

Bei Materialmangel allerdings gewinnt auch die histochemische Untersuchung — die von mir bisher aus erkenntnistheoretischen Erwägungen vorgenommen wurde — Bedeutung.

Es wird weiterhin zu untersuchen sein, in welcher Art eine allmähliche Umwandlung von Blutfarbstoff im Blatt erfolgt.

In der *Wechselrede* beantwortet der Vortragende die Frage des Herrn *Schwarzacher*, in welcher Form Hg vorliege, dahin, daß es sich um Hg-Sulfid handle.

(Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Leipzig.
Direktor: Prof. *Kockel*.)

Neues zum Giftnachweis im Gewebe.

Von
Priv.-Doz. Dr. med et phil. Timm.

Mit 4 Textabbildungen.

Erfahrung und Theorie haben bisher gelehrt, auf die eigentliche Hauptaufgabe der Histochemie, den lokalisierten Nachweis chemischer Verbindungen im Gewebe und in der Zelle zu verzichten, und so hat sich die Histochemie immer mehr zu einer speziellen Mikrochemie des Gewebes entwickelt, die nach bestimmten Stoffen fahndet, ohne auf das Gewebe selbst Rücksicht zu nehmen. Hiermit soll nicht in Abrede gestellt werden, daß der Histochemie Erkenntnisse über den Ablauf von Stoffwechselvorgängen zu verdanken sind, die auf makroanalytischem Wege nur schwer oder gar nicht zu erbringen waren. In vielen Fällen mag der Nachweis eines Stoffes in einem Organ für die Lösung mancher Probleme schon vollauf genügen, und dann ist es lediglich eine Frage der zweckmäßigsten Technik, ob man sich makro- oder mikrochemischer Verfahren oder auch physikalisch-chemischer Methoden, z. B. der Funkenspektrophotographie u. dgl. bedient. Erreichbar ist aber mit allen diesen Verfahren — darüber muß man sich klar sein — immer nur ein ganz grober Überblick über die Verteilung eines Stoffes im Körper und Gewebe. Subtilere Einzelheiten, insbesondere Fragen nach der Lokalisation, dem Ort der Entstehung von Stoffwechselprodukten, der Angriffsstelle von Giften u. dgl. lassen sich hierdurch nicht sicher beantworten.

Bei den *Giften* im besonderen sucht die Pharmakologie den Angriffs-ort aus der Wirkung auf den lebenden Organismus zu ermitteln, während die Pathologie hierbei von der Formänderung der Organe und ihrer Zellen ausgeht. Ob aber in jedem Falle zwischen der Störung der

Lebensvorgänge und der Formänderung der Zelle ein direkter Zusammenhang besteht, bleibt dabei offen.

So ist es z. B. bisher nicht sicher entschieden, ob die Bleischrumpfniere eine Folge der toxischen Schädigung der feinsten Gefäße oder eine solche des Tubulusepithels ist, ferner, ob die mercuriale Colitis in einer direkten Schädigung des Dickdarmepithels oder nicht vielmehr in sekundären Ursachen begründet ist. Wir wissen im großen und ganzen über die feineren Einwirkungen von Giftstoffen auf die Organe und deren spezifische Zellen so gut wie nichts, selbst die Verteilung der Gifte in den einzelnen Organen und die intermediäre Ablagerung der Gifte in Depots, der Ort der Giftdepots bei chronischen Vergiftungen und der Anteil der verschiedenen Organe bei der Herausschaffung des Giftes aus dem Körper hat sich durch quantitative Analyse nur in großen Zügen andeuten lassen. Erschwert wird die Verwertung der mit den bisherigen Methoden gewonnenen Ergebnisse überdies dadurch, daß unsere Kenntnisse von den feineren Funktionen der Zellen in den Organen äußerst dürftig sind.

Die Beantwortung dieser und ähnlicher Fragen wird nur möglich sein, wenn es gelingt, bestimmte Stoffe im Gewebe und in der einzelnen Zelle so zur Darstellung zu bringen, daß aus ihrer sichtbaren Verteilung auf die Mitwirkung gewisser Zellen und Zellgruppen geschlossen werden kann.

Auf welchem Wege dies möglich ist, sollen die folgenden Ausführungen, und zwar durch den Nachweis der Lagerung des Quecksilbers bei Quecksilbervergiftung in der Niere zeigen.

Hierzu ist einiges vorauszuschicken. Die Auflösungsfähigkeit unserer Mikroskope ist an die Wellenlänge des Lichts gebunden: zwei Punkte, die weniger als eine halbe Wellenlänge auseinander liegen, können wir nicht mehr getrennt sehen, und damit können wir auch nicht mehr die Form eines Körpers erkennen, der in allen Richtungen praktisch kleiner als 1μ ist. Die Anwendung kurzweligen Lichts in Verbindung mit der Mikrophotographie hat bekanntlich auch nicht weitergeführt.

Die besten mikrochemischen Reaktionen lassen andererseits günstigstenfalls noch Mengen von $0,002 \gamma$ erfassen. Wenn es sich um feste Zellinhaltstoffe handelt, gelingt es indessen, noch ungefähr tausendfach kleinere Mengen nachzuweisen. So ist autochthone Stärke in den Chlorophyllkörnern noch in einer Menge von ungefähr $2 \cdot 10^{-6} \gamma$ auffindbar, jedes Körnchen hat etwa einen Durchmesser von 1μ .

Die Gewichtseinheit der Mikro- und Histochemie, das Gamma, $\gamma = \frac{1}{1000}$ mg, ist nach dem Bemerkten für zellmikrochemische Verhältnisse millionenfach zu groß. Wenn ein Würfel von 1μ Kantenlänge das Volumen von $1 c\mu$ hat, so ist das Wassergewicht dieses Würfels 1 Billiontel Gramm oder 1 Milliontel Gamma. Diese zellmikrochemische Gewichtseinheit sei im folgenden mit dem alten griechischen Buchstaben

Digamma = \mathcal{F} bezeichnet; sie steht so zu der mikroskopischen Längeneinheit μ im gleichen Verhältnis wie Gramm zu Zentimeter, und repräsentiert überdies eine leichter vorstellbare Größe als $10^{-6} \gamma$ und ähnliche Ausdrücke, deren Relation zum Längenmaß nicht klar zum Ausdruck kommt.

Angenommen, bei einer akuten Sublimatvergiftung sei 1 g Sublimat in einer Leber von 1500 g gleichmäßig verteilt und gespeichert, und die Leberzellen hätten alle die gleiche Größe $20 \cdot 20 \cdot 10 \mu$, so wären in einem Schnitt von 1 qcm und 10μ Dicke 250000 Zellen und $0,66 \mu$ Sublimat enthalten, und damit in jeder Leberzelle $2,6 \mathcal{F}$. Das Volumen dieser $2,6 \mathcal{F}$ Sublimat würde ungefähr $0,5 \text{ c}\mu$ betragen. An einer Stelle der 8000 mal größeren Leberzelle vereinigt, würde dieses Sublimatteilchen gerade noch eben sichtbar sein. Das Sublimat liegt aber in der Zelle als Eiweißverbindung überall verteilt. Nehmen wir nur an, daß die Teilchen $\frac{1}{10} \mu$ groß sind, dann wären in einer Leberzelle schon etwa 500 solcher Teilchen vorhanden. Jeder Versuch, Teilchen dieser Größe als solche sichtbar machen zu wollen, muß bei unseren bisherigen Hilfsmitteln aussichtslos erscheinen.

Es kommt indessen nicht darauf an, die Teilchen in ihrer Gestalt sichtbar zu machen, es genügt schon, ihre Anwesenheit indirekt festzustellen. Das gelingt bekanntlich mit dem Ultramikroskop, in dem Teilchen von einer unter der Abbildungsgrenze des Mikroskops liegenden Größe bei seitlicher Beleuchtung an der von ihnen hervorgerufenen Lichtbeugung erkannt werden können.

Schon bald nach der Konstruktion des Ultramikroskops wurde versucht, mit seiner Hilfe tiefere Einblicke in den Feinbau der Zellen zu gewinnen. Die Untersuchungen scheiterten daran, daß die Eiweißstoffe des Gewebes als Kolloide ebenfalls das Licht beugen und alle Feinheiten überstrahlen. Später haben sich *Hofmann* und vor allem *Voigt* des Ultramikroskops bedient, um kleinste Teilchen, kolloide Metalle u. dgl. im Gewebe zu erkennen. Auch bei diesen Untersuchungen war das Aufleuchten der Eiweißstoffe des Gewebes irreführend oder doch störend und konnte auch durch Einschalten von Mattscheiben in den Strahlengang der Lichtquelle nicht ausreichend gemindert werden.

Dieser Umstand mußte ganz besonders den ultramikroskopischen Nachweis des Quecksilbers beeinträchtigen und erschweren. Denn bei der Quecksilbervergiftung sind wegen der Löslichkeit des Quecksilberalbuminats vermutlich nur allerfeinste Teilchen in den Zellen zu erwarten, die durch das Aufleuchten der normalen Eiweißkörper im Dunkelfeld überstrahlt werden. Sichtbar werden die minutiösen Quecksilberpartikel erst dann, wenn es gelingt, die Beugung des Lichts an den Eiweißstoffen des Gewebes abzustellen, d. h. den Schnitt *optisch leer*

zu machen. Das ist möglich durch eine Imbibition des Gewebsschnittes mit einem Medium gleichhoher Brechung: alsdann leuchtet das Gewebe selbst nicht mehr, der Schnitt erscheint optisch leer, gleichmäßig dunkel, und nur alle Teilchen von anderer Brechung treten als leuchtende Punkte hervor.

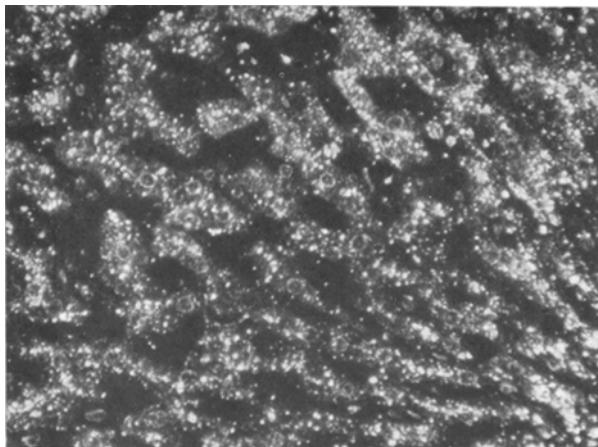


Abb. 1. Leber, Meerschweinchen. Quecksilberablagerung in den Zellen, Kerne gefärbt. Etwa 250:1.

chen und Scheibchen im Dunkelfeld hervor. Das mögen die folgenden Mikrophotogramme zeigen, denen gefärbte Gewebsschnitte zugrunde liegen, um die Orientierung zu erleichtern.

Wird eine lösliche Quecksilberverbindung in die Pfortaderwurzel gespritzt, so wird das Quecksilber von den Leberzellen abgefangen und hier in Albuminat umgewandelt (Abb. 1). Die Kupfferschen Sternzellen sind nicht bevorzugt, und in den Zellkernen sind Ablagerungen nicht zu erkennen.

Der größte Teil des Quecksilbers verlässt die Leber sehr schnell, wenig wird mit der Galle ausgeschieden, das übrige geht mit dem Blutstrom in den Körper über. Sogleich beginnt aber auch die Ausscheidung durch die Nieren. Abb. 2 zeigt die Niere eines Tieres, das während

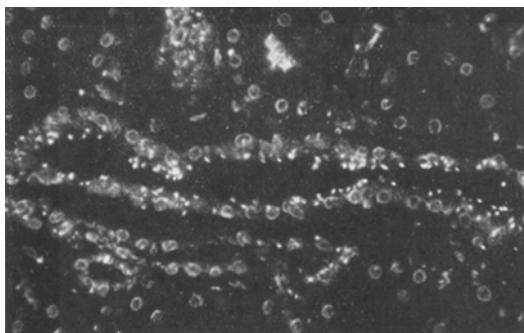


Abb. 2. Niere, Meerschweinchen. Quecksilberablagerung in einem Harnkanälchen. Kerne gefärbt. Etwa 250:1.

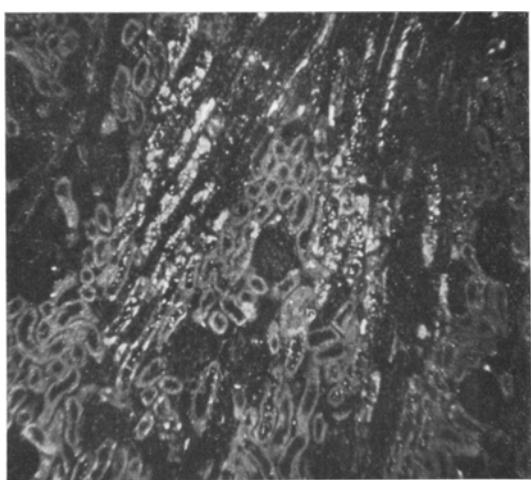


Abb. 3. Niere, Meerschweinchen. Akute Quecksilbervergiftung.
Etwa 60:1.

thelien der proximalen Abschnitte der Kanälchen noch nahezu frei von Quecksilberniederschlägen.

Im Gegensatz hierzu finden sich die Quecksilberablagerungen besonders in den proximalen Abschnitten bei akuten und subakuten

der Operation 2 Minuten nach Beginn der Einspritzung von 0,15 ccm Salyrgan, einer komplexen Quecksilber-Salicylsäureverbindung, in eine Mesenterialvene verendete. Es finden sich schon ausgeschiedene Quecksilberteilchen im Lumen der distalen Abschnitte des Nephrons, auch die Epithelien weisen hier feinste Einlagerungen auf. Dagegen sind die Glomeruli und die Epi-

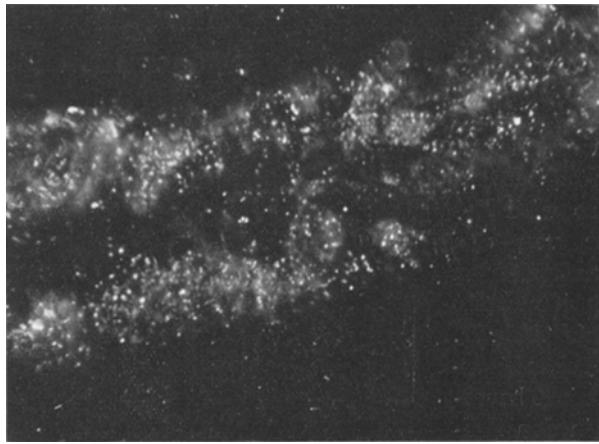


Abb. 4. Menschliche Niere. Akute Quecksilbervergiftung. Harnkanälchen mit Quecksilberablagerung. Etwa 800:1.

Sublimatvergiftungen. Abb. 3 zeigt die Verhältnisse in der Meerschweinchenniere 72 Stunden nach Einverleibung von 1,5 ccm Salyrgan, und Abb. 4 ein Harnkanälchen der Niere eines Menschen bei akuter

tödlicher Sublimatvergiftung von 12stündiger Dauer. Die Hauptmenge der Ablagerungen liegt hier im Anfangsteil der Harnkanälchen, aber auch in den Epithelien der Glomeruli zeigen sich feinste Einlagerungen. Ferner finden sich solche in den Endothelien der kleinen Blutgefäße und der die Kanälchen umspinnenden Capillaren; allerdings ist deren Menge im Vergleich zu den massigen Ablagerungen in den Zellen der Harnkanälchen äußerst gering.

Die Bilder zeigen, daß es gelingt, die Quecksilberablagerungen im Gewebe und in den Zellen sichtbar zu machen, und weiter, daß diese Ablagerungen äußerst fein sind, so daß sie im Hellfeld nicht erkannt werden können.

Histochemische Quecksilbernachweisverfahren sind verschiedentlich angegeben worden, so von *Almqvist, Christeller* und *Sammartino*. Gerade die letztgenannten haben alle irgendwie brauchbaren Fällungsmittel für Quecksilberionen untersucht und keine im Hellfeld sichtbaren Niederschläge im Gewebe erhalten können, und zwar zweifellos deshalb, weil die Niederschläge viel zu feinkörnig waren. Einen sichtbaren Niederschlag von Quecksilberverbindungen konnten sie erst erzielen, als sie entsprechend den Angaben von *Almqvist* mit stark sauren Fixierungsgemischen arbeiteten. Dadurch wird aber das Quecksilber an seinen ursprünglichen Lagerstätten gelöst und an beliebigen Stellen im Gewebe ausgefäßt, so daß ein Rückschuß auf die ursprüngliche Lokalisation unmöglich ist.

Den gerichtlichen Mediziner interessiert bei diesen Verfahren natürlich in erster Linie der Nachweis im Gewebe überhaupt, ferner die Aussicht, auf einfacherem und sichererem Wege, als die quantitative chemische Analyse es zu vermitteln vermag, die Verteilung und Lagerung des Giftes im Gewebe feststellen zu können. Das ist besonders wertvoll auch für die Gewerbepathologie.

Darüber hinaus bietet die ultramikroskopische Betrachtung des Gewebes im optisch leeren Schnitt neue Wege zur Erforschung der Wirkung von Giften auf den Organismus, und damit nicht nur für die Pathologie und Pharmakologie, sondern auch für die Anatomie und Physiologie die Möglichkeit, durch das Studium der Stoffwechsel- und Ausscheidungsvorgänge bei Metallvergiftungen in die Funktion der einzelnen Organe tiefer einzudringen, als es bisher mit Hilfe z. B. der Vitalfärbung möglich gewesen ist.

Zum Schluß noch einige kurze Bemerkungen über die Technik und Apparatur:

Bei der Empfindlichkeit des ultramikroskopischen Verfahrens gegenüber Staub und ähnlichen Verunreinigungen im Schnitt müssen alle verwendeten Lösungen peinlichst sauber sein. Ferner müssen Reagenzien vermieden werden, die selbst Niederschläge im Gewebe erzeugen oder Metallablagerungen umlösen können.

Als Fixierungsmittel kommt somit nur Alkohol in Frage. Entwässerung in aufsteigender Reihe, Einbettung in Paraffin auf üblichem Wege. Der Schnitt wird, um ihn optisch leer zu machen, in Brombenzol-Canadabalsam montiert, nachdem er vorher in Brombenzol gebadet worden ist. Die Kerne können mit verdünnter Hämatoxylinlösung leicht angefärbt werden, sie leuchten dann im Dunkelfeld zinnoberrot.

Als geeignetes Mikroskop für das ultramikroskopische Verfahren sei das von der Firma E. Leitz zusammengestellte binokulare Stativ mit einer besonderen Kondensorwechselvorrichtung genannt. Die Wechselvorrichtung ermöglicht es, zentrierte Dunkelfeldkondensoren gegeneinander auszutauschen. Zu dem Stativ gehören, außer dem üblichen Hellfeldkondensor, 3 Dunkelfeldkondensoren, und zwar:

- 1 Trockendunkelfeldkondensor für Übersichtsbilder;
 - 1 Wasserdunkelfeldkondensor für Objektive bis zur Apertur 1, der mit einer Umschaltvorrichtung auf Hellfeld versehen ist
 - und 1 Öldunkelfeldkondensor, mit dem die hohen Ölimmersionssysteme benutzt werden können.
-

Literaturverzeichnis.

Almqvist, Nord. med. Ark. (schwed.) **1905** II, H. 2, Nr 6, 1. — *Brunswik*, Naturwiss. **11**, 881 (1923). — *Christeller* u. *Sammartino*, Z. exper. Med. **60**, 11 (1928). — *Gerlach* u. *Gerlach*, Verh. dtsch. path. Ges. **1931**. — *Hoffmann*, Krauss-Uhlenhuth, Handbuch der mikrobiologischen Technik. **1**, 72. — *Timm*, Zell-mikrochemie der Schwermetallgifte. Leipzig 1932. — *Voigt*, Kolloidforschungen in Einzeldarstellung. **8** (1929).

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Bonn.
Direktor: Prof. Dr. F. Pietrusky.)

Die Verletzungen der Hirnrinde bei stumpfer Gewalteinwirkung auf den Schädel mit besonderer Berücksichtigung des forensischen und unfallpathologischen Standpunktes.

Von
A. Esser.

Wegen der Kürze der mir zur Verfügung stehenden Zeit kann ich Ihnen nur ganz kurSORisch über die Ergebnisse berichten, die ich bei der anatomischen Auswertung von 115 Fällen von Schädeltraumen hatte. Von den Beobachtungen betreffen 25 eigene, sehr eingehend durchuntersuchte Fälle, im übrigen liegen exakt beschriebene Literaturbeobachtungen zugrunde. Das Trauma betraf zumeist den Erwachsenen,