Ueber das körnige Augenpigment.

Von

Dr. B. Rosow in St. Petersburg.

Der grösste Theil der Bindegewebs- und Epithelzellen, welche in die Zusammensetzung der Gefäss- und Regenbogenhaut des Auges eingehen, ist bekanntlich fast bei allen Säugethieren mit körnigem Pigment (Melanin) gefüllt. Die Körner selbst sind bald grösser, bald kleiner von elliptischer, stäbchenförmiger oder runder Form und schwarzer, schwarzbrauner Farbe. Diese Formverschiedenheit der einzelnen Körnchen ist im Allgemeinen bekannt; nur wurde bis jetzt übersehen, dass jede derselben einem gewissen Theile der genannten Augengewebe entspricht.

Zur Untersuchung benutzten wir Augen von Menschen, Hunden, Pferden, Ochsen und schwarzen Kaninchen.

Es zeigte sich:

1. Dass bei allen ebengenannten Thieren die Pigmentmoleculë, welche die Epithelialzellen der inneren Oberfläche der Gefässhaut bis zur ora serrata (d. h. auf der ganzen Strecke wo die Zellen von regelmässiger hexaedischer Form, nur eine Schicht bilden) anfüllen,

die Form von länglichen Körnchen, bei einzelnen Thiergattungen, gleichsam die von Stäbchen mit abgerundeten oder zugespitzten Enden, haben. Die Länge solcher Körnchen ist manchmal 3 oder 4 mal grösser als ihre Breite. Suspendirt in Flüssigkeit, geben sie die gewöhnliche Molecularbewegung. Bei den Pigmentmoleculen des Ochsenauges die sich vorzüglich durch ihre Länge auszeichnen, kann man öfters leichte Biegungen in der Längenaxe beobachten. Manchmal stellen sich einige von den Moleculen, die sich nicht durch besondere Länge auszeichnen, auf eines ihrer Enden, und bleiben ziemlich lange in dieser Stellung, indem sie sich um ihre Längenaxe drehen und dabei in runder Form erscheinen. Bei längerer Beobachtung aber sieht man bald ein solches Molecul sich in seiner grossen Axe legen. Diesen Umstand muss man bei Beurtheilung von Formenverschiedenheiten der Pigmentmoleculen immer im Auge haben, besonders wenn die Moleculen Gewebstheilen anhaften.

2. Die Pigmentkörner der Epithelzellen, welche das corpus ciliare von der ora serrata an, und die hintere Oberflächen der Regenbogenhaut (wo die Zellen die hexaëdrische Form aufgeben und mehrfach geschichtet liegen) bedecken, sind von verschiedener Grösse, aber rund, mit dunklen und scharfen Umrissen. Vorherrschend sind die gröberen schwarzen Körner.

3. In den Zellen des Bindegewebes, welches die Gefässhaut mit der sclera verbindet (lamina fusca), und das choroidalstroma bildet, sind die Pigmentmoleculen ebenfalls rund, nur unendlich feiner und weniger stark conturirt, als die vorhergehenden.*)

*) Fast in allen Präparaten kann man unter der grossen Masse der vorherrschenden Form einzelne Ausnahmen finden. Auf der ora serrata finden wir fast beständig Uebergangsformen von länglichen zu runden Moleculen, und die Zahl letzterer wächst in der Richtung nach

Nachfolgende Tabelle giebt die Dimensionen der Pigmentmoleculë:

Benennung der Gewebe, aus denen das Pigment genommen ist.	Beim Menschen.	Beim Ochsen.	Beim Kaninchen.
Epithelialschicht der Ge- fäßshaut bis zur ora serrata.	Millim.	Millim.	Millim.
Länge	0,0030-0,0020	0,0045-0,0022	0,0030-0,0015
Breite	0,0010-0,0004	0,0015-0,0007	0,0008
Epithelialschicht der Pro- cessus ciliar.	0,0022-0,0007	0,0030-0,0010	0,0030-0,0007
Epithelialschicht der hin- teren Oberfläche der Iris.	0,0015-0,0007	0,0022-0,0007	0,0022-0,0005
Lamina fusca	0,0008-0,0003	0,0015-0,0005	0,0015-0,0005

Chemische Eigenschaften des Augenpigments.

Die Widerstandsfähigkeit des Pigmentes gegen chemische Reagentien ist bekannt. Es ist unlöslich in Wasser, Weingeist, Aether, Benzol, kohlen-sauren Alca-lien, concentrirter Essigsäure (sogar kochender), in con-centrirter Salz- und Schwefelsäure, und sehr schwer lös-lich in concentrirter Aetzkali-lösung (nach Verlauf einiger Wochen). Kochend lösen die drei letzten Flüssigkeiten ziemlich rasch das Pigment und färben sich dunkelkirsch-roth. Concentrirte Salpetersäure zerstört das Pigment völlig, und nimmt dabei eine gelbliche Farbe an. Chlor

vorne. Als Prototyp der Formverschiedenheit kann jedenfalls das Ochsen-auge dienen. Einige Autoren (Köl liker, Olschewsky) haben bereits schon erwähnt, das die in den Epithelzellen gelagerten Pigmentkörner eine längliche Form hätten, und hierzu auch die des corpus ciliare und der hinteren Oberfläche der Iris gerechnet.

entfärbt das Pigment und macht es leicht löslich in verdünntem Aetzkali.

Diese Eigenschaften des Pigmentes sind schon längst bekannt und beschrieben (Histologie und Histochemie des Menschen, von H. Frey, 1859. Die Chemie der Gewebe des gesammten Thierreiches von Schlossberger, 1856. S. 146. Ueber den Bau der Choroidea des Säugethier- und Vogelauges von Prof. Wittich. Arch. f. Ophthal. Bd. II. und and.). Wir möchten nun Folgendes hinzufügen:

1. Das Pigment, dauerndem Einflusse schwacher Salpetersäure (auf neun Theile Wasser ein Theil Salpetersäure, speciv. Gewicht 1,36) ausgesetzt, bekommt eine gelbbraune Färbung ohne merkbare Veränderung in der Form und den Erscheinungen der Molecularbewegung; es wird leicht löslich in schwachkohlensaurer Natron- und Kalilösung (drachm. j auf unc. j). Die vollkommen durchsichtige Lösung hat eine schön violett-rothe Farbe. Zusatz von Säure entfärbt und trübt die Lösung mit einem rothbraunen oder roth-violetten flockigen Niederschlage, welcher microscopisch entweder vollkommen amorph oder leicht körnig erscheint. Die beschriebene Pigmentlösung diffundirt leicht durch thierische Häute, wie ich mich an Kalbsharnblasen, so wie auch an der getrockneten Hornhaut überzeugte.

2. Wir unterwarfen das Pigment des Ochsenauges der Maceration bei offenem Luftzutritt, und sahen die länglichen Molecüle des Choroidalepithels nach 13 Monaten, wo jede Spur von Hüllen und Kernen der Zellen verschwunden war, vollkommen unverändert.

Die einzige Elementaranalyse, die überall citirt wird, ist von Scherer (Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. XL, S. 63.). Schlossberger (S. 170), Bruch (Untersuchung zur Kenntniss der körnigen Pigments der Wirbelthiere in physiologischer und pathologischer Hinsicht

1844 S. 51) und Andere, haben aber durch den Ausspruch, dass über die chemischen Bestandtheile des Pigmentes noch Nichts Bestimmtes bekannt ist, diese Analyse als ungenügend hingestellt.

Die herrschende Meinung in der Physiologie definiert das Augenpigment als verändertes Haematin, eine Meinung, die sowohl von Chemikern (Lehmann, Handbuch der physiologischen Chemie 1854, S. 68; Gorup-Besanez, Anleitung zur qualitativen und quantitativen zoochemischen Analyse 1850; Gerhardt, Lehrbuch der organischen Chemie 1857, IV. Bd. S. 570), als auch von Histochemikern und Histologen (Frey, S. 87; Hoppe, Archiv für path. Anatomie und Physiologie S. 259) gestützt wurde. Lehmann suchte den Beweis dafür in der Anwesenheit von Eisen im Pigment, obgleich der Mulder'sche Versuch mit concentrirter Schwefelsäure sogar für das Haematin bewies, dass die Farbe desselben nicht an die Anwesenheit von Eisen gebunden ist (Virchow's Archiv, Bd. VI, S. 170). Ohne übrigens weiter auf diese Frage einzugehen, die von Schlossberger (S. 146) genügend besprochen wird, bemerke ich nur, dass wir bei jungen Fischembryonen, durch künstliche Befruchtung erhalten, bei vollkommener Farblosigkeit der Blutkörperchen reichliches schwarzes Pigment in der Haut fanden.

Da Scherer's Analyse grösstentheils durch Unreinheit des untersuchten Materials werthlos wurde, so bemühten wir uns vor Allem, eine Methode der Pigmentisolirung von den anhaftenden Gewebstheilen zu finden. Die oben angeführten Eigenschaften des Pigmentes, weder in concentrirter kochender Essigsäure noch durch den anhaltendsten Process der Fäulniss verändert zu werden, benutzten wir zu diesem Zwecke*), und zwar in folgender

*) Es wurden ausschliesslich Ochsenaugen benutzt, und zwar 700 Paar.

Weise: jeder Augapfel wurde bis auf die sclera rein ausgeschält, darauf in einem Teller unter Wasser im Aequator getheilt, und die beiden Theile, der vordere mit dem anhängenden Glaskörper, von einander getrennt. Mit einer feinen Pincette wurde dann an den hinteren Hälften die Netzhaut von der Gefässhaut getrennt und an der Eintrittsstelle des Sehnerven abgeschnitten, zuletzt die sclera mit der Gefässhaut in reines Wasser gebracht und bis zum nächstfolgenden Tage bewahrt. Letzteres geschieht um die Epithelialpigmentschicht der choroidea von derselben zu lockern. Auf diese Weise gelingt es, die Epithelialschicht in grösseren Stücken häufig als ein ganzes apartes Häutchen zu isoliren. Die abgelösten Stücke wurden mit einem silbernen Löffelchen in destillirtes Wasser gebracht, darin vielfach ausgespült, und der dem Tapetum entsprechende pigmentlose Theil entfernt. In ein anderes Gefäss mit destillirtem Wasser übergebracht, senken sich die so isolirten Stücke zu Boden. Auf diese Weise wurde eine grössere Masse von Augen zugleich bearbeitet, so dass schliesslich nur Zellenhüllen und Kerne aus dieser Pigmentmasse zu entfernen waren, um reines moleculares Pigment darzustellen. Dieses wurde erreicht durch drei bis vier Wochen langes Aufbewahren in concentrirter Essigsäure bei hermetischem Verschluss. Da das Pigment auf den Boden des Gefässes fällt, so lässt sich die Essigsäure mit einem gläsernen Heber vollständig entfernen. Fanden sich in der untersuchten Probe noch Zellenkerne oder Hüllen, so wurde von Neuem Essigsäure aufgegossen. Zur Entfernung der Säurereste wandte ich die Auswaschung mit destillirtem Wasser an, wie es bereits Heinz that (Virchow's Archiv, Bd. I, S. 417), da die Filtration aus begreiflichen Gründen unanwendbar ist. Die Methode der Durchwaschung ist allerdings langweilig, da sie acht bis zehn Mal angewandt werden muss, jedesmal eine Woche

zur Fällung des Pigmentes verlangt, und mit bedeutendem Materialverlust verbunden ist. Die Trocknung der restirenden Masse, die keine Spur von saurer Reaction mehr zeigte, geschah unter der Luftpumpe. Die ganze Procedur der Pigmentreinigung dauerte zwar drei Monate, aber wir hatten auf diese Weise erstens reines Pigment erhalten, zweitens nur längliche Molecüle, also die Möglichkeit, letztere isolirt von den runden Molecülen der Elementaranalyse zu unterwerfen. Der Vergleich beider wird nicht minder interessant, wenn man sich die That- sache vorführt, dass das Pigment der Epithelialschicht schon im frühen Embryonalleben sich entwickelt, während das des Choroidalstroma's erst in späterer Zeit sich zeigt.

Eine zweite Art der Pigmentgewinnung bestand in Folgendem: Der ganze Rest, der nach der ersten Methode bearbeiteten Augen, d. h. die ganzen Augen, ausser der Epithelialschicht der Gefäßshaut, wurden in einem Glassgefäße von Wasser übergossen, auf eine Woche und länger der Fäulniß überlassen. Sodann das Wasser vorsichtig abgossen, die Reste selbst auf ein Leinfilter gebracht, und unter einem starken Wasserstrahle zer- rieben. Die durchgeflossene, pigmenthaltige Masse wurde der Sedimentirung überlassen; nach einigen Tagen die schmutzig trübe Flüssigkeit abgossen, der Rest der obenerwähnten vielfachen Durchwaschung unterworfen, und schliesslich der Pigmentrest in Verlauf von $\frac{1}{4}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden in concentrirter Essigsäure gekocht. Waren auf diese Weise Zellenkerne und Hüllen microscopisch nicht nachweisbar, so wurde die Säure wie oben entfernt. Diese leichtere Art der Pigmentgewinnung gab ohne besondere Mühe jedesmal gegen 5 Gramm reinen Pigments. Der einzige Uebelstand in der Bereitung des Pigmentes nach beiden Methoden, dass es trotz aller Vorsichts- maasregeln nicht immer gelingt, das Pigment von Infu-

sorien frei zu halten. Jedenfalls aber ist diese Beimischung so geringfügig, dass sie wohl kaum $\frac{1}{10}$ pCt. des Gewichts erreicht.

Vor der Elementaranalyse unterwarfen wir das unter der Luftpumpe getrocknete Pigment einer progressiven Temperaturerhöhung, um den Grad kennen zu lernen, bis zu welchem das Pigment ohne Veränderung seiner Eigenschaften beharrt, und welchen Einfluss die Erhitzung auf sein Gewicht hat.

Schon Scherer trocknete das Pigment für seine Analysen bei einer Temperatur von 80° R. ohne Veränderung an demselben. Wir wiederholten bei einer 2,394 Gramm wiegenden Pigmentportion (getrocknet im luftleeren Raume) dieselbe Temperaturerhöhung von 80° , und setzten sie so lange fort, bis keine Gewichtsabnahme mehr erfolgte. Der Unterschied betrug 0,182, also 7,60%. Ein Theil (0,535 Gramm) dieses getrockneten und zu Pulver geriebenen Pigments, wurde während 3 Stunden bei allmählicher Temperaturerhöhung bis 135° R. bis zur Unveränderlichkeit des Gewichts erhitzt. Bei letzterer Temperatur erhielt sich das Pigment $\frac{3}{4}$ Stunden. Dabei betrug der Gewichtsverlust 0,0426, was beinahe 8% ausmacht. Das bei genannter Temperatur getrocknete Pigment zeigte nicht die geringsten Veränderungen, weder unter dem Microscope noch in seinem Verhalten gegen Reagentien. Weitere Versuche mit der Temperaturerhöhung wurden nicht angestellt.

Zur Bestimmung der Asche wurde eine bei 135° R. getrocknete Pigmentportion gleich 0,2881 genommen und in einem Platintiegel verbrannt. Beim Verbrennen entwickelten sich in Menge braungelbe Ammoniakdämpfe, die sich in Gestalt eines dichten braunen Anflugs auf den Deckel des Tiegels ablagerten. Diese Dämpfe reagirten stark alcalisch und hatten einen widerlichen Geruch, den man etwa mit dem Geruche, der beim Braten verfauten

Fleisches entsteht, vergleichen könnte. Dabei zog die schwere Verbrennbarkeit der Pigmentkohle unsere Aufmerksamkeit auf sich. Die Quantität der Asche, die wir bekamen, war gleich 0,0017, das sind folglich 0,590‰. Beim Kochen dieser Asche mit Wasser, gelang es uns, daraus weniger als 0,0001 von Etwas, das alcalisch reagirte, zu gewinnen. Der übrige Rest bestand fast ausschliesslich aus Kieselsäure; Eisen liess sich nur als Spur nachweisen. Woher kommt hier die Kieselsäure? Wir wagen es nicht, ihre Anwesenheit im Pigment anzunehmen. Liegt nicht der Grund dieser Erscheinung in unserer Gewohnheit, Glasgeschirr manchmal mit Sand zu waschen? . . .

Scherer bekam bei Verbrennung des von ihm untersuchten und nur bei 100° C. getrockneten Augenpigments die Quantität der Asche gleich 9,8%, wie man dies aus Folgendem sieht:

Quantität des Pigments = 0,345.

Quantität der Asche = 0,034.

Ein Vergleich unserer Aschenprocente mit Scherer's überzeugt, dass Letzterer mit unreinem Materiale arbeitete. Hier ist die Beschreibung der Methode, nach welcher Scherer sein Pigment erhielt: „die das Pigmentum nigrum tragende Choroidea von Ochsenaugen wurde jedesmal auf das Sorgfältigste herauspräparirt und in destillirtes Wasser gelegt. Das Wasser zog stets eine ziemliche Quantität rothes Blut aus ihren Gefässen. Wenn sich das Wasser nicht mehr färbte, wurde die Haut herausgenommen und mit einem feinen Haarpinsel unter destillirtem Wasser das Pigment von der Choroidea abgestreift. Es setzte sich nach und nach in dem Wasser zu Boden. Es wurde sodann in Wasser zerrührt, auf ein linnenes Filter gebracht, um allenfalsige mit losgelöste Membrantheilchen der Choroidea davon zu trennen. Die durch-

gelaufene Flüssigkeit wurde eingedampft und der Rückstand mit Aether und Alkohol ausgekocht."

Wir sind überzeugt, dass, wenn Scherer sein Pigment einer microscopischen Probe unterworfen hätte, er darin eine Menge Hüllen, Kerne, vielleicht auch ganzer Zellen, und feine Stückchen anderer Gewebe gefunden hätte. Denn das leinene Filtrum ist mit seinen Oeffnungen kein zuverlässiges zurückhaltendes Mittel; Weingeist und Aether sind aber als Lösemittel nur für Fette gut.

Zur Bestimmung des Schwefels wurde eine bei 135° R. getrocknete Pigmentportion gleich 0,204 Gramm genommen und im Platinatiegel, in einer Mischung von Salpeter mit kohlensaurem Natron allmählig verbrannt. Nach der Erkaltung war die Mischung ganz weiss. Sie wurde in chemisch reiner, durch Wasser verdünnter Salzsäure aufgelöst, und dann mit reinem Chlorbarium auf Schwefelsäure geprüft. Es erfolgte keine Sedimentirung. Hiermit ist aber zugleich bewiesen, dass auch das verbrannte Pigment keinen Schwefel enthielt. Nach einer solchen Schwefelbestimmung hielten wir es für überflüssig, zur Nitroprutside Zuflucht zu nehmen.

Zur Bestimmung des Kohlenstoffes und des Wasserstoffes wurde eine, bei 90° R. getrocknete Pigmentportion gleich 0,4075 Gramm genommen. Der Kohlenstoff wurde in der Form von Kohlensäure, der Wasserstoff in der Form von Wasser bestimmt. Das Pigment wurde mit Kupferoxyd gemischt, und nach den gewöhnlichen Regeln verbrannt; gegen Ende der Verbrennung ein Strom von Sauerstoff der Sicherheit wegen durch die glühende Masse geleitet.

0,4075 Gramm Pigment gaben:

$\text{CO}_2 = 0,824$

$\text{H}_2\text{O} = 0,206,$

diese Zahlen machen aber 55,14% Kohlenstoff und 5,60% Wasserstoff aus.

Obgleich das von uns untersuchte Pigment bei den microscopischen Proben keine Anwesenheit von Fett zeigte, bearbeiteten wir dennoch, um sicherer zu sein, dass solche Beimischung ganz fehlt, dass bei 80° R. getrocknete Pigment 1,527 Gramm mit Weingeist und dann mit kochendem Aether. Der Weingeist und der Aether, die eine leichte gelbliche Farbe annahmen, gaben nach ihrer Verdampfung eine fettähnliche Masse von 0,090 Gramm Gewicht, also fast 6‰. Ungefähr $\frac{1}{3}$ dieser ganzen Masse wurden durch Weingeist gewonnen, das übrige aber durch Aether.*)

In allen folgenden Analysen benutzten wir Pigment, das auf diese Weise bearbeitet und jedesmal bei 125° bis 130° getrocknet war.

Eine Portion an Gewicht gleich 0,362 Gramm wurde zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff nach oben beschriebener Methode gebraucht. Wir mussten schon a priori erwarten, dass wir eine geringere Menge Kohlenstoff als in der ersten Analyse, erhalten würden, weil unser Pigment in letzterem Falle, wie oben bemerkt, gegen 6‰ Fett enthielt. Diese Voraussetzung bestätigte sich.

Quantität des Pigments = 0,362

Quantität der Kohlensäure = 0,7164

Quantität des Wassers = 0,1735

Diese Zahlen machen aber 53.97‰ Kohlenstoff und 5,32‰ Wasserstoff aus.

*) Man kann uns entgegenen, dass wir theils deswegen ein im Verhältniss zum Scherer'schen so geringes Procent Asche (0,59%: 9,8%) erhielten, weil wir unser Pigment mit Beimischung von Fett (6%), welches keine Asche zurücklässt, verbrannt haben. Scherer trocknete ja aber sein Pigment vor dem Verbrennen bei 80° R. (100° C.), wir aber bei 155°; oben wurde bereits gesagt, dass das bei 80° R. bis zur Unveränderlichkeit des Gewichts getrocknete Pigment bei weiterem Trocknen an Gewicht bis gegen 8% verliert und diese 8% würden natürlich beim Verbrennen ebenso keine Asche zurücklassen, wie auch jenes Fett, welches in unserem Pigmente war.

Eine Portion bei 125° — 130° R. getrockneten Pigments, an Gewicht gleich 0,3304, wurde gebraucht zur Bestimmung des Stickstoffes. Das Pigment wurde in einer frischdurchglühten Mischung ätzenden Kalkes mit ätzendem Natron auf gewöhnliche Weise verbrannt. Die sich absondernden Gase, unter ihnen auch Ammoniak, wurden durch einen Apparat mit Salzsäure durchgelassen. Nach Beendigung der Verbrennung wurde die Salzsäure mit dem aufgenommenen Ammoniak durch Chlorplatin überschüssig gesättigt und aus der Quantität des dabei sich bildenden Chlorplatins die Stickstoffquantität berechnet. Von der Reinheit des Chlorplatins überzeugten wir uns durch Abwägen des Platins nach seiner Verbrennung. Diese Analyse gab 10,04% Stickstoff.

Zu einer zweiten Bestimmung des Stickstoffes wurden 0,2124 Gramm Pigment genommen, welches ebenso wie das vorhergehende bereitet war. Die Methode der Analyse war dieselbe. Die Stickstoffquantität = 10,2%.

Abgesehen von der ersten Analyse zur Bestimmung des Kohlenstoffes und des Wasserstoffes, bekommen wir folgende allgemeine Zahlen:

C	—	53,97%
H	—	5,32
N	—	10,12
O	—	30,00
Asche	—	0,59

Scherer bekam folgende Zahlen:

	I	II	III
C	— 58,273	— 58,672	— 57,908
H	— 5,973	— 5,962	— 5,817
N	— 13,768	— 13,768	— 13,768
O	— 21,968	— 21,598	— 22,507

Aus der Vergleichung dieser Zahlen sieht man, dass wir ungefähr 4% weniger Kohlenstoff erhalten haben, gegen 0,5% weniger Wasserstoff; über 3,5% weniger

Stickstoff; mehr als 8% Kohlensäure und endlich 9,21% weniger Asche. Der Unterschied zwischen diesen Zahlen wird vollkommen durch die Verschiedenheit der zur Analyse gebrauchten Materiale erklärt; davon überzeugt uns klar und deutlich die Quantität der Asche in dem einen und in dem anderen Falle.

Die gemachten Analysen sind noch zu ungenügend, um über die Eigenschaften des Augenpigments ein endliches Urtheil auszusprechen, daher enthalten wir uns noch jeden Schlusses. Hierbei halte ich es für unentbehrlich, zu sagen, dass unsere Analyse einem Pigmente mit ausschliesslich runder Molecülform gehört; eine Analyse des Pigments der zweiten Gestalt konnte wegen ungenügender Quantität desselben (ungefähr 0,250) jetzt noch nicht gemacht werden.

Ich bringe meinen innigsten Dank dem Professor N. N. Sinin für seine Anweisung in der Anstellung vorgelegter Analysen dar.

Zum Studium der pathologischen Veränderungen des Pigmentes und der dasselbe einschliessenden Zellen benutzten wir ausschliesslich die Epithelialschicht der eigentlichen Gefässhaut. Die Zellen liegen hier in einer Schicht, haben eine bestimmte Form, Grösse und enthalten eine mehr oder weniger gleiche Menge von gleichgeformten Pigmentmolecülen. Hierdurch wird die Controlle der pathologischen Veränderungen erleichtert und gesichert. Fragen, die uns hier interessiren, waren folgende:

- 1) Sind die Pigmentzellen vermehrungsfähig? und wie gestaltet sich ihre Nachkommenschaft?
- 2) Welcher pathologischen Metamorphose sind die Pigmentmolecüle fähig, oder, wie können die Pigmentmolecüle, bei der Festigkeit ihrer chemischen Zusammensetzung aus dem Innern der Zellen verschwinden, ohne letztere zu zerstören, wie wir

dies bei einigen pathologischen Zuständen des Auges bemerken? Sie können ja doch wohl nicht heil aus der Zelle gehen, einerseits weil es keine Oeffnung in den Zellen giebt, andererseits weil die Molecüle selbst feste Körper sind; also müssen sie, um zu verschwinden, aufgelöst werden.

Dank den Arbeiten von Graefe, Schweigger (Arch. für Ophthalmologie, Bd. VI, Abth. 1. und 2., Bd. V, Abth. 1. und 2.), Heinrich Müller (ibid., Bd. II, Abth. 1.), E. Junge (ibid., Bd. V, Abth. 1.), Liebreich (ibid., Bd. IV, Abth. 2.), Pagenstecher (ibid., Bd. III, Abth. 1.) und Anderer, existirt gegenwärtig eine entschiedene Antwort auf die erste Hälfte der am Anfange vorgelegten Frage, und der hyperplastische Zustand der Pigmentepithelialschicht bildet offenbar schon eine entschiedene Thatsache. Die Sache ist aber die, dass alle genannten Autoren entweder mit dem schon ganz beendigten Prozesse — der quantitativen Vergrösserung der Pigmentepithelialzellen, zu thun hatten, oder nur den Anfang dieses Processes — die Theilung der Kerne — beobachteten. Die Zwischenstufen hat aber, soviel uns die Literatur dieser Frage bekannt ist, noch Niemand beschrieben. Andererseits ist die Bildung pathologischer Pigmentzellen in der pathologischen Anatomie eine alltägliche Thatsache, und veranlasste, da ein sicheres Kriterium zwischen vollkommen entwickelten pathologischen Pigmentzellen und physiologischen fehlt, einige Beobachter, manchmal eine grössere Quantität von Pigmentzellen im Auge als Resultat einer pathologischen Neubildung, nicht Fortentwicklung aus physiologischen Pigmentzellen, zu deuten. (Donders, Arch. für Ophthalm., Bd. III, Abth. 1). Dieses rechtfertigt auch unseren Wunsch, womöglich alle Phasen pathologischer Veränderung an den Pigmentzellen zu verfolgen. Mangel irgend zuverlässiger Data zur Beantwortung der zweiten Frage,

befreit mich davon, den Grund der Fragestellung zu erklären.

Der Weg, diese beiden Fragen zu beantworten, ist der experimentelle. Zu den Versuchen benutzte ich meist schwarze Kaninchen, denen ich künstliche Entzündung beibrachte. Dabei verfuhr ich auf folgende Weise: Im oberen Theile des Auges, etwa $1\frac{1}{2}$ Linien vor der Vereinigung der Sclera mit der Hornhaut, fasste ich mit einer gezähnten Pincette die Conjunctiva und machte darauf in derselben einen ungefähr 3 Linien langen Schnitt, parallel dem Rande der Hornhaut; durch diesen Schnitt fasste ich mit einer anderen Pincette die Sehne des oberen geraden Muskels auf, und suchte mit ihrer Hülfe das Auge so viel wie möglich nach unten auszukehren, ohne natürlich dabei grosse Gewalt zu gebrauchen. Den so entblösten oberen Theil des Augapfels berührte ich mit glühendem Eisendraht, wobei ich, so viel wie möglich, die Conjunctiva schonte. Die Anbrennungen waren oberflächliche und tiefe, die manchmal durch die ganze Dicke der Sclerotica und Gefässhaut drangen. Nach Entfernung der Pincetten nahm das Auge von selbst seine regelmässige Stellung an. Wenn es nöthig war, so wurde diese Operation auch an dem unteren Theile des Auges gemacht. Nach Abfallen des Schorfes heilte die Wunde der Conjunctiva schon in wenigen Tagen, während die Entzündung im Auge selbst 5 bis 6 Wochen dauerte. In verschiedenen Fristen wurden die Thiere getödtet, und ihre Augen, nach 5- bis 7 tägigem Befinden in einer saturirten Lösung chromsauren Kali's, der Untersuchung unterworfen.

50 Tage nach Beginn der Entzündung gelang es uns, oft in ein und demselben Auge alle Phasen pathologischer Veränderung an der Pigmentepithelialschicht von der einfachen Kerntheilung bis zur völligen Vernichtung des Pigments, und der Zellen selbst, zu beobachten.

Ich beginne mit den frühesten Veränderungen.

Hier und da vergrösserten sich die Zellen im Umfange (0,045 Mill.) und nahmen eine unregelmässige dreibis fünfeckige, ovale oder rundliche Form an. Die Menge der Kerne wuchs von 2 bis 5 und in sehr wenigen bis auf 8; die Quantität des Pigments blieb entweder annähernd normal, — wobei es sich bald gleichmässig an der Peripherie der Zelle lagerte, bei durchsichtigem kernhaltigen Centrum derselben, bald den Kern ganz bedeckend und die Peripherie freilassend sich im Centrum der Zelle anhäufte, bald gleichmässig in der Zelle zerstreut lag, — oder endlich in vermehrter Masse die Zelle mit schwarzem Inhalte füllte, nur leicht die Kerne durchsimmern lassend. In letzteren Fällen wurden deren gewöhnlich einer oder zwei und sehr selten — drei bemerkt. Hier und da häuften sich die in den Zellen befindlichen Molecüle dicht um die einzelnen Kerne, und bildeten auf diese Weise rundliche, von einander durch vollkommen durchsichtige Zwischenräume getrennte Figuren mit halb durchsichtigem Centrum (Kern). Eine Stufe höher, und wir fanden Nester von jungen freien Zellen, die meistens in eine Schicht gelagert und von alten Zellen in verschiedenen Proliferationsperioden umringt waren. Wir besitzen sogar auch ein solches Präparat, wo eine alte, bedeutend an Umfang zugenommene Zelle auf ihrer einen Hälfte drei regelmässige Ränder bewahrt hat, während die andere zerstörte vier neue Zellen gleichsam aus sich herausschwimmen lässt. In seltenen Fällen bemerkten wir an vielkernigen Zellen mit eben beschriebener Pigmentlagerung unvollkommene Einschnürungen. Die Form der jungen Zellen ist gewöhnlich oval, seltener rund, oder unregelmässig eckig, ausnahmsweise regelmässig, fünf- oder sechseckig. Die Menge des Pigments war sehr verschieden; in den meisten Fällen

konnte man einen Kern unterscheiden, manchmal aber auch zwei. Die Grösse betrug 0,009—0,015 mm.

In den meisten Fällen konnte ich mich auf das Entschiedenste überzeugen, dass die Pigmentmoleculë der jungen Zellen sich durch Nichts von denen der alten unterscheiden liessen. Anders kann dies auch, wenigstens in der ersten Zeit des selbstständigen Lebens der jungen Zellen, gar nicht sein, da wir aus ihrer Entwicklungsgeschichte gesehen haben, dass sie das Pigment ihrer Vorfahren als Erbtheil bekommen haben, welche noch unlängst ein vollkommen physiologisches Leben führten, aber bei vergrösserter Nahrung nur die Grenze ihrer physiologischen Bestimmung überschritten, und eine Nachkommenschaft erzeugt haben, welche die Bedürfnisse der Gegend, in der sie sich befanden, übersteigt. Das ist auch Alles, worin sich ihre Abweichung von der Norm ausgesprochen hat; also eine typische Form der Hyperplasie. Ich weiss nicht bestimmt, ob die jungen Zellen in ihrem weiteren selbstständigen Leben Pigmentmoleculë mit denselben Eigenschaften ausarbeiten, wie ihre Vorfahren. In dieser Hinsicht dauerten meine Beobachtungen über das Schicksal der jungen Zellen (3 Monate) nicht lange genug.

Geben wir sogar zu, die Pigmentmoleculë junger Zellen hätten nur in der ersten Zeit selbstständigen Lebens letzterer physiologische Eigenschaften, so haben wir dennoch ein richtiges Kriterium, (bestimmte Form und Grösse der Moleculë), um in gewissen Fällen von der Pigmentanhäufung im Auge mit Bestimmtheit sagen zu können, ob sie pathologisches Pigment, aus Blutfarbstoffes, ist, oder ob sie das Resultat einer Hyperplasie der Pigmentepithelialschicht ist; die Form der Moleculë des ersteren Pigments hat nie die bestimmte Form und Grösse des letzteren. In Fällen, wo man wegen mehr gelockerten Zusammenhanges zwischen den einzelnen Zellen

die Pigmentepithelialschicht nicht von der unter ihr liegenden lamina elastica in grossen Stücken trennen konnte, mussten wir Stücke der ganzen Gefässhaut mit der inneren Oberfläche nach Oben, zur Untersuchung benutzen. Die Epithelialzellen hatten in diesem Falle fast alle den Character junger Zellen: ihre Grösse war zwei oder drei Mal kleiner als normal; ihre Form rund, oval, manchmal aber auch unregelmässig eckig; grösstentheils dicht pigmentirt, so dass man den Kern nur in wenigen unterscheiden konnte. An einigen Stellen bedeckten sich die Zellen mit ihren Rändern.

Oben suchten wir die hyperplastische Form der Pigmentepithelialzellenveränderung abzugrenzen. Die Sache verhält sich aber nicht immer so. Oft finden wir bei Zunahme des Umfangs der Zellen und Vermehrung der Zahl der Kerne, weniger Pigment und kleine Fetttröpfchen. Manchmal geht das Verschwinden des Pigments gleichsam Hand in Hand mit der Vergrösserung der Zahl der Kerne: je mehr Kerne, desto weniger Pigment. Zu grosse Zahl der Kerne führte immer zur Auflösung der Zelle. Oefters aber war das Verschwinden des Pigments unabhängig von der Zahl der Kerne, und, als höchste Stufe eines solchen Zustandes erhielten wir 0,021—0,035 Millim. grosse polyedrische Epithelialzellen ganz ohne Pigment, mit einem grossen (0,009 Millim.) oder mit zwei kleinen Kernen. Das Innere solcher Zellen war angefüllt mit einer durchsichtigen Flüssigkeit, in der manchmal zwei bis drei Fetttröpfchen herumschwammen. Oft traf man unter beschriebenen Zellen auch farblose, weniger grosse (zwei bis drei Mal) von runder, ovaler oder unregelmässig eckiger Form, mit einem grossen Kerne an. Diese Zellen sind als Neubildung nicht zu verkennen. Ob sie aber aus den beschriebenen grossen, die noch vor der Proliferation ihres Pigments beraubt waren, entstanden sind, oder ob aus Zellen, die noch

anfänglich Pigment erhielten, es aber später verloren, — diese Frage ist sogar im einzelnen Falle sehr schwierig zu beantworten. Obgleich die Existenz zweier Kerne in einigen von den farblosen Zellen, bei Abwesenheit von Fettmetamorphose, uns einräumt, dass auch die ihres Pigmentes beraubten Epithelialzellen der Vermehrung fähig sind, so gelang es uns, wie wir weiter sehen werden, auch andererseits, junge Pigmentzellen zu beobachten, welche allmählig ihr Pigment verloren. Mit Vergrößerung der Pigmentquantität wird die Hülle der Zelle oft zerstört, und wir haben in diesem Falle nur freie Haufen von Pigmentmoleculen, welche hier und da unter den noch erhaltenen Zellen zerstreut sind. Bei der gewöhnlichen Methode der Präparation (Abziehung des Epithels) gelingt es selten, diese Haufen zu beobachten, weil sie einerseits der Netzhaut anhaften, andererseits die noch bleibenden von der lamina elastica abgeschwemmt werden. Daher thut man besser, wenn man die Netzhaut selbst und die Gefässhaut einzeln untersucht. In den meisten Fällen konnte ich mich überzeugen, dass die Pigmentmoleculé, welche diese Haufen bilden, alle physiologischen Eigenschaften hatten, wenn sie nicht durch einen weiteren pathologischen Process verändert worden waren. Dies ist die zweite Form der Atrophie der Pigmentepithelialschicht, die wir ausschliesslich an Kaninchenaugen beobachteten.

Wir haben gezeigt, dass die Pigmentquantität in den Zellen bald grösser, bald geringer wird. Die Verringerung bis zum Verschwinden des Pigments geht zuweilen in ziemlich kurzer Zeit vor sich (in 2 Monaten), so dass wir schliesslich Epithelialzellen ohne Pigment, wie die dem tapetum der Thiere entsprechenden, bekommen.

Unsere eigenen Versuche über die pathologischen

Veränderungen an den Pigmentmoleculen haben uns zu folgenden Resultaten geführt: In den meisten Fällen, wo das Pigment aus den Zellen verschwand, hatten wir es mit dem schon ganz beendigten Prozesse zu thun, oder es blieben noch 5—10 Moleculé heil, die äusserlich nicht die geringste Veränderung zeigten. Unter vielen Präparaten aber gelang es uns in Zellen, die noch nicht ganz die Farbe verloren hatten, zwischen den gebliebenen unveränderten Moleculen immer auch solche zu beobachten, welche rundliche oder ganz runde Form angenommen hatten, etwas durchsichtiger geworden waren und eine gelbliche Schattirung bekommen hatten. Manchmal waren mehrere so veränderte Moleculé in einzelne Gruppen vereinigt, in denen man übrigens zwei, drei ganz unveränderte Moleculé beobachten konnte. Eine Stufe höher — und wir sahen kugelförmige, braungelbe Körper verschiedener Grösse, mit Goldglanz, welche aus mehreren kleineren Kügelchen und einigen unveränderten oder nur theilweise veränderten Moleculen bestanden. In Ausnahmefällen glichen diese Körper 0,015 Mm. grossen Tropfen, die gleichsam aus 3—4 kleinen Tropfen bestanden, in denen man aber schon keine einzelnen Moleculé unterscheiden konnte. Die Anwesenheit der beschriebenen Körper im Innern der die Farbe verlierenden Pigmentzellen*) und ihre allmälige Entwicklungsart geben uns volles Recht, sie als veränderte Pigmentmoleculé anzuerkennen. Aehnliche Veränderungen der Moleculé beobachteten wir auch in den freien Pigmenthaufen, die sich entweder auf der äusseren Oberfläche der Netzhaut

*) Die besten Präparate dieser Körper im Innern der die Farbe verlierenden Zellen bekamen wir aus dem Menschenauge.

oder zwischen den Epithelialzellen in verschiedenen Zerstörungsphasen befanden, nämlich: einige Haufen, offenbar aus gewöhnlichen oder theilweise veränderten Pigmentmoleculen bestehend, erschienen bei durchfallendem Lichte wie mit einer braungelben Flüssigkeit getränkt; die Quantität der letzteren vergrößerte sich in einigen so sehr, dass man die einzelnen Körner nur mit Mühe unterscheiden konnte; und endlich, als höchste Stufe dieses Zustandes, beobachteten wir kugelförmige Körper braungelber Farbe, ganz ähnlich den bereits im Innern der Zellen beschriebenen. Die unterste Stufe dieses Processes, die sich nur gleichsam durch ein Zusammenkleben der einzelnen Molecüle und einen gelblichen Schimmer ausspricht, konnten wir auch in den jungen Zellen bemerken und besonders an den Stellen, wo der Process zur Atrophie führte.

Microchemisch verhalten sich die tropfenähnlichen Körper wie folgt: sie sind unlöslich in Aether, absolutem Alkohol, Benzol, Glycerin, kohlensaurem Kali, concentrirter Essigsäure. In einer concentrirten Lösung ätzenden Kali's lösen sie sich erst im Laufe einiger Stunden auf, indem sie zuerst hellbraun, dann citronengelb werden, und endlich sich ganz entfärbend auflösen. Schwefelsäure und concentrirte Salpetersäure zerstören dieselben sehr schnell.

In der ophthalmologischen Literatur habe ich nur zweimal, bei Heinrich Müller, eine Beschreibung gelber Körper gefunden, die theilweise den von mir beschriebenen ähnlich sind, von welchen aber Heinrich Müller sich nicht entschloss, mit Entschiedenheit zu sagen, ob sie aus verändertem physiologischen Pigmente entstanden sind, oder ob sie als neue Gebilde betrachtet

werden müssen. (Arch. für Ophthalmol., Bd. IV, S. 396, und Bd. II, Abth. 2).

Um die Veränderungen an Pigmentmoleculen im lebenden Körper successive verfolgen zu können, brachte ich reines Pigment in die Hornhaut und die vordere Augenkammer weisser Kaninchen. Es lässt sich hier durch bestimmte Reize jeder Grad der Entzündung hervorbringen, und zu gleicher Zeit auch die Einwirkung derselben auf das Pigment verfolgen. Ausser diesem speciellen Interesse musste ein solcher Versuch auch einiges Licht auf Aufnahme und Fortbewegung molecularer Körper in den anastomosirenden Hornhautzellen werfen.

Die Einführung des in wenig Wasser suspendirten Pigmentes geschah, nach vorausgeschickter Punction mit der Staarnadel, mittelst der Pravatz'schen Spritze. Nach Entfernung der Spritze, drängt sich ein Theil des eingespritzten Pigmentes aus der vorderen Kammer zurück, und bleibt in der Hornhautwunde sitzen, während das in der Kammer zurückgebliebene der Iris anhaftet, oder sich auf den Boden der Kammer senkt. Die Reaction nach der Operation ist nicht viel bedeutender als die einer Paracentese, so dass das Auge nach einigen Tagen bereits vollkommen normal erscheint. Es restirt nur ein schwarzer Fleck von der Grösse einer Quadratlinie in der Hornhaut und hier und da zerstreute schwarze Pünktchen auf der vorderen Oberfläche der Iris. Dieses Kaninchen beobachteten wir drei Monate lang, und im Laufe dieser konnte man im Flecke nicht die geringste Veränderung bemerken. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Kaninchen getödtet und Querschnitte am Flecke der Hornhaut zeigten uns Folgendes. Der grössere Theil des

Pigments lagerte sich ausserhalb der Zellen in Gestalt eines schwarzen Streifs, der fast durch die ganze Dicke der Hornhaut ging, von der vorderen Epithelialschicht bis zur hinteren. Die Pigmentmolecüle zeigten an diesen Orten keine sichtbaren Veränderungen. In der weiteren Umgebung aber waren Hornhautkörper mit ihren anastomosirenden Ausläufern mit Pigment gefüllt und zwar erstere mit mehreren, letztere mit einer fortlaufenden Reihe von Molecülen. Wir hatten eine Pigmentinjection der Hornhautcanäle. Auf welche Weise sind die Pigmentmolecüle in diese Canäle gelangt? Wahrscheinlich wurden sie im Momente der Injection hineingedrängt. Die Pigmentmolecüle, die sich in den beschriebenen Canälen befanden, waren bedeutend gelber als die, welche ausserhalb der Zellen und in grossen Massen lagen; folglich hatten chemische Processe, die innerhalb der Zellen vorgingen, auf dieselben entschieden einen Einfluss. Das Pigment, welches sich auf der Regenbogenhaut befand, lag ganz ausserhalb der Zellen, auf der äusseren Oberfläche der Epithelialschicht, und schien unbedeutend heller als vor seiner Einführung.

In den mit Wasser suspendirten Pigmentmolecülen schlugen wir thierische Injectionsmasse vor, welche an Feinheit, Gleichmässigkeit und Indifferenz wohl die bisher benutzten übertrifft.

Schliesslich halte ich es für meine Pflicht, meinem Lehrer in der Ophthalmologie, Professor Junge, auf dessen Vorschlag ich vorgelegte Arbeit unternommen, meinen Dank auszusprechen.

Diese Arbeit wurde im vorigen Jahre beendet, nur gewisse Umstände erlaubten mir nicht, sie früher der Redaction des Archivs zu überliefern.