern zeigt, mögen die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeit schon hier vorweggenommen werden. Diese Abbildung zeigt drei verschiedene „Typen“ von orthologischen und pathologischen Eiweißen, jedenfalls Typen, soweit sie sich mit Hilfe der UV-Absorptionsspektralanalyse voneinander abgrenzen lassen.

Kurve 1 zeigt die Absorption reiner Eiweißkörper mit hohem Gehalt an aromatischen Aminosäuren wie Tryptophan und Tyrosin. Das Extinktionsmaximum liegt etwa bei $280 \text{ m}\mu$. Eine derartige Absorption fand sich im Blutserum, im entzündlichen Ödem der serösen Entzündung, im Pankreassekret und -ödem, in der Linse des gesunden und des kataraktkranken Auges, im Hyalin wie im Amyloid des Stimmbandes,

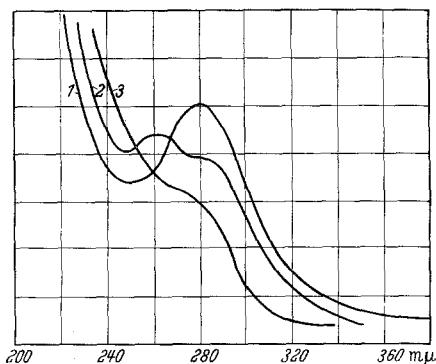


Abb. 1. UV-Extinktionsdiagramme von Eiweißkörpern. Die wiedergegebenen Kurven sind typische Extinktionsdiagramme, die aus zahlreichen Einzelmessungen zusammengezogen wurden und die charakteristische Absorption von Serumeiweißen (1), nucleotidhaltigen Eiweißen (2) und Eiweißen mit nur geringem Gehalt an aromatischen Aminosäuren (3) zeigen. Näheres im Text.

im typischen Amyloid z. B. der Leber und im Kolloid des Hypophysenzwischenlappens.

Kurve 2 weist ebenfalls auf das Vorhandensein von Eiweißen vom Typ der Serumglobuline oder -albumine hin. Daneben bestehen aber Beimischungen von Polynucleotiden, die neben dem Gipfel bei $280\text{ m}\mu$ einen 2. Absorptionsgipfel etwa bei $260\text{ m}\mu$ bedingen. Ein solcher Befund ließ sich im Ödem des Walkersarkoms der Ratte, im Inhalt einer Pankreascyste und zum Teil auch im Hyalin in Stimmbandpolypen erheben, und zwar offenbar, naturgemäß, dann, wenn bei der Messung Zelltrümmer miterfaßt wurden.

Kurve 3 läßt überhaupt keine signifikante Absorption erkennen. Dieser Fall lag, auch durch makroskopische Messung gesichert, lediglich im Hyalin der Corpora albicantia des Ovars vor.

Es folgen jetzt die Befunde im einzelnen. Bei allen untersuchten Präparaten handelt es sich um solche, die verhältnismäßig großflächige Ansammlungen von Eiweißen enthalten. Mit dieser Beschränkung, die durch die besonderen Eigenschaften der benutzten Apparatur bedingt ist, erreicht der Analysengang eine ganz wesentlich höhere Genauigkeit und Reproduzierbarkeit. Die folgende Übersicht, die nicht systematisch geordnet ist, enthält naturgemäß nur einen Ausschnitt aus der Menge der an sich möglichen Eiweißabscheidungen dieser Art im menschlichen Organismus. So fehlen beispielsweise alle Messungen am Kolloid der Schilddrüsenfollikel und auch an anderen eiweißhaltigen Gebilden ähnlicher Größenordnung.

a) Die Absorptionskurve von *Blutserum* ist das hauptsächliche Beispiel für eine Absorption vom Typ der Kurve 1 (Abb. 1). Diese Tatsache ergibt sich aus den in der Literatur enthaltenen Mitteilungen wie auch aus zahlreichen eigenen Messungen. Für die vorliegende Fragestellung, die nur an Schnittpräparaten zu erhebende Befunde berücksichtigt, heißt das, daß alle serösen Insudationen, wie sie beispielsweise in der Nachbarschaft der Gefäße bei Verbrennungen, bei Luftembolie, in Aufquellungen der Gefäßinnenhaut und bei zahlreichen anderen pathologischen Vorgängen zustande kommen, ebenso diesem Typ 1 der wiedergegebenen Absorptionskurven entsprechen.

b) Als Sonderform der einfachen serösen Insudation kann die Durchtränkung des Gewebes mit entzündlichem Exsudat oder Insudat bei der *serösen Entzündung* gelten. Ausführliche Untersuchungen zu dieser Frage finden sich in erster Linie in den Arbeiten von RÖSSLÉ sowie, in Hinsicht auf die UV-Messungen, beim Verfasser und Mitarbeitern (1953 b, i). Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die Absorptionswerte des entzündlichen serösen Exsudats ebenfalls vollkommen den Typ 1 der gezeigten Kurven repräsentieren. Das heißt, daß dieses entzündliche Exsudat bezüglich seiner Absorptionswerte mit dem

Blutserum identisch ist. Gegenüber dem einfachen Ödem bei Thrombose oder anderer mechanischer Kreislaufbehinderung bestehen lediglich quantitative Unterschiede insofern, als die serös-entzündliche Ödemflüssigkeit wesentlich eiweißreicher ist. Qualitative Unterschiede im Absorptionsbefund fanden sich nicht. Das eigentlich interessierende Problem bei der serösen Entzündung, worin sich nämlich das einfache Ödem vom serös-entzündlichen Ödem unterscheidet, lässt sich demnach durch vergleichende UV-Messungen nicht erfassen. Der prinzipielle Unterschied zwischen beiden Ödemformen besteht vielmehr, wie andernorts (1953 b) gezeigt, im Auftreten charakteristischer *Wirkstoffe*, die isoliert und an Hand ihrer biologischen Effekte definiert werden können.

c) Bei der Ödemflüssigkeit in einem experimentellen *Walkersarkom* der Ratte lagen die Verhältnisse anders. Hier handelte es sich um einen etwa 7 mm im Durchmesser großen, schwammig-feuchten und inwendig nekrotisch zerfallenen Tumor, dessen Schnittfläche, in der Peripherie der nekrotischen Bezirke, glasig und transparent aussah, wie es bei Walkersarkomen, die häufig ödematös durchtränkt sind, oft vorkommt. Der Tumor wurde möglichst schonend in Paraffin eingebettet. Die Ödemflüssigkeit lag, fixiert, als eiweißreiche Masse inmitten von ausgedehnten herdförmigen Ansammlungen atypischer Zellen, in denen zahlreiche Kernteilungsfiguren zu sehen waren. Sie erscheint im Hämatoxylin-Eosinpräparat als schwach rötlich gefärbtes „Hyalin“. UV-Messungen an 6 verschiedenen Stückchen aus diesem Tumor ergaben übereinstimmend die Form der *Kurve 2* (Abb. 1), d. h. ein ausgeprägtes Polynucleotidmaximum, das regelmäßig bei 2650 Å auftrat. Das Eiweißmaximum bei 2800 Å war meist wesentlich schwächer ausgeprägt als bei anderen Ödemflüssigkeiten. Diese unterschiedliche Form der Absorptionskurve lässt sich leicht erklären, teils durch einzelne, in das Ödem hineingeschwemmte Geschwulstzellen, die auch schon bei der gewöhnlichen mikroskopischen Durchmusterung zu sehen waren, teils durch Zellzerfallsprodukte, die vermutlich ebenfalls von den Geschwulstzellen herstammen und sich der Ödemflüssigkeit beigemischt haben könnten. Ob gerade rasch wachsende Geschwülste, besonders solche mit Neigung zu nekrotischem Zerfall, zu einer häufigeren Beimischung von Polynucleotiden zur Gewebsflüssigkeit neigen, ist nicht erwiesen, aber anzunehmen.

d) Beim experimentellen *Ödem des Pankreas* liegen die Dinge wieder ähnlich wie beim einfachen und beim entzündlichen Ödem. BECKER, dem ich einschlägiges Material verdanke, hat in Verfolgung der POPPER-schen Versuche zunächst den Pankreasausführungsgang einer Katze unterbunden. Nach halbstündlicher Gabe von Pilocarpin in einer Dosierung von 10 mg/kg konnten nach 1 $\frac{1}{2}$ Std sowohl Gangspeichel wie auch die sich interstitiell ansammelnde Ödemflüssigkeit getrennt

entnommen und in Capillaren aufgezogen werden. Die Absorptionskurven beider Flüssigkeiten sehen prinzipiell ähnlich aus. Bei beiden liegt das Maximum bei genau 278 m μ . Die Form der Kurven entspricht also dem Typ 1 im dargestellten Schema. Pankreassekret wie experimentell hervorgerufenes interstitielles Pankreasödem enthalten demnach offenbar Eiweißkörper von der Art der Serumglobuline mit reichlich Tryptophan und Tyrosin. Die Frage, ob normaler Gangspeichel und Pankreasödem von gleicher oder verschiedener Zusammensetzung sind, läßt sich nicht leicht beantworten. Der Eiweißgehalt in beiden Flüssigkeiten verhielt sich wie etwa 2:1. Das aus dem Interstitium abgesaugte Ödem enthält also deutlich weniger Eiweiß als der Gangspeichel. Das könnte bedeuten, daß dieses interstitielle Ödem sehr rasch entstanden ist und viel Wasser enthält, also aus Verdünnung (von Gangspeichel ? Serum ?) hervorgegangen ist und nicht aus einer besonderen Leistung des ortsständigen Gewebes. Bei dieser würde — wie bei der eigentlichen serösen Entzündung — der Eiweißgehalt höher sein.

e) Beim Inhalt einer *Pankreascyste* vom Menschen waren die Verhältnisse insofern unbefriedigend, als die UV-Messung eine Kurve vom Typ 2, also ein Gemisch von Eiweißen und Polynucleotiden, ergab. Es ließ sich demnach nicht ausschließen, daß in diesem Fall doch schon stärkere autolytische Veränderungen eingetreten waren, die zu einer Abschilferung und Beimischung des die Wand auskleidenden Epithels zum Cysteninhalt geführt haben könnten.

f) Ich möchte jetzt, nach Besprechung verschiedener Ödemformen, auf solche Eiweißabscheidungen eingehen, auf deren Entstehung oder besondere Ausprägung Altersvorgänge einen gewissen Einfluß ausüben können. An erster Stelle möge hier das Hyalin in den *Corpora albicantia der Ovarien* älterer Frauen genannt werden. Zur Analyse kamen Ovarien von zwei klimakterischen Frauen. Die etwa haselnußgroßen, in Formol fixierten Organe waren von fester Konsistenz und von unversehrter, mattglänzender Serosa überzogen. Sie boten keinen Anhalt für eine vorangegangene krankhafte Schädigung. Auf dem Durchschnitt sah man, neben dem grauweißen, von vielen Gefäßsträngen durchzogenen Bindegewebe des Markteils je ein, mehr an der Oberfläche gelegenes, grünlich-glasig schimmerndes Corpus albicans, das in dem einen Ovar etwa 3 mm, im anderen etwa 5 mm im Durchmesser groß war. Im histologischen Präparat, das für die vorangehende allgemeine Untersuchung mit Methylenblau gefärbt wurde, erkennt man neben verhältnismäßig kernreichem Bindegewebe und einer mäßig starken Gefäßhyalinose und -sklerose das ausgedehnte, wolkenartig durchscheinende Hyalin des Corpus albicans, innerhalb dessen einzelne Zellkerne eines feinen reticulären Bindegewebes liegen (Abb. 2). Für die UV-Analyse wurden einsteils, wie üblich, Schnittpräparate benutzt, die mikrosko-

pisch photometriert wurden. Von dem größeren Corpus albicans ließ sich außerdem eine Probe auch makroskopisch, d. h. direkt, ausmessen. Dadurch konnten die mikroskopischen UV-Befunde, die im übrigen fast völlig miteinander übereinstimmten, in zweckmäßiger Weise erhärtet werden. Die Absorptionskurve entspricht, im Gegensatz zu den bisher diskutierten Kurven, dem Typ 3 in Abb. 1. Das heißt, daß im Hyalin der Corpora albicantia Eiweiße oder ihre Bausteine Tryptophan, Tyrosin oder Phenylalanin wie auch Polynucleotide in nennenswertem Maße



Abb. 2. Ausgedehntes Corpus albicans des Ovars. Methylenblaufärbung.
Vergrößerung 57fach.

nicht vorhanden sind. Zwar ließe sich mit RATZENHOFER einwenden, daß bestimmte absorbierende chemische Körper teils durch Hitze denaturiert, teils in die Fixierungsflüssigkeit übergegangen sein könnten; dieser Verlust wäre aber dann bei allen Proben in gleicher Weise eingetreten. Die Absorptionskurve dieses Hyalins zeigt außerdem noch, daß ganz vereinzelte Zellen oder Zellkerne, auch wenn sie mikroskopisch in Erscheinung treten, die UV-Kurve doch nicht beeinflussen müssen. Das bedeutet, daß es sich bei dem verhältnismäßig hohen Nucleotidgehalt z. B. des Ödems beim Walkersarkom wohl vorwiegend um gelöste Nucleotidbeimischungen gehandelt haben dürfte.

g) Als weitere Altersveränderung möge an dieser Stelle das Auftreten der *Cataracta senilis* der Linse des menschlichen Auges genannt werden. Zunächst weist die gesunde Linse des Jugendlichen eine UV-Kurve vom Typ 1 auf, d. h. das Eiweiß der Linse besitzt gleiche Absorptionseigenschaften wie die meisten Eiweißkörper des menschlichen Körpers, insbesondere wie das Blutserum. Es enthält vor allem sehr reichlich Tyrosin, das gelegentlich, ebenso wie Leucin und Cholesterin,

in Form feiner Nadeln in der Linse ausfallen kann. Das Absorptionsmaximum lag regelmäßig bei 2780 Å. Im Alter, insbesondere beim Auftreten einer Cataracta senilis, kommt es nun in der Linse zu gewissen Synaireseerscheinungen, zu einer Verlagerung und Abspaltung von Wasser und zum Übergang einer wasserlöslichen Eiweißfraktion in das wasserunlösliche sog. Albumoid, d. h. zu einer Präcipitation von Eiweiß. Gleichzeitig werden mit zunehmendem Alter die einzelnen Fasern der Linse härter und ihr Vermögen, Wasser zu binden, geringer. Mit fortschreitender Sklerosierung nimmt also der Gehalt an interfibrillärer freier Gewebsflüssigkeit zu. Weitere UV-Analysen, von denen MAASS und MEYER-ARENDT insgesamt 38 an 10 operativ gewonnenen Linsen ausgeführt haben, zeigen, daß mit fortschreitender seniler Cataract die Form der Absorptionskurve prinzipiell erhalten bleibt. Insbesondere das Maximum bleibt bei 278 m μ bestehen, so daß wesentliche quantitative Verschiebungen im Aminosäurenbestand — sofern uv-photometrisch erfaßbar —, wie sie von GOLDSCHMIDT angenommen wurden, ausgeschlossen werden können. Allerdings ist die Absorptionskurve des Altersstars insofern anders als die der jugendlichen Linse, als das Maximum grundsätzlich niedriger, das Minimum höher und die Extinktion im sichtbaren Licht ebenfalls höher liegen; diese Veränderungen beruhen aber auf einer Zunahme der nicht durch echte Absorption bedingten unspezifischen und uncharakteristischen Lichtstreuung und sind damit ein Ausdruck der obengenannten kolloidchemischen Zustandsänderungen des Linseneiweißes.

h) Als Altersveränderung kann man in gewisser Hinsicht auch die Entmischungsvorgänge in der Knorpelgrundsubstanz auffassen, die bei der *Arthrosis deformans* einzutreten pflegen. Nach Untersuchungen von FISCHER-WASELS und MEYER-ARENDT nimmt in diesen Fällen besonders in den Territorien die Basophilie der Knorpelgrundsubstanz ab. Die Hotchkiss-Färbung, ausgeführt nach völlig wasserfreier Entkalkung, fällt in den Knorpelterritorien weißlich-gelb bis farblos, im interterritorialen Gebiet dagegen intensiv rot aus. Das weist auf das Vorhandensein von Polysacchariden an diesen Stellen hin. UV-Messungen zeigen, daß bei der Arthrosis deformans vor allem im Zentrum der Territorien die UV-Absorption abnimmt. Dieser Befund war bei der Wellenlänge $\lambda = 2537$ Å am deutlichsten ausgeprägt. Die Orte verminderter UV-Absorption sind weiterhin durch einen teilweisen Verlust der metachromatischen Färbbarkeit und durch eine Ausschwemmung von Chondroitinschwefelsäure gekennzeichnet. Da nun Chondroitinschwefelsäure am Ort der Extinktionsmaxima von Tryptophan, Tyrosin und Adenin selbst nicht wesentlich absorbiert, kann man aus diesem Befund darauf schließen, daß Chondroitinschwefelsäure nicht

als solche, sondern stets nur als Eiweißkomplexverbindung, als Chondroproteid, aus dem Gewebe ausgeschwemmt werden kann. Erst dadurch kommt es dann zur Abnahme der metachromatischen Färbbarkeit des Knorpels an diesen Stellen.

i) Nach der Besprechung dieser mit Altersvorgängen in Zusammenhang stehenden Eiweißkörper soll ein Teil derjenigen Körperprodukte behandelt werden, die sich um die Begriffe Hyalin und Amyloid

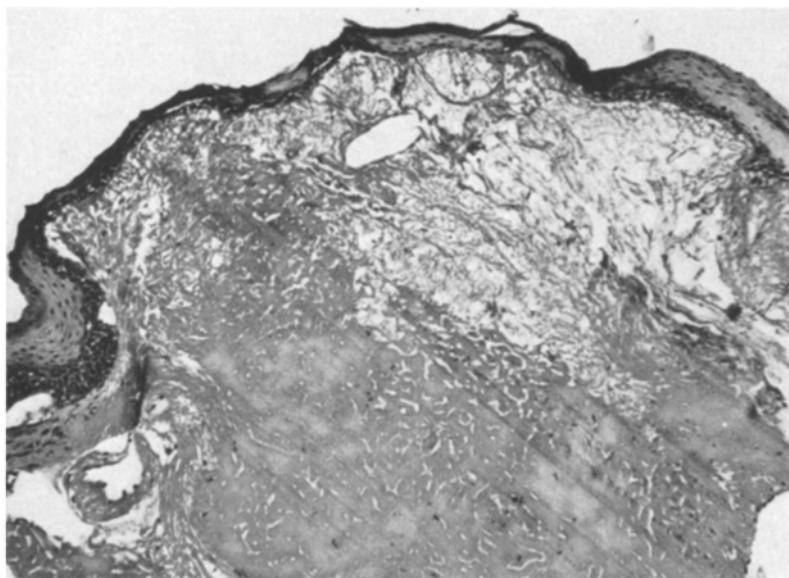


Abb. 3. Hyaline Eiweißabscheidungen in einem Schleimhautpolyp des Kehlkopfes. Hämalaun-Eosin (Eiweiß rötlich). Vergrößerung 76fach.

gruppieren. Hier seien als erstes die *hyalinen Eiweißmassen* genannt, die sich häufig in *Stimmbandpolypen* vorfinden. Zur Untersuchung kamen 40 in Formol fixierte derartige Stimmbandpolypen, von denen sich für die UV-Messung 10 als geeignet erwiesen. In allen Fällen handelte es sich um einfache Schleimhautpolypen mit häufig erweiterten und vermehrten Blutgefäßen, alten Blutungen, mehr oder weniger starker ödematöser Durchtränkung des Stromas und mit meist hochgradiger Ablagerung homogen-glasiger hyaliner Eiweißmassen im Zwischengewebe. Mit Hämatoxylin-Eosin färben sich diese Massen hell rötlich. In ihrem Innern sieht man gelegentlich vereinzelte Zellen oder Zellkerne liegen (Abb. 3). Bei 6 Präparaten folgte der Verlauf der Absorptionskurve eindeutig dem Typ 1 (Abb. 1) und ließ damit keinen photometrisch erfassbaren Unterschied zwischen diesen Eiweißen und

den Eiweißen des Blutserums bzw. des chronischen Ödems erkennen. Das Vorhandensein von weiten Blutgefäßen, fibrinreichen Plasmaabscheidungen aus den Gefäßen, von Ablagerungen von Blutpigment und das Vorhandensein von Gefäßthromben sprechen ebenso für die Herkunft dieser hyalinen Eiweißmassen aus der Blutbahn wie der UV-Befund. Es sei schon hier erwähnt, daß RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN an Gewebshyalinen zu gleichen Ergebnissen kamen. Wesentliche Unterschiede zwischen Hyalinen verschiedener Herkunft fanden sie nicht. Gelegentlich gelingt allerdings der spektrographische Nachweis von aromatischen Aminosäuren, da deren Absorption durch Enolabsorption überdeckt sein kann, erst nach Denaturierung des Hyalins. An 4 weiteren Präparaten von Stimmbandpolypen trat außer dem für Tyrosin-Tryptophan-Phenylalanin charakteristischen Maximum bei etwa 2800 Å ein weiteres Maximum bei 2650 Å auf. Der Verlauf der Kurve entsprach damit dem obengenannten Typ 2. Dieser Verlauf ist wiederum durch das Vorhandensein von Polynucleotiden, also von Zellzerfallsprodukten, bedingt. — Diese Befunde lassen daran denken, daß es sich bei allen erkennbaren Phasen der Bildung von Hyalin, beim akuten und chronischen Ödem und der Bildung hyaliner Tropfen bis zur Entwicklung grobscholliger Hyalinmassen, offenbar stets um Eiweiße gleicher oder ähnlicher Zusammensetzung handelt, die lediglich einen physikalisch-chemischen Polymerisations- und Alterungsprozeß durchmachen. Das gilt auch von dem noch näher zu besprechenden Amyloid.

k) Wegen der ähnlichen örtlichen Lage sei jetzt eine Beobachtung eines *Amyloidknotens des Rachens* besprochen. Dieser Knoten wurde unter der Verdachtsdiagnose Lipom einem 42jährigen, sonst gesunden Mann aus dem Bereich des linken Seitenstranges entfernt, wo er vom Tubenwulst bis in den Mesopharynx reichte, und kam in Formol fixiert zur näheren Untersuchung. Das derbe, gelblich-transparent durchscheinende Gebilde ließ im mikroskopischen Präparat unter dem Epithel eine sehr hochgradige, teils homogene, teils zwiebelschalenartige Ablagerung von Eiweißmassen erkennen, wie man sie beim sog. lokalen Amyloidtumor sieht (Abb. 4). An einzelnen Stellen waren die Eiweißmassen verkalkt. Sie färbten sich mit Hämalaun-Eosin ungleichmäßig blau- bis rotviolett, mit Massons Trichrom und mit Azan im allgemeinen blau, mit Kongorot rötlich und mit Methylviolett und Kresylechtviolett blau, aber nicht metachromatisch. Die Fibrinfärbung nach WEIGERT, der Schleimnachweis mit Mucicarmin sowie die Jod- und die Jod-schwefelsäurereaktion auf Amyloid fielen negativ aus. Die UV-Analyse, an 4 verschiedenen Stellen des Knotens ausgeführt, ergab ein zwar schwaches und von Streueffekten gestörtes, aber doch erkennbares Maximum bei 280 m μ und einen Kurvenverlauf wie in Typ 1 in Abb. 1.

Auch hier zeigt sich also die enge Beziehung dieses Amyloids zu Eiweißen von der Art der Serumglobuline mit reichlichem Gehalt an Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin.

l) Ganz ähnlich wie beim eben besprochenen lokalen Amyloid des Rachens liegen die Verhältnisse bei der *allgemeinen Amyloidose*. Auch hier fand sich eine Absorptionskurve vom Typ I, d. h. eine für polynukleotidfreie Eiweiße bzw. für aromatische Aminosäuren charakteristische Form. Neben anderem Material kam insbesondere ein Fall

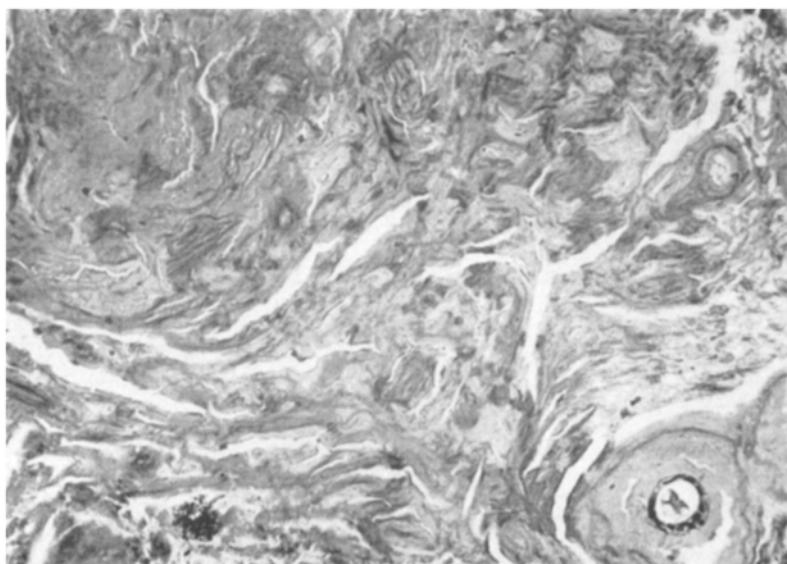


Abb. 4. Geschichtete Eiweißniederschläge in einem Amyloidknoten im Seitenstrang des Mesopharynx (E 3844/53). Trichromfärbung nach MASSON. Vergrößerung 108fach.

von sehr ausgedehnter allgemeiner Amyloidose bei langdauernder Wirbelsäulentuberkulose zur uv-photometrischen Untersuchung. Alle in Frage kommenden Organe zeigten das Bild der hochgradigen Einlagerung von Amyloid. Die Milz wies den typischen Befund des Pulpamyeloids auf und auch die Leber bestand, wie sich mikroskopisch bestätigte, stellenweise, in Flächen von mehreren Millimetern Ausdehnung, ausschließlich aus Amyloidmasse, ohne irgendeine Beimischung von Zellen oder anderen Gewebebestandteilen. Abb. 5 gibt hiervon nur eine geringe Vorstellung, da hier absichtlich der Rand eines derartigen Amyloidbezirks aufgenommen wurde. Die ungewöhnlich große Ausdehnung von reinem und völlig zellfreiem Amyloid erlaubte wiederum die „makroskopische“, ohne das Reflexionsmikroskop ausgeführte, UV-Messung dieses Materials. Der erhobene Befund von Tyrosin-Tryptophanhaltigem Eiweiß wurde eingangs bereits genannt.

m) Bekanntlich wird die Amyloidsubstanz durch Azan, Kresylechtviolett oder Massons Trichromfarbstoff häufig in zweierlei Färbung, beispielsweise rötlich und blau, dargestellt. Auf ähnliche Beobachtungen von HAITINGER und GEISER bei Fluorochromierung mit Thiazinrot-Euchrysin sei hier nur hingewiesen. Nach diesen sei das zentral gelegene grün fluoreszierende Amyloid älter als das periphere von brauner Fluoreszenz. Nach MISSMAHL hängt aber die Fluoreszenzfarbe der Amyloidsubstanz in diesen Fällen lediglich vom p_H der Fixierungsflüssigkeit

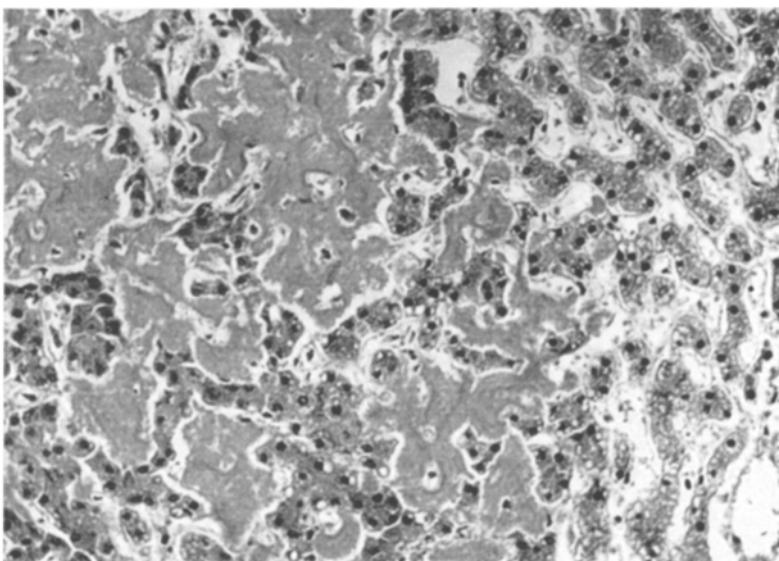


Abb. 5. Amyloid der Leber in einem Fall von langdauernder Wirbelsäulentuberkulose.
Hämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 305fach.

ab, die hier nicht tief genug eingedrungen war und eine Schichtenbildung lediglich vorgetäuscht hatte. Besonders ausgeprägt fand ich diese Erscheinung der Zweifarbigkeit in einem Fall von lokalem *Amyloid der Luftröhre*, bei dem konzentrisch geschichtete Amyloidmassen in ihrem Zentrum durch Kresylechtviolett leuchtend rot, peripher jedoch blau angefärbt wurden. Ich habe diesen Fall seinerzeit (1952 e) nur spektrographisch bearbeiten können. Es ergab sich, daß auch hier das Absorptionsmaximum in der Nähe der 2804 Å-Quecksilberlinie lag und daß die verschiedenen gefärbten Anteile des Amyloids *keinen Unterschied* in der Schwärzung der Linien der Mikrospektrogramme ergaben.

n) Das Problem der Zweifarbigkeit eiweißhaltiger Gewebeprodukte tauchte auch beim *Kolloid der Zwischenzone der menschlichen Hypophyse* auf. Auch hier findet man häufig, vor allem bei Färbung mit Azocarmine-Anilinblau, daß ein Teil des Cysteninhalts im Hypophysenmittellappen

rot, ein anderer Teil blau gefärbt wird oder daß sogar azanrotes und azanblaues Kolloid nebeneinander in einer Cyste vorkommen. Ähnliches sieht man bei Färbung mit polychromem Methylenblau. Auch hier bestand also das Problem darin zu klären, ob diese beiden verschiedenen färbbaren Komponenten des Hypophysenkolloids sich grundsätzlich in ihrem chemischen Aufbau unterschieden oder nicht. KEMPE und MEYER-ARENDE sind dieser Frage in umfangreichen Untersuchungen an 80 Hypophysen aus den verschiedensten Altersklassen nachgegangen. Das Material kam stets nach Fixierung in Lanthannitrat-Essigsäure zur Analyse; ein Teil der Cysten konnte auch hier, in Anbetracht ihres gelegentlich großen Durchmessers, makroskopisch photometriert werden. Die Ergebnisse aller UV-Messungen, sowohl der an azanrotem wie an azanblauem Kolloid, und ebenso die makroskopischen Kontrollen waren von fast völliger Übereinstimmung: in jedem Fall fand sich die typische Extinktionskurve der Serumeiweißkörper (Typ 1) mit Vorhandensein von aromatischen Aminosäuren und mit einem ausgeprägten Maximum bei 2780 Å. Polynucleotide ließen sich im Kolloid des Hypophysenzwischenlappens photometrisch ausschließen. Dieser Befund zeigt einmal, daß das Hypophysenkolloid in der Hauptsache aus Eiweißen bzw. aus Polypeptiden bestimmter Art besteht und daß zweitens zwischen den verschiedenen färbbaren Anteilen des Kolloids offenbar keine tiefergehenden Unterschiede in der stofflichen Zusammensetzung bestehen, sondern lediglich Unterschiede im physikalisch-chemischen oder kolloidalen Aufbau.

o) Eine Schichtung aus unterschiedlich färbbarem Eiweißmaterial fand sich auch bei einer zufälligen Beobachtung eines *Eiweißsteins der Gallenblase* (1952 d). Es handelte sich um konzentrisch abgelagerte Eiweißpräcipitate, die einen offenbar stielgedrehten Polyp der Gallenblasenschleimhaut als Kern hatten. Die innersten Schichten färbten sich mit Azan bzw. mit Massons Trichromfarbstoff intensiv blau; dann folgte eine rot- bzw. blau-violette Schicht; die äußere Schale blieb ungefärbt bzw. sie wurde nach MASSON nur ganz schwach bläulich tingiert. Auch hier ließen UV-Mikrophotogramme, die bei verschiedenen Wellenlängen des UV-Bereiches angefertigt wurden, keinen Unterschied in der jeweiligen Extinktion der verschiedenen färbbaren Eiweißanteile erkennen. Man darf danach annehmen, daß die einzelnen, verschieden färbbaren Eiweißanteile nicht aus chemisch differenten Eiweißkörpern bestehen, sondern daß diese Farbeffekte wiederum nur auf physikalischen Faktoren, Alterungsvorgängen, veränderter Wasserbindung, beruhen.

p) Das Problem der Mehrfarbigkeit ausgeschwitzter Eiweißmassen trat auch auf bei einer Beobachtung eines von Kolloid durchsetzten *kleinzelligen Sarkoms* der Muskulatur, wie es ähnlich APITZ 1938 bei einem Lympho- und einem Retothelsarkom schon beschrieben hatte. Es

handelte sich um eine seit 6 Monaten bestehende Geschwulst in der Muskulatur der linken Wade bei einer Frau (A. B., Ch 1587/52). Mikroskopisch sah man eine breite Infiltration des kleinzelligen, verhältnismäßig uniformen Geschwulstgewebes zwischen die Muskelfasern und in das Unterhautfettgewebe hinein, wobei es an den Muskelfasern zu ausgedehnten degenerativen Erscheinungen kam. Angrenzend an untergehende Muskelfasern, gelegentlich aber auch inmitten normaler Muskulatur und ebenso in der Nähe mittelgroßer Gefäße fand sich eine ausgedehnte und weitverzweigte Insudation einer eiweißreichen geronnenen Flüssigkeit in das Gewebe, die sich mit Hämatoxylin-Eosin blaß rötlich, mit Pikrinsäure leuchtend gelb, nach MASSON rötlich-blau bis leuchtend blau und mit Azan rötlich-blauviolett, gelegentlich auch rein rötlich, an einzelnen Stellen aber auch intensiv gelb färbt. Zwischen den verschiedenen gefärbten Abschnitten sieht man alle Übergänge. Auch hier war kein Anhalt dafür zu finden, daß diesen verschiedenen Farbnuancen etwa andere als kolloidale Zustandsänderungen zugrunde lagen.

q) Mit gewissem Vorbehalt möge schließlich noch eine Beobachtung erwähnt werden, die ich zusammen mit SCHUMACHER gemacht habe (1952 k) und bei der man vielleicht zu einer anderen Meinung hinsichtlich der Bedeutung unterschiedlicher Farbeffekte kommen könnte. Es handelt sich um die Niere eines Hundes mit einer experimentell hervorgerufenen chronischen Glomerulonephritis mit nephrotischem Einschlag. Von den sehr zahlreichen Eiweißzylinern in den Kanälchenlichtungen blieben bei Massons Trichrom- und bei Azanfärbung einige Zylinder regelmäßig ungefärbt, während andere sich tiefrot darstellen ließen. Im Durchschnitt lagen die ungefärbten Zylinder näher dem Glomerulum, teilweise direkt im BOWMANSCHEN Kapselraum; die rot gefärbten fanden sich mehr in den Schaltstücken. Wir hatten seinerzeit den Eindruck, als sei in den azanrot färbbaren Zylindern, bei sonstiger Übereinstimmung, die Absorption bei der Hg-Linie 2537 Å stärker; das hätte für gewisse stoffliche Unterschiede zwischen beiden Formen und möglicherweise sogar für eine tubuläre Sekretion irgendwelcher Substanzen sprechen können.

Die Aufzählung dieser Einzelergebnisse zeigt, daß es möglich ist, gewissermaßen mehrere Typen von Eiweißkörpern voneinander zu trennen, die sich in ihren UV-Absorptionseigenschaften unterscheiden. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse wurde bereits in der Einleitung der Arbeit gegeben und soll hier nicht wiederholt werden. Die Betrachtung der in Abb. 1 wiedergegebenen Diagramme läßt aber darüber hinaus noch ein weiteres erkennen; sie zeigt nämlich trotz gewisser Erkenntnisse zugleich auch den nur sehr beschränkten Wert dieser Methode. Ganz streng genommen müßte man sogar zu dem Schluß kommen, daß alle diese Untersuchungen ein positives Ergebnis über-

haupt nicht erbracht haben, sofern man sich nämlich die Aufklärung signifikanter Unterschiede zwischen den einzelnen Eiweißen besonderer Herkunft oder Bedeutung versprochen hatte. Letzten Endes kehrt ja stets nur ein einziger Befund von UV-Absorption wieder, nämlich die charakteristische Form der Absorption von Eiweißen vom Typ der Serum eiweißkörper (sog. Kurve 1) mit einem Maximum bei 278—280 m μ und dem hohen Gehalt an aromatischen Aminosäuren Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin. Dieser Befund von reiner Eiweißabsorption ist entweder vorhanden (Kurve 1) oder er ist nicht vorhanden (Kurve 3) oder er ist überdeckt durch die gleichzeitige Anwesenheit von Polynucleotiden (Kurve 2). Quantitative UV-Analysen, die uns theoretisch hier weiterbringen könnten, sind an mikroskopischen Schnittpräparaten aus verschiedenen Gründen in der Regel nicht hinreichend zuverlässig. Trotz dieser Einwände mögen aber die vorliegenden Untersuchungen doch ganz allgemein zur Deutung histologischer Färbemethoden beitragen.

An dieser Stelle sei wiederum auf die schon erwähnte Arbeit von APITZ verwiesen. Schon dort heißt es bei der Bewertung histologischer Farbeffekte kritisch, daß vielen... färberischen Unterschieden ganz offensichtlich nicht chemische Unterschiede zugrunde liegen, sondern kolloidale Zustandsformen. Besonders die Trichromfärbung nach MASSON hängt sehr weitgehend vom Kolloidzustand ab. Wenn man dergestalt das Schwergewicht nicht auf chemische Zusammensetzungen, sondern auf physikalisch-chemische und kolloidale Aggregatzustände lege, sei man berechtigt, 2 Zustandsformen gegeneinander abzugrenzen, eine strukturierte Zustandsform gegenüber einer amorphen. Dabei können nach BUNGENBERG DE JONG unter strukturierten Zustandsformen sowohl eigentlich kristalline Körper wie auch diesen sehr nahe stehende Coacervate verstanden werden. Erst das Zusammenwirken physikalisch-optischer Methodik mit der klassischen histologischen Analyse können uns bei diesen Problemen weiterführen. So bemerkt APITZ bei der Besprechung der Plasmocytomiere, auch ohne damals Einblick in die Entwicklung dieser Meßverfahren haben zu können, ganz richtig, daß „hier... der histologische Befund eine Wiedererkennung erlaubt, die mit chemischen oder mikrochemischen Mitteln nicht möglich wäre“. Während, wie gezeigt, mit Hilfe der UV-Analyse keine Differenzierung zwischen Eiweißen besonderer biologischer Provenienz oder Bedeutung möglich erscheint, lassen sich beispielsweise serologisch mehrere Gruppen von Bence-Jones-Eiweiß unterscheiden, um nur diesen Typ von abartigen Eiweißen zu nennen. Das erfordert zweifellos eine gewisse Reserve gegenüber dem Wert der UV-Analyse in diesen speziellen Fällen. Daß wir von ähnlichen, im einzelnen aber ganz anders gearteten physikalisch-optischen Meßverfahren hier mehr

erwarten dürfen, ist gewissermaßen ein Motiv, um solche Verfahren überhaupt zu entwickeln, aber in Wahrheit zur Zeit nicht mehr als eine Hypothese.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit behandelt die UV-Eigenschaften einer Reihe von orthologischen und pathologischen Eiweißkörpern des menschlichen Körpers. Sie beschäftigt sich im einzelnen mit der UV-Absorption von Blutserum, serös-entzündlichem Exsudat, Ödemen und kolloidähnlichen Abscheidungen in Tumoren, dem interstitiellen Ödem und dem Inhalt einer Cyste des Pankreas, weiterhin mit den Corpora albicantia des Ovars, dem Knorpel bei Arthrosis deformans, dem Hyalin in Stimmbandpolypen, den Eiweißkörpern bei der allgemeinen Amyloidose und beim lokalen Amyloid der Luftröhre und des Rachens, dem Kolloid in der Hypophyse und mit Eiweißkonkrementen in Gallenblase und Niere.

UV-Analysen aus allen diesen Eiweißgebilden lassen zwar gewisse Unterschiede zwischen einigen Typen von Eiweißen erkennen; sie zeigen aber zugleich auch den verhältnismäßig begrenzten Wert des Verfahrens bei dieser Fragestellung.

Literatur.

- APITZ, K.: Virchows Arch. **302**, 434 (1938); **306**, 631 (1940). — BAYER, M.: Acta histochemica **1**, 146 (1954). — BECKER, V.: Verh. dtsch. Ges. Path. **38**, (1954). — BOLCK, F., u. J. ARNDT: Virchows Arch. **324**, 629 (1954). — BUNGENBERG DE JONG: Zit. nach APITZ 1940. — CASPERSSON, T.: Cell Growth and Cell Function. New York: W. W. Norton 1950. — FISCHER-WASELS, J., u. J. MEYER-ARENDT: Frankf. Z. Path. **64**, 252 (1953). — GOLDSCHMIDT, M.: Zit. nach v. SZILY. HAITINGER, M., u. P. GEISER: Virchows Arch. **312**, 116 (1944). — KEMPE, H. D., u. J. MEYER-ARENDT: Frankf. Z. Path. **65**, 1 (1954). — MAASS, L., u. J. MEYER-ARENDT: Graefes Arch. **155**, 492 (1954). — MEYER-ARENDT, E., and J. MEYER-ARENDT: Exper. Cell Res. (im Druck). — MEYER-ARENDT, J.: (a) Virchows Arch. **321**, 378 (1952). — (b) Virchows Arch. **323**, 351 (1953). — (c) Photogr. u. Forsch. **5**, 27 (1952). — (d) Zbl. Path. **89**, 29 (1952). — (e) Klin. Wschr. **1952**, 759. — (f) Mikroskopie (Wien) **7**, 396 (1952). — (g) Beitr. path. Anat. **113**, 388 (1953). — (h) Acta histochemica **1**, 15 (1954). — MEYER-ARENDT, J., u. J. RALL: (i) Virch. Arch. **324**, 351 (1953). — MEYER-ARENDT, J., u. H. H. SCHUMACHER: (k) Zbl. Path. **88**, 219 (1952). — MEYER-ARENDT, J., CL. v. TROTT, M. PAPE u. A. J. BONK: (l) Mikroskopie (Wien) **9**, 256 (1954). — MISSMAHL, H. P.: Virchows Arch. **318**, 518 (1950). — RATZENHOFER, M., u. E. SCHAUENSTEIN: Verh. dtsch. Ges. Path. **35**, 233 (1951). — RATZENHOFER, M., E. SCHAUENSTEIN u. W. BERNDT: Z. Krebsforsch. **58**, 198 (1952). — RÖSSLER, R.: Virchows Arch. **311**, 252 (1944). — Verh. dtsch. path. Ges. **1944**, 1. — ROTTMANN, E.: Acta histochemica **1**, 97 (1954). — SZILY, A. v.: In LUBARSCH-HENKES Handbuch der speziellen Anatomie und Histologie, Bd. II/3, S. 22 u. 43. Berlin: Springer 1937. — TESCH, R.: Acta histochemica **1**, 42 (1954).

Nachtrag. Erst nach Drucklegung dieser Arbeit erhielt ich Kenntnis von den sehr wertvollen quantitativen Messungen von RATZENHOFER und Mitarbeitern [Virchows Arch. 326, 135 (1954)], in denen die Verff. auch zum Einfluß von Formolfixierung und zur Bezeichnung bestimmter Eiweiße als vom „Typ der Serumglobuline“ Stellung nehmen. Zum ersten Punkt sei auf meine kürzlich erschienene Veröffentlichung über den Einfluß von Fixierung und UV-Bestrahlung auf die Absorption von Eiweißen [Mikroskopie 9, 256 (1954)] hingewiesen, nach der der Einfluß der Formolfixierung, jedenfalls auf Serum eiweiße, sich als geringfügig herausstellte. Bezüglich des zweiten Punktes vgl. CASPERSSON (a. angegeb. Ort, S. 62); in Hinsicht darauf wurde diese Bezeichnung als Simplifizierung und nicht als strenge Definition von Eiweißen bestimmter Art verwendet.

Prof. Dr. J. MEYER-ARENDE, Departamento de Histologia e Embriologia,
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Est. São Paulo), Brasilien.
