

Aus dem Pathologischen Institut der Karl-Marx-Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. G. HOLLE)

Bestimmung von Farbdifferenzen in der Pathologie

Von

HENNER KRUG

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Juni 1964)

I. Einleitung und Fragestellung

Eine große Rolle bei der makroskopischen Diagnostik in der pathologischen Anatomie spielt die Farbe von Organen und Geweben. Die Beschreibung des Farbcharakters erfolgt nach dem subjektiven Eindruck des Betrachters. Eine solche Beurteilung ist im allgemeinen ausreichend und genügt auch zur Verständigung. So bedarf es z. B. keiner physikalischen Methode, um festzustellen und mitzuteilen, daß die Leber bei einem Gallengangsverschluß ikterisch gefärbt ist. Anders liegen die Verhältnisse aber, wenn man untersuchen will, welche Beziehungen zwischen Dauer des Verschlusses und Ikterus bestehen. Hier ist die subjektive Beurteilung unzureichend. Durch farbmétrische Untersuchungen kann man nun eine Farbe physikalisch und sinnesphysiologisch eindeutig bestimmen. Jedoch sind die gewonnenen Werte nicht anschaulich genug, um — selbst bei Einarbeitung in die Farbsysteme — an Hand der Farbwerte zu einer Farbvorstellung zu kommen. Derartige Untersuchungen sind aber wertvoll und notwendig, wenn man innerhalb von Beobachtungsreihen Farbunterschiede an bestimmten Organen quantitativ erfassen will. Für solche Fälle und im Zusammenhang mit speziellen Untersuchungen, über die wir später berichten werden (KRUG und ZSCHOCH), haben wir eine Methode entwickelt, die ohne allzugroßen Aufwand definierte Aussagen über den Farbcharakter und über Farbänderungen ermöglicht.

Den Anstoß für die vorliegende Arbeit erhielten wir in unseren pathologisch-anatomischen Demonstrationen durch die Zurückhaltung der Kliniker unseren diagnostischen Schlüssen gegenüber, die wir aus Farbänderungen von Organen und Geweben ziehen.

II. Theoretische Voraussetzungen

Für unsere Untersuchung erschien es uns am geeignetsten, Reflexionsspektren aufzunehmen und sie nach dem internationalen CIE-System auszuwerten. In der uns zur Verfügung stehenden Literatur wurden derartige Untersuchungen zuerst in der Dissertation von LÜBBERS (unter Anleitung von SANDRITTER) beschrieben. Diese Arbeit ist uns allerdings erst nach Abschluß unserer Messungen bekannt geworden. Die farbmétrischen Untersuchungen beruhen auf folgendem Prinzip (s. bei RICHTER, KLAPPAUF, SCHULTZE): Die zu untersuchende Probe wird mit monochromatischem Licht beleuchtet, die reflektierte Lichtintensität photoelektrisch gemessen und auf die Lichtmenge bezogen, die in gleicher Anordnung von einem Normalbezugsweiß zurückgeworfen wird. Die von der Probe

reflektierte Lichtmenge, bezogen auf Weiß = 100%, heißt Remission. Man erhält so eine Remissionskurve in Abhängigkeit von der Wellenlänge (s. Abb. 4). Das internationale CIE-Farbsystem geht davon aus, daß man jede Farbe durch additive Mischung von drei hypothetischen Grundfarben X , Y , Z (Normvalenzen) darstellen kann. Aus der Remissionskurve kann man mit Hilfe von Tabellen (für verschiedene Beleuchtungen) die Farbwerte X , Y und Z berechnen und daraus

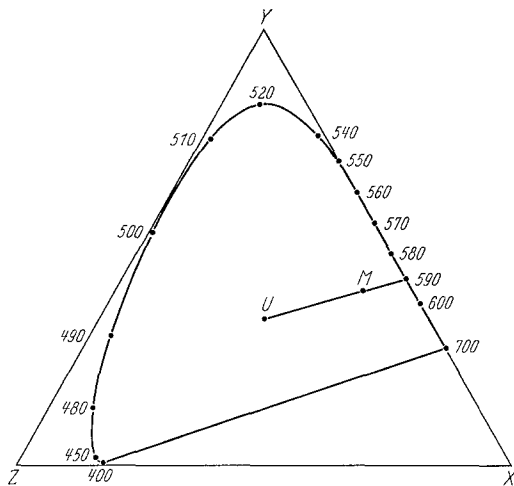


Abb. 1. Gleichseitiges Farbdreieck mit den hypothetischen Grundfarben X , Y und Z in den Ecken und dem Spektralfarbenzug, der alle möglichen Farben (gleicher Helligkeit) einschließt. U Weißpunkt (Unbunt). M Farbort in dem ausgemessenen Beispiel. Verlängerung von UM farbtongleiche Wellenlänge (590 nm)

die Farbwertanteile x , y und z unter der Voraussetzung $x + y + z = 1$. Die Farbe ist durch zwei Farbwertanteile, im allgemeinen x und y , gekennzeichnet. Die Helligkeit der Farbe kann durch den Farbwert Y , der der Helligkeitsempfindung des Auges entspricht, ausgedrückt werden. Durch die Farbwertanteile ist der Farbort im Farbdreieck (s. Abb. 1) festgelegt. Aus diesem kann man nunmehr auch zwei anschaulichere Kennzeichnungen der Farbe entnehmen, die Helmholtzkoordinaten: 1. Durch Verlängerung der Verbindungslinie zwischen dem Weißpunkt U (Unbunt) und dem Farbort M gelangt man auf den Spektralfarbenzug, der die tatsächlich

möglichen Farben einschließt. An dem Schnittpunkt liegt die *farbtongleiche Wellenlänge*. 2. Das Verhältnis Farbort-Weißpunkt: farbtongleiche Wellenlänge-Weißpunkt ist ein Ausdruck für *spektrale Sättigung* der Farbe.

III. Eigene vereinfachte reflexphotometrische Methode

Die auf den oben angegebenen Prinzipien beruhende Methode erfordert einen großen Aufwand. Für eine Remissionskurve im Bereiche der Tabellen sind bei einem Abstand von 10 nm 80 Messungen nötig, um die 40 Remissionswerte zu erhalten. Jeder Remissionswert muß dann mit drei Tabellenwerten multipliziert werden, und die drei Produktreihen sind zu addieren. Das Auswahlkoordinatenverfahren (Anleitung s. bei RICHTER und bei FALTA) verschafft zwar gewisse Rechenerleichterungen, ist aber immer noch aufwendig.

Unsere Versuche zeigen, daß es zur Erfassung von Farbunterschieden in vielen Fällen genügt, die Remissionen bei sechs Wellenlängen zu messen. Die Anordnung besteht aus folgenden Teilen (Abb. 2): Von einer magnetisch-stabilisierten 12 V—100 Watt Flachkernwendellampe gelangt das Licht über einen Kondensor in den Remissionsansatz $0/r$, der zum Universalspektrophotometer von Zeiss-Jena gehört. Zwischen Lampe und Remissionsaufsatz ist ein mit sechs Metallinterferenzfiltern bestückter Filterrevolver aufgestellt. Abb. 3 veranschaulicht den Strahlengang im Remissionsansatz, der für die diffuse Remission ein-

gerichtet ist. An der Oberseite des Ansatzes befindet sich ein Probenwechsler, mit dem in schneller Folge drei verschiedene Proben, darunter das Normalbezugsweiß, gemessen werden können. Das reflektierte Licht wird von einem Photo-

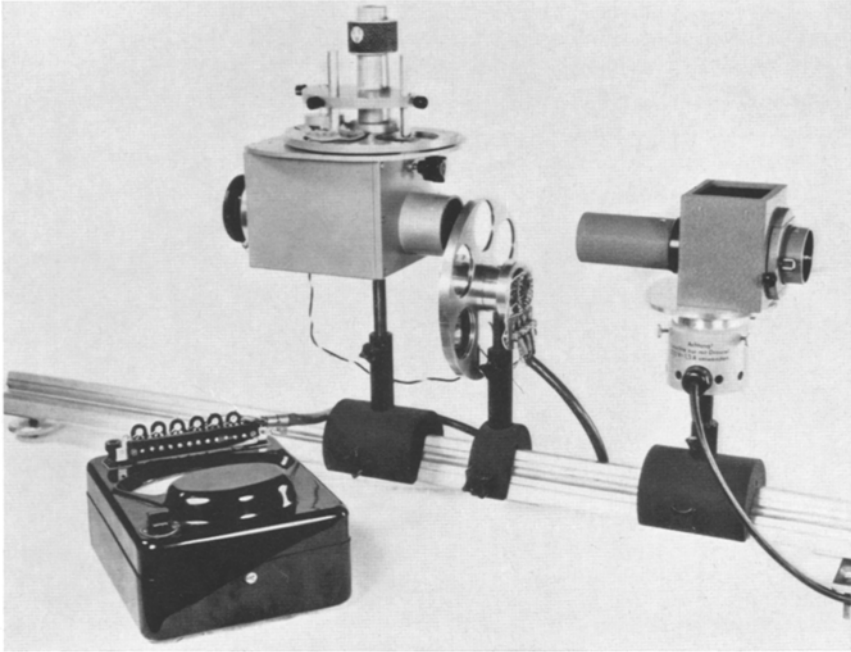


Abb. 2. Eigene Meßeinrichtung

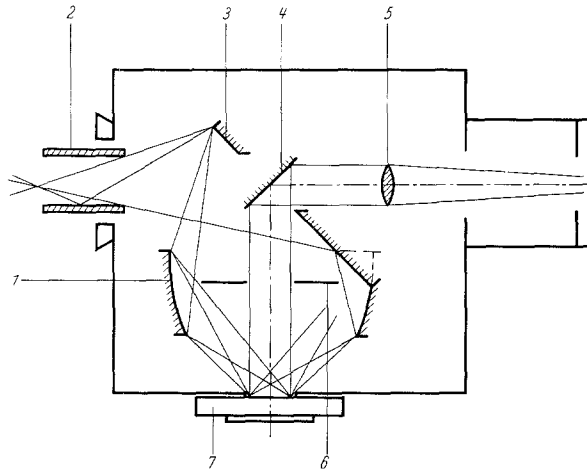


Abb. 3. Strahlengang im Remissionszusatz 0/r. Mit freundlicher Genehmigung des VEB Carl Zeiss Jena. 1 Ringspiegel; 2 Lichtleitrohr; 3 45°-Planspiegel; 4 45°-Spiegel; 5 Quarzlinse; 6 Blende; 7 Meßprobe

element erfaßt und mit einem Lichtmarkeninstrument ($3\ \mu\text{A}$) gemessen. Für jeden der sechs Filter ist das Meßinstrument durch einen Parallelwiderstand so geschuntet, daß sich bei Normalweiß immer ein voller Instrumentausschlag ergibt. Diese als Einstellpotentiometer ausgeführten Widerstände befinden sich an einer

Leiste zwischen den Eingangklemmen und werden automatisch mit der Drehung des Filterrevolvers eingeschaltet.

Bei der Messung wird der Probenwechsler auf dem Remissionsansatz mit der Probe und einer weißen Bezugsfläche beschickt. Mit Hilfe des Filterrevolvers lassen sich dann sehr schnell die von der weißen Fläche bei den verschiedenen Wellenlängen remittierten Lichtmengen feststellen. Dieser Vorgang wird wiederholt, nachdem man den Probenwechsler verschoben hat. Durch eine nochmalige Messung gegen Weiß wird ein eventueller Zeitgang des Photoelementes ausgeschaltet. Eine solche Messung ist in 10 min beendet. Eine gute Approximation hängt von der Auswahl der Filter entsprechend dem Verlauf der Remissionskurve ab. Deshalb muß man vor Beginn einer Untersuchungsserie mit gleicher Meßgeometrie eine lückenlose Remissionskurve, am besten mit einem Monochromator,

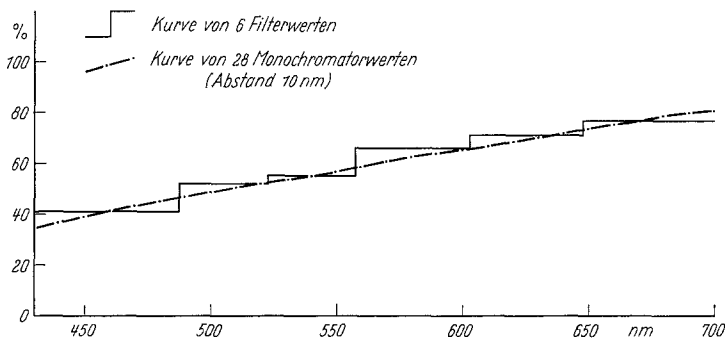


Abb. 4. Remissionskurven der Tabula externa eines normalen Schädeldaches. Weiteres s. Text

aufnehmen. Dies ist vor allem dann nötig, wenn man aus den Filterkurven Aussagen über die trichromatischen Farbmaßzahlen machen will. Am geeignetsten für unser Verfahren sind diejenigen Farben, deren Remissionskurven nur wenig Unstetigkeiten aufweisen. Ein günstiges Beispiel dafür sind die Remissionskurven (Abb. 4) der Tabula externa des Schädeldaches, an dem wir ausgedehnte Untersuchungen vorgenommen haben (KRUG u. ZSCHÖCH). Die strichpunktierte Linie stellt die mit dem Monochromator aufgenommene *wahre* Remissionskurve dar. Die ausgezogene Treppenkurve ist aus Messungen mit unserem Filterrevolver entstanden. Das Durchlaßmaximum (Schwerpunkt) der einzelnen Filter liegt etwa in der Mitte der Treppen. Man ersieht daraus, daß in den meisten Bereichen eine gute Annäherung erreicht ist. Für das Zeichnen der Filterkurve wurde der gesamte Spektralbereich in sechs Abschnitte unterteilt, in deren Mitte jeweils der Filterschwerpunkt liegt. Innerhalb eines Abschnittes ist der Remissionsverlauf abszissenparallel eingetragen. Das entspricht natürlich nicht der Wirklichkeit, wird aber ausgeglichen, wenn ein Teil der *wahren* Remissionskurve unter und ein anderer Teil über dem abszissenparallelen Filterkurvenabschnitt verläuft. Dies ist in Abb. 4 häufig der Fall. Die Vereinfachung der Remissionskurve auf die beschriebene Treppenkurve erleichtert die Berechnung der Farbwerte wesentlich. Man braucht nämlich jetzt nur noch jede der sechs Remissionen mit drei Zahlen zu multiplizieren und die drei Produktreihen zu addieren. Um die Multiplikatoren zu erhalten, muß man die Eichwerte des Spektrums der Normalbeleuchtung (Tabelle s. bei RICHTER und KLAPPAUF) innerhalb des Spektralbereiches, in

welchem man einen linearen Remissionsverlauf annimmt, addieren. Dies braucht für einen Filtersatz nur einmal vorgenommen zu werden, und es ergeben sich für jeden Filter die drei Werte

$$\sum_{\lambda_n}^{\lambda_{n'}} E_{\lambda} \bar{x}_{\lambda}, \quad \sum_{\lambda_n}^{\lambda_{n'}} E_{\lambda} \bar{y}_{\lambda}, \quad \sum_{\lambda_n}^{\lambda_{n'}} E_{\lambda} \bar{z}_{\lambda}.$$

Hierbei sind jeweils $\lambda_{n'}$ und λ_n die Grenzen des angenommenen linearen Transmissionsverlaufs. $\lambda_{n'}$ liegt zwischen den Schwerpunkten der Filter 1 und 2. Die Remissionswerte der einzelnen Filter werden mit den $\sum E$ -Werten multipliziert und die drei Farbwertreihen addiert. Auf diese Weise erhält man die Farbwerte und kann auch Farbwertanteile usw. ausrechnen. Wenn innerhalb der Vergleichsreihen starke Farbänderungen auftreten, die den prinzipiellen Verlauf der Remissionskurve wesentlich beeinflussen, dann wird das abgekürzte Verfahren ungenau. Andererseits kann man in einem solchen Falle auf ein physikalisches Verfahren verzichten. Es sind aber auch dann noch Aussagen möglich, indem nicht die trichromatischen Farbmaßzahlen, sondern einfach die Remissionen der verschiedenen Beobachtungen miteinander verglichen werden. Hier ist, abgesehen von der statistischen Sicherung, überhaupt keine Rechnung erforderlich, da man unmittelbar von den Meßwerten ausgeht. Der direkte Vergleich der Remissionswerte in größeren Versuchsreihen ist überhaupt ein zweckmäßiges, leicht durchzuführendes und aussagekräftiges Verfahren. Auf diese Weise kann man Farbunterschiede erfassen, die subjektiv oft als unsicher empfunden werden. Die farbmatischen Messungen sind zwar nicht gerade als Routineverfahren zu bezeichnen, aber man kann mit ihnen die Aussagekraft subjektiver Farbbeurteilung physikalisch untermauern.

Zusammenfassung

Ein vereinfachtes Verfahren zur reflexphotometrischen Farbmessung wird angegeben. Es eignet sich besonders für Vergleichsuntersuchungen bei größeren Reihen.

Measurements of Color Differences in Pathology

Summary

A simple technic is described for reflex color photometry. It is especially well adapted for comparative studies in large series.

Literatur

- FALTA, W.: Anleitung zur farbvalenzmetrischen Auswertung spektraler Verteilungen nach dem Auswahlordinatenverfahren mit Hilfe von Schablonen. Jena: Carl Zeiss Nachrichten 8, 283—308 (1960).
 KLAPPAUF, G.: Einführung in die Farbenlehre. Leipzig: Teubner 1949.
 KRUG, H., u. H. ZSCHOCH: Reflexphotometrische Untersuchungen zur Gelbfärbung des Schädeldaches bei Diabetes mellitus. Virchows Arch. path. Anat. **338**, 166—171 (1964).
 LÜBBERS, D.: Inaug.-Diss. Frankfurt 1961.
 RICHTER, M.: Farbbestimmung nach den neuen internationalen Grundlagen von 1931. Licht 4, 205—208, 231—236 (1934).
 — Grundriß der Farbenlehre der Gegenwart. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1940.
 SCHULTZE, W.: Farbenlehre und Farbmessung. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.