



ENTHÄLT DAS
MENSCHLICHE HAUTFETT LANOLIN?

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT ZU BERN

VORGELEGT VON

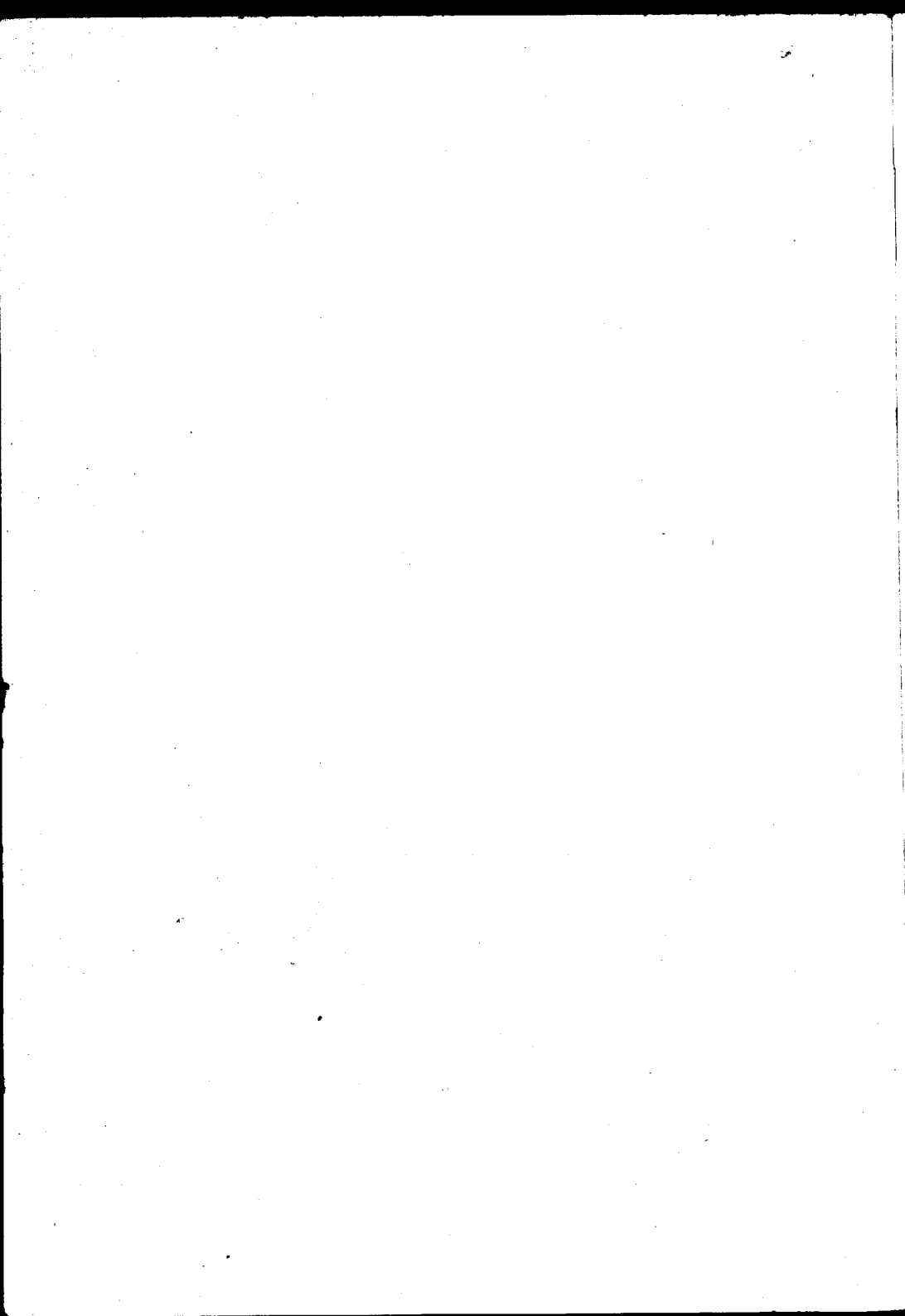
AUGUST SANTI

AUS BORGONOVO (GRAUBÜNDEN), ARZT IN BERN.



HAMBURG,
LEOPOLD VOSS.

1889.



AUS DR. UNNAS DERMATOLOGISCHEM LABORATORIUM IN HAMBURG.

ENTHÄLT DAS
MENSCHLICHE HAUTFETT LANOLIN?

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT ZU BERN

VORGELEGT VON

AUGUST SANTI

AT'S BORGONOVO (GRAUBÜNDEN), ARZT IN BERN.



HAMBURG,

LEOPOLD VOSS.

1889.

Auf Antrag des Herrn Prof. von NENCKY
von der Fakultät zum Druck genehmigt.

Der Dekan:
Prof. Dr. Rud. Deme.

Bern, 26. Juli 1889.

Einleitung.

In seiner Abhandlung: „Über das Lanolin, eine neue Salbengrundlage“¹, stellte LIEBREICH die Behauptung auf, daß das Cholesterinfett oder Lanolin in den keratinhaltigen Geweben, speziell in der menschlichen Oberhaut, in den Haaren, in der Vernix caseosa etc. vorkomme. Den Nachweis hierfür führt derselbe durch eine von LIEBERMANN² für das Cholestol entdeckte Reaktion. —

In der *Real-Encyklopädie* von EULENBURG³ bestätigte LIEBREICH seine frühere Behauptung und machte dabei noch nähere, die ganze Frage interessierende Angaben. —

LIEBREICH folgert aus diesem Umstande, daß die Cholesterinfette keineswegs bloße Ausscheidungsprodukte des tierischen Organismus seien, vielmehr liege die Vermutung nahe, daß sie eine bestimmte biologische Rolle für das Keratingewebe spielen. Auch gab LIEBREICH der Auffassung Raum, daß das RANVIERsche Eleidin in der Epidermis ein Gemenge von Eiweiß mit Cholesterinfett oder eine Vorstufe des letzteren darstelle.

Diese Angaben blieben bis vor kurzem unangefochten. Im Gegenteil, es entstanden Arbeiten, welche, die LIEBREICHschen Angaben als etwas Feststehendes betrachtend, ihre Forschungen und Schlußfolgerungen darauf basierten.

¹ *Berl. klin. Wochenschr.* 1885. No. 47.

² C. LIEBERMANN, Über das Oxychinoterpen. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* 1885. pag. 1803.

³ *Real-Encyklopädie der gesamten Medizin*, von EULENBURG. 1887. Bd. XI. sub Lanolin. pag. 459.

So glaubte LEWIN⁴ in der Körnerschicht der Epidermis Cholesterinfett nachgewiesen zu haben. Freilich lautet eine spätere Angabe desselben Autors etwas anders. In der Sitzung der dermatologischen Vereinigung zu Berlin vom 6. März 1888⁵, wobei Präparate von *Molluscum contagiosum* vorgewiesen wurden, bemerkte LEWIN in der sich daran knüpfenden Diskussion:

„Was die Frage nach dem Wesen des Stratum granulosum betreffe, so habe er schon vor längerer Zeit dargethan, daß diese Schicht aus Cholestearin besteht, darstellbar durch die Reaktion mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure. Auch Prof. SALKOWSKI habe sich davon überzeugt.“

Wenn LEWIN im Jahre 1886 diese Behauptung aufgestellt hätte, so würde kein Mensch hierin eine neue Entdeckung gesehen haben, da die Anwesenheit des Cholesterins in den meisten Geweben des Menschen eine altbekannte Thatsache ist.

Eine andere bezügliche Arbeit ist die von STICKER⁶, welche darin gipfelt, Eleidin sei ein Gemenge von Eiweiß und Cholesterinfett. —

Später publizierte GOTSTEIN⁷ seine Beobachtungen „Über das Verhalten der Mikroorganismen gegen Lanolin.“ Er fand, daß Lanolin von Bakterien nicht durchsetzt wird und folgert daraus eine wichtige biologische Funktion des Lanolins in der Oberhaut zum Schutze derselben vor dem Eindringen der Parasiten. Er bemerkt, LIEBREICH habe bewiesen, daß die dem Lanolin chemisch gleichenden Cholesterinfette ein normaler Bestandteil der menschlichen und tierischen Epidermis seien. Es sei nun wichtig, konstatieren zu können, daß das unsere normale Oberhaut imprägnierende Fett, im Gegensatze zu den Glycerinfetten, die Eigenschaft besitzt, unzersetzlich durch Mikroorganismen zu sein und eine Schutzdecke gegen deren Eindringen abzugeben.

Zwar will GOTSTEIN nicht dem Vorhandensein von Lanolin in der Haut allein die Verhütung des Eindringens von Bakterien zuschreiben, da die normale Haut überhaupt nicht durchweg einen Schutz gegen Infektion zu besitzen scheine. Immerhin sei aber die Anwesenheit von Cholesterinfetten mit in Rechnung zu ziehen; dafür schienen ihm einige pathologische Beobachtungen zu sprechen. So seien z. B. die Eitererreger

⁴ LEWIN, Mikrochemischer Nachweis von Cholesterinfett in der Körnerschicht der Epidermis. *Berl. klin. Wochenschr.* 1886. No. 2.

⁵ Dermatologische Vereinigung zu Berlin. 1887—1888. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1889. No. 29. pag. 406.

⁶ Über die Entwicklung und den Bau des Wollhaares beim Schafe. Dissertation. Berlin 1887.

⁷ *Berl. klin. Wochenschr.* 1887. No. 48.

zwar überall vorhanden, so daß sie zu jeder ungeschützten Kontinuitätstrennung der Haut hinzutreten können. Bei sonst normaler Oberhaut aber seien sie trotzdem im allgemeinen unschädlich. Man beobachte bei gewissen Krankheiten das massenhafte Auftreten von Furunkeln. Bakteriologisch seien hier die Eiterkokken nachgewiesen, nicht aber der Zusammenhang zwischen den Keimen und der zeitweisen Disposition der Haut zu ihrem Wuchern in deren tieferen Schichten. Gerade dann aber, wenn die Furunkulose einträte, z. B. im Rekonvaleszenzstadium des Typhus abdominalis, finde sich auch eine ausgedehnte Erkrankung des Horngewebes, also des Trägers und Erzeugers des Cholesterinfettes. Die Haare fielen aus, die Nägel würden brüchig, die in ihrer Kontinuität unversehrte Haut trocken, schilfernd, glanzlos. Das Gleiche finde sich bei der Furunkulose atrophischer Kinder. Es sei schwer, diese beiden Thatsachen nicht in ursächliche Beziehung zu bringen.

J. MUNK bearbeitete die Frage: „Ist das Lanolin vom Darm resorbierbar?“⁸ MUNK gelangt darin zum Resultat, daß die Resorption des Lanolins vom Darm gleich null ist, und zieht daraus unter anderm den Schluß, daß dadurch allen Vermutungen der Boden entzogen werde, die darauf zielen, das in der Haut und in den Epidermidalgebilden vorfindliche Lanolin etwa als vom Darm resorbiert und in der Haut abgelagert zu deuten. Es stütze diese Erfahrung von anderer Seite aus die von LIEBREICH gegebene Deutung über die Entstehung des Lanolins: „Wo Lanolin sich findet, müsse es loco gebildet sein.“

Ich habe etwas ausführlich über die wichtigsten der Arbeiten referiert welche, angeregt durch die interessante LIEBREICHsche Entdeckung, den für sicher geltenden Befund von Lanolin in der menschlichen Oberhaut nach verschiedenen Seiten der Medizin zu verwerten streben. Auch in den vielen therapeutischen Mitteilungen begegnet man derselben Befangenheit des Urteils, welche stets durch die These beeinflusst war, daß Lanolin, als normales Erzeugnis der Haut, besondere Vorzüge als Träger von Medikamenten besitzen müsse.

Der erste, der Bedenken gegen die LIEBREICHsche Lehre erhob, war BUZZI in seiner Schrift über Keratohyalin und Eleidin.⁹ Dieselbe richtet sich gegen die verbreitete Anschauung, wonach Keratohyalin und Eleidin mit Cholesterinfett identisch seien. BUZZI wies nach, daß Keratohyalin und Eleidin weder unter sich (RANVIER) identisch seien, noch daß eines von beiden mit Cholesterinfett identifiziert werden dürfte, und machte im übrigen darauf aufmerksam, daß LIEBREICH die ursprüngliche, nur für

⁸ *Therap. Monatsh.* 1888. No. 3.

⁹ *Monatsh. f. prakt. Dermat.* Bd. VIII. 1889. No. 1 u. 4.

Cholestol und Cholesterin geltende LIEBERMANNsche Reaktion auch auf Lanolin übertragen habe und zwar in etwas abgeänderter Farbenskala.

Bezüglich des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins von Cholesterinfetten in keratinhaltigen Geweben überhaupt und im speziellen in der menschlichen Oberhaut hält BUZZI einen Zweifel an den LIEBREICHschen Angaben für berechtigt.

Diese Frage ist physiologisch, pathologisch und praktisch von zu großer Bedeutung, als daß man sie stillschweigend übergehen könnte.

Auf Anregung und durch die gütige Unterstützung des Herrn Dr. UNNA habe ich es im folgenden versucht, derselben, soweit sie die menschliche Haut betrifft, näher zu treten. Das Resultat meiner Untersuchung geht dahin, daß in der menschlichen Haut keine Cholesterinfette, also speziell kein Lanolin vorkommen.

Wenn dieses Resultat, wie ich hoffe, bald von allen Seiten Bestätigung erhalten wird, so fallen damit natürlich alle jene Schlüsse, welche auf das Vorhandensein des Lanolins in der menschlichen Oberhaut gebaut sind, und die unleugbaren, nützlichen Eigenschaften dieses Mittels in der Dermatotherapie müssen auf eine andere Weise wie bisher erklärt werden.

I.

Wir müssen vor allem die LIEBREICHschen Untersuchungen näher prüfen und lassen zur besseren Orientierung gleich einige seiner Angaben in toto folgen.

In der schon erwähnten Abhandlung: „Über das Lanolin, eine neue Salbengrundlage“, sagt LIEBREICH:

„Nachdem die Existenz derselben (Cholesterinfette) in der Schafwolle erkannt worden war, mußte die Frage aufgeworfen werden, ob hier ein vereinzeltes Vorkommen zu registrieren sei, wie das des Wabrats in der Schädelhöhle des Physeter und der Bürzeldrüse der Gans (*Glandula uropygii*), oder ob die Cholesterinfette eine allgemeine Verbreitung wie die Glycerinfette zeigen.

Dem Nachforschen dieser eigenartigen Fette setzte sich jedoch die Schwierigkeit entgegen, gute Erkennungszeichen zu besitzen. Durch die von C. LIEBERMANN (v. o.) entdeckte Reaktion des Cholestols, einer dem Cholesterin nahestehenden Substanz, wurde es mir möglich, an die Frage der Verbreitung der Cholesterinfette im tierischen Körper heranzutreten. — Die Reaktion ist äußerst einfach. Das zu untersuchende Fett, und sehr geringe Quantitäten sind dazu nur erforderlich, wird in Essigsäureanhydrid (nicht zu verwechseln mit wasserfreier Essigsäure) gelöst. Durch Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure entsteht zuerst eine Rosafärbung, welche sehr schnell in eine stark blaue und grüne Farbe übergeht. Be-

sondere Vorsicht ist beim Zufliessen der Schwefelsäure geboten. Je geringer der Zusatz der Säure erfolgt, desto klarer verläuft die Reaktion. Meine Annahme, daß die Cholestolreaktion auch für die Cholesterinfette brauchbar sein würde, wurde durch den Versuch bestätigt. Cholesterinfette, in denen keine Spur freien Cholesterins enthalten sein konnte, zeigten die Cholestolreaktion in voller Schärfe. — Andererseits wurde von mir konstatiert, daß die Glycerinfette verschiedenster Zusammensetzung die Cholestolreaktion nicht geben. Besonders möchte ich erwähnen, daß Protagon, Lecithin, Walrat und Bienenwachs sich ebenso negativ verhielten. Es wurden zuerst die keratinhaltigen Gewebe untersucht. Ich führe an: Menschliche Haut, Haare, Vernix caseosa, Fischbein, Schildpatt, Hornspäne (Kuh), Elsternschnäbel, Federn von Gänsen, Hühnern, Puten, Tauben, der Pfauentaube, Stachel vom Igel und Stachelschwein, Huf und Kastanien vom Pferde, Horn von Schafffüßen, Haare vom Brandypus cuculliger. In allen diesen keratinisierten Geweben konnte die Cholestolreaktion das Cholesterinfett, welches durch Extraktion mit Chloroform gewonnen wurde, nachweisen lassen. Nur bei der Pinguine konnte ich keine Spur entdecken. Mit dieser Reaktion habe ich mich nicht allein begnügt, sondern die Eigenschaft des Cholesterinfettes benutzt, Wasser über 100 % aufzunehmen. Diese Eigenschaft, welche an dem aus der Wolle hergestellten Fett in exquisiter Weise zuerst nachgewiesen werden konnte, habe ich mit dem Namen „Lanolisieren“ bezeichnet und fast bei allen Fetten aus den vorhergenannten Substanzen nachweisen können. Ich konnte mich auch überzeugen, daß ein Gemenge von Glycerinfetten mit Cholesterin das Lanolisieren nicht zeigte.

Wird Unterhautfettgewebe extrahiert, so zeigt das Fett entweder gar keine Cholestolreaktion oder eine so geringe, kurz auftretende Färbung, daß dieselbe gegenüber der sonstigen Erscheinung vernachlässigt werden kann. Dagegen habe ich in dem Fett der Niere und Leber starke Cholestolreaktion erhalten. Ebenso in dem Fette, welches aus dem Blute eines Kaninchens gewonnen wurde. Ob den Nieren und andern Organen selbständig das Fett zugehört oder aus dem Blute stammt, müssen spätere Untersuchungen ergeben.“

In seinem Referate für die *Real-Encyclopädie* von EULENBURG (v. o.) sagt LIEBREICH weiter:

„Inzwischen hatte sich LIEBREICH mit dem Vorkommen des Cholesterins¹⁰ beziehungsweise der Cholesterinfette im tierischen Organismus beschäftigt. Er wies nach, daß Cholesterin beziehungsweise Cholesterinfette in allen von ihm darauf hin untersuchten Keratingeweben enthalten seien, nämlich in menschlicher Haut, mensch-

¹⁰ Der gesperrte Druck in diesem Absatz rührt von mir her. SANTI.

lichen Haaren, Vernix caseosa etc. . . . Zum Nachweis der Cholesterinfette wurden diese Organe im zerkleinerten Zustande mit Chloroform extrahiert und der nach dem Abdestillieren des Chloroforms hinterbleibende Rückstand mit der Cholestolreaktion geprüft. Außerdem wurden die Rückstände dadurch als Cholesterinfette erkannt, daß sie beim Behandeln mit ätzenden Alkalien kein Glycerin ergaben, dagegen in sehr hohem Grade die Eigenschaft des Lanolisierens, d. h. Wasser aufzunehmen, besaßen.

LIEBREICH gibt sodann folgendes zum Nachweise des Lanolins an (pag. 462):

„Der Identitätsnachweis gründet sich auf die Ermittlung des Cholesterins.

1. Löst man etwa 0,1 g Lanolin in 3—4 ccm Essigsäureanhydrid auf und läßt in diese tropfenweise konzentrierte H_2SO_4 einfließen, so entsteht eine rosarote Färbung, welche bald in grün oder blau übergeht. Kein andres Fett zeigt diese Erscheinung (LIEBERMANN'S Cholestolreaktion).

2. Löst man 0,1 g Lanolinanhydrid in 5 ccm Chloroform und schichtet diese Lösung in einem Reagenscylinder vorsichtig über einem gleichen Volumen konzentrierter H_2SO_4 , so entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten eine feurig braunrote Zone, die an die Farbe des Broms erinnert und nach 24 Stunden die höchste Farbenintensität erreicht hat. Das zunächst über der Berührungsschicht stehende Chloroform zeigt einen violetten Schimmer, die oberen Partien sind farblos (SALKOWSKI, VULPIUS).“

An anderer Stelle (pag. 462) heißt es:

„Die Untersuchungen über das Lanolin haben zur Erkenntnis geführt, daß sich dieses Cholesterinfett nicht nur in den Haaren des Schafes findet, wovon es den Namen trägt, sondern überall in den Teilen gewisser Organismen vorkommt, die in dem äußeren Integument liegen.¹¹ Als Beispiele seien erwähnt die Federn, Hufe, Schnäbel, Haare etc. Dieses Vorkommen darf man wohl in Zusammenhang bringen mit der Unveränderlichkeit des Körpers gegenüber den Einflüssen der Atmosphäre und niedriger Organismen etc.“

Soweit LIEBREICH. Dem gegenüber wollen wir diejenige Stelle aus LIEBERMANN'S Arbeit (v. o.) anführen, welche auf die Cholestolreaktion Bezug hat und der LIEBREICH'Schen Arbeit zu Grunde liegt.

LIEBERMANN hatte, wie BUZZI bereits in diesen Blättern mitgeteilt, zwischen dem von ihm als Oxychinoterpen benannten Körper, einem

¹¹ Vergl. oben aber auch das Vorkommen in Leber, Niere und Blut. SANTI.

Begleiter des Chinovins, und dem Cholesterin Beziehungen wahrgenommen und deshalb den ursprünglichen Namen mit Cholestol vertauscht.

Zu seinen vergleichenden Untersuchungen hatte aber LIEBERMANN wie er ausdrücklich sagt, bis dahin nur Cholesterin gebraucht. Er sagt weiter:

„Die zur Erkennung des Cholesterins benutzten Farbenreaktionen fand ich fast durchgehends beim Cholestol wieder. Dies gilt namentlich auch von der Reaktion der Chloroformlösung gegen konzentrierte Schwefelsäure, welche alle Glieder der Cholesterinreihe (gewöhnliches, Iso- und Paracholesterin, Phytosterin, Quebrachol, Cinchol und Cupreol) zeigen, und namentlich gegen die von HESSE vorgeschlagene Säure von 1,76 spezifischem Gewicht, mit der das Cholestol eine schöne Fuchsinfärbung zeigt. Übrigens sind manche der für das Cholesterin angegebenen Farbeureaktionen, z. B. die gegen Salzsäure und Eisenchlorid, nicht gerade durch besondere Schärfe und Schönheit ausgezeichnet; die Reaktion gegen Jod und Schwefelsäure gelang es mir überhaupt nicht in brauchbarer Weise zu erhalten. Daher dürfte die folgende sehr schöne und scharfe Reaktion, welche ich in gleicher Weise an Cholesterin aus menschlichen Gallensteinen und aus Ochsen-galle und am Cholestol fand, vielleicht manchem ein willkommener Zuwachs sein.

„Für dieselbe wird die Substanz in so viel Essigsäureanhydrid gelöst, daß sie in der Kälte eben gelöst bleibt, und dann unter Abkühlen tropfenweise wenig reine konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt.

Zuerst wird die Lösung rosenrot, doch schwindet diese Farbe schnell, namentlich auf Zusatz von einer neuen kleinen Menge Schwefelsäure, um einer schönen ziemlich beständigen Blaufärbung Platz zu machen.“ --

Was beim Vergleichen der Angaben LIEBERMANN'S mit denjenigen LIEBREICH'S sofort auffällt, das ist, und schon BUZZI hob es hervor, die Übertragung der Cholestolreaktion auf Cholesterinfette. In der ganzen LIEBERMANN'schen Arbeit ist von Cholesterinfett nicht nur nicht die Rede, LIEBERMANN sagt es, wie schon erwähnt, ganz ausdrücklich, außer Cholestol nur Cholesterin benutzt zu haben. Jeder Forscher also, welcher die LIEBERMANN'sche Reaktion außer auf diese beiden Körper, auf einen neuen, dritten, hier Cholesterinfette, ausdehnen wollte, befand sich in der Notwendigkeit, für jeden neuen Fundort das Vorkommen der beiden andern Körper (Cholestol und Cholesterin) speziell auszuschließen. Und diese Notwendigkeit lag für LIEBREICH um so mehr vor, als gerade in den von ihm untersuchten Organen das Vorkommen von Cholesterin eine längst bekannte Thatsache und die Verbreitung dieses Körpers im Organismus, wie LIEBREICH an einer Stelle selbst sagt, überhaupt eine außerordentlich große ist.

Was die Fette des menschlichen Organismus speziell betrifft, so

habe ich mich zur Genüge davon überzeugt, daß alle von mir untersuchten Glycerinfette Cholesterin enthielten.

Übrigens wird der Leser bemerkt haben, daß in der späteren Mitteilung LIEBREICHS der indirekte Nachweis des Cholesterins fast ganz an die Stelle des direkten Nachweises des Cholesterinfettes getreten ist. Wir müssen aber im Gegenteil stets in jedem einzelnen Falle den positiven Nachweis des Cholesterinfettes selbst verlangen. Wir verstehen absolut nicht den Ausspruch LIEBREICHS:

„Der Identitätsnachweis gründet sich auf Ermittlung des Cholesterins.“

Anfangs allerdings brauchte LIEBREICH eine Modifikation der LIEBERMANNschen Reaktion (siehe BUZZI), welche eine Unterscheidung von Lanolin und Cholesterin zuzulassen schien. Während LIEBERMANN eine Farbenskala von einfach rot und blau aufgestellt hat, gab LIEBREICH eine Skala von rot, blau und grün an, und zwar sollte sich die grüne Farbe aus der blauen entwickeln. Daß auf dieses Grün Wert gelegt wurde, ersehen wir aus den bald darauf erschienenen LEWINSCHEN und STICKERSCHEN Mitteilungen.

Für den in der Chemie Bewanderten mußte es hiernach den Anschein haben, als ob LIEBREICH mit Bewußtsein die LIEBERMANNsche Reaktion modifiziert und die grüne Variante in der LIEBERMANNschen Skala gerade zum Nachweis der Cholesterinfette geeignet gefunden habe. Nur wäre es richtiger gewesen, diese Reaktion von vornherein als eine neue, als LIEBREICHSche, zu bezeichnen.

In seiner zweiten Arbeit ließ LIEBREICH diese Farbenskala rot, blau und grün wiederum fallen und ersetzte dieselbe durch eine Alternative: entweder erscheint nach dem Rot Grün, oder aber Blau.¹²

Wir werden später sehen, daß diese neue Modifikation von LIEBREICH die erste ist, die so ziemlich das Richtige trifft, indem Cholesterinfette eine Skala mit Grün aufweisen, während reines Cholesterin neben Rot zuweilen auch Blau¹³ zeigen soll.

Es wäre zu wünschen gewesen, daß die Selbstkritik, welche in dieser zweiten Modifikation ausgesprochen liegt, noch etwas weiter und

¹² LIEBERMANN: rot-blau.

LIEBREICH: I. Variante: rot-blau und grün.

II. „ rot-grün oder blau.

¹³ Wir selbst konnten uns davon nicht recht überzeugen, selbst bei Anwendung der von HESSE empfohlenen H_2SO_4 von 1,76 spez. Gewicht, wenn auch mitunter eine gewisse Tendenz des Cholesterins zum Blauen nicht zu verkennen ist. Man muß sich überhaupt fragen, ob jenes Cholesterin aus menschlichen Gallensteinen und aus Ochsen-galle, an welchem LIEBERMANN die Cholestolreaktion so schön fand, ganz rein war, oder aber kleine Beimischungen enthält, welche auf die Reaktion von Einfluß gewesen sein möchten.

dazu geführt hätte, daß LIEBREICH selbst die Reaktion des Lanolins und Cholesterins genau gegeneinander abgewogen hätte.

In bezug auf die Art und Beschaffenheit des von LIEBREICH zur Untersuchung verwendeten Materials endlich erfahren wir gar wenig, und speziell was die menschliche Haut betrifft, sind wir ganz im Dunkeln gelassen, ob nur der keratinisierte Teil derselben zur Extraktion gelangte, oder aber dieser zugleich mit der Cutis. Für die Lokalisierung bezüglich Reaktionen kann dies selbstverständlich nicht gleichgültig sein, was übrigens aus dem bereits Gesagten ohne weiteres hervorgeht.

Das Unterhautfettgewebe gelangte zur Extraktion, soll aber eine so geringe, kurz auftretende Färbung geliefert haben, daß dieselbe, wie LIEBREICH sich ausdrückt, gegenüber „der sonstigen Erscheinung“ vernachlässigt werden könne.

II.

1. Löst man in einem Reagenscylinder ca. 0,02 g Cholesterin. puriss. in ca. 3 ccm Essigsäureanhydrid und versetzt diese Lösung mit einer kleinen Menge langsam zugegebener konzentrierter reiner H_2SO_4 , so entsteht eine Rosafärbung, die bald in violett übergeht (LIEBERMANNsche Reaktion).

Bei Anwendung der LIEBERMANNschen Reaktion ist es uns nie gelungen, auf die anfängliche Rosafärbung eine Blaufärbung nach LIEBERMANNs Angabe zu bekommen. Wir haben schon (vid. Anm. 13) unsere Bedenken über die Deutung der von LIEBERMANN an Cholesterinpräparaten konstatierten Befunde ausgesprochen und zugleich die Frage aufgeworfen, ob die von ihm untersuchten menschlichen Gallensteine und Ochsen-galle nicht Beimischungen enthalten haben könnten, welche die Reaktion beeinflussen hätten. Wir denken dabei unter anderm an die mögliche Anwesenheit von Jodspuren und zwar in erster Linie deshalb, weil die Anwesenheit kleiner Mengen von Jod in einer mit konzentrierter H_2SO_4 behandelten Cholesterinlösung — die Untersuchungen des Leberthrans führten uns darauf — die LIEBERMANNsche Reaktion (mit Blau) in schönster Form gibt, wie auch weiter in Erwägung des Umstandes, daß Jod von der Leber sehr leicht aufgenommen und zurückbehalten werden kann. Die Einverleibung von Jodverbindungen kommt häufig genug vor. Ohne zunächst weiter greifen zu wollen, braucht man nur an die häufige therapeutische Anwendung der Jodpräparate zu denken.

BERNARD¹⁴ fand, daß nach Einspritzungen von Jodkaliumlösung Jodverbindungen in der Galle erscheinen. Sodann weiß man, daß auch im Pflanzenreich Jod vorkommt, so daß auch auf dem Wege des Ge-

¹⁴ HOPPE-SEYLER, *Allgemeine Biologie*. pag. 314.

nusses solcher Vegetabilien Jod einverleibt werden kann. Wie dem auch immer sei, Thatsache bleibt, daß der Eintritt der Blaufärbung bei Anwendung der LIEBERMANNschen Reaktion auf Cholesterin unter allen Umständen kein sicherer ist und deshalb für die Reaktion auch nicht als charakteristisch bezeichnet werden kann.

2. Löst man in einem Reagiercylinder ca. 0,02 g Lanolin. puriss. LIEBREICH in ca. 3 cem Essigsäureanhydrid und versetzt diese Lösung mit einer kleinen Menge langsam zugegebener H_2SO_4 , so entsteht eine rasch verschwindende gelb-rötliche Färbung, die in ein ausgeprägtes Grün übergeht. —

Blau vor oder Blau nach dem Grünen (nach LIEBREICH) konnten wir nicht beobachten.

3. Löst man in einem Reagiercylinder ca. 0,01—0,03 g Cholesterin. puriss. in ca. 5 cem Chloroform auf und schichtet dieser Lösung langsam und ohne Schütteln ein ähnliches Volumen konzentrierter reiner H_2SO_4 unter (NB. eine vorausgehende Lösung in Essigsäureanhydrid oder ein nachträglicher Zusatz des letzteren zur Chloroformlösung beeinflusst nach unserer Erfahrung die Reaktion nicht), so entsteht an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten ein gelbrötlicher Ring, der später feurig rotbraun wird und einen Niederschlag rotbrauner Massen zeigt. Das zunächst über der Grenzfläche sich befindliche Chloroform wird rosa-violett, das Violette herrscht bald vor, und der größte Teil der Chloroformsäule teilt nach und nach diese Färbung. Nach 24 Stunden ist die obengenannte feurig braunrote Grenzschicht am intensivsten gefärbt.

Nimmt man stärkere Lösungen, so wird das Chloroform über der Grenzfläche rasch kirschrot und zeigt sich später tief violett.

4. Löst man in einem Reagiercylinder ca. 0,01 — 0,03 g Lanolin. puriss. LIEBREICH in ca. 5 cem Chloroform und schichtet dieser Lösung ein ähnliches Volumen konzentrierter H_2SO_4 unter, so entsteht an der Grenzfläche beider Flüssigkeiten eine gelbrötliche Schicht, die feurig rotbraun wird und einen Niederschlag braunroter Massen zeigt. Das zunächst über der Grenzfläche sich befindliche Chloroform zeigt ein ausgeprägtes Grün, welches der übrigen Chloroformmenge gleich einen stark grünlichen Stich verleiht und auch bald zum größten Teile grünlich färbt. Einen leichten violetten Schimmer des Chloroforms im Anschlusse an die Grenzfläche, wie ein solcher von VULPIUS und LIEBREICH beobachtet wurde, konnten wir nur dann konstatieren, wenn bei der Schichtung etwas geschüttelt wurde. Nach 24 Stunden ist die feurig rotbraune Grenzschicht am intensivsten.

Letztere Reaktion hat VULPIUS zum Nachweise des Lanolins empfohlen. Dieselbe unterscheidet sich von der weiter oben von LIEBREICH

angegebenen SALKOWSKI-VULPIUS-Reaktion nur dadurch, daß sie kein Essigsäureanhydrid braucht.

Die Anwesenheit von Essigsäureanhydrid ist in diesem Falle auch nach unserer Erfahrung von keinem Belange. In der Deutung dieser Reaktion dagegen weicht unsere Ansicht von derjenigen von VULPIUS und LIEBREICH etwas ab. Als charakteristisch für dieselbe sehen nämlich VULPIUS und LIEBREICH jene feurig braunrote Grenzzone an, die an die Farbe des Broms erinnert und nach 24 Stunden am stärksten geworden ist, sowie einen violetten Schimmer des zunächst über der Berührungsschicht liegenden Chloroforms. VULPIUS speziell erwähnt auch noch jenes rotbraunen Niederschlages fester Partikelchen, welche sich rings um die gefärbte Schicht an der Glaswand absetzt.

Es ist zuzugeben, daß diese Grenzerscheinungen bei Lanolin stark aufzutreten scheinen. Allein ganz das nämliche Bild treffen wir bei Cholesterin zunächst, wie schon oben angeführt, sodann bei allen mehr oder weniger cholesterinhaltigen Fetten, und kann man daraus wohl kaum ein differentialdiagnostisches Moment ableiten. Wir sind im Gegenteil sehr geneigt, die Hauptsache an dieser Erscheinung einzig auf Cholesterin zu beziehen, bei Lanolin speziell auf das in demselben chemisch gebundene Cholesterin. —

Eins aber finden wir an dieser Reaktion charakteristisch, und das ist jenes ausgesprochene Grün der Chloroformlösung.

Dieses Grün treffen wir bei Cholesterin nie, und es ist dasselbe auch hier wie bei den schon besprochenen und noch zu besprechenden Reaktionen als für Lanolin charakteristisch aufzufassen.

5. Löst man in einem Reagiercylinder ca. 0,02—0,03 g Cholesterin. puriss. und 0,02—0,03 g Lanolin. puriss. LIEBREICH zusammen in ca. 5 ccm Chloroform und schichtet dieser Lösung ein gleiches Volumen konzentrierter H_2SO_4 unter, so entsteht an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten eine feurig braunrote Schicht mit einem braunroten Niederschlag. Das zunächst über der Grenzfläche liegende Chloroform zeigt ausgeprägt rosa-violette, und bald nur violette Färbung, welche nach und nach auf die Chloroformmenge sich weiter ausdehnt. Auf dieser violetten Zone sitzt eine grüne Zone. An der Breite und Intensität beider Zonen läßt sich ungefähr der relative Gehalt der Lösung an Cholesterin und Lanolin abschätzen. —

Diese Chloroform- H_2SO_4 -Reaktion empfehlen wir für solche Fälle also, in denen neben Cholesterin auch Lanolin in Frage kommen kann. Wird die Reaktion mit der nötigen Aufmerksamkeit ausgeführt, so ist dieselbe genau und zuverlässig und läßt eventuelle Beimengungen von Lanolin bis auf kleine Spuren nachweisen.

6. Nimmt man von einer mäßig starken Cholesterin-Chloroformlösung



eine kleine Probe auf ein Uhrsälchen und läßt das Chloroform über der Flamme vollständig abdampfen — letzterer Umstand ist für die Reinheit und Schönheit der Reaktion wichtig — und setzt hierauf 1—2 Tropfen konzentrierter reiner H_2SO_4 hinzu, so bemerkt man unter dem Mikroskop schöne, homogene, größere und kleinere gelbe Kugeln, die bald die Farben: Orange, Rosa, Karmin, Purpur zeigen, und schließlich in ein schönes Violett abtönen. Bei gelungener Reaktion sieht man die ganze Masse ziemlich gleichzeitig die nämliche Skala durchlaufen. Immer ist der rote Ton ausgezeichnet ausgeprägt und ebenso die violette Schlussfarbe. Nach dem Violetten tritt später eine dunkle, schmutzig graugrünliche Verfärbung ein.

Es ist dies in genauerer Ausführung (s. auch BUZZI) die alte MOLESCHOTTsche H_2SO_4 -Reaktion für das Cholesterin¹⁵, ebenso einfach wie elegant und sicher. Wir heben nochmals die ausgezeichnet schönen roten Farben im Anfange der Reaktion und das ebenso schöne Violett am Schlusse derselben hervor. Zuweilen bemerkt man dabei vereinzelt blaue Kugeln oder blaue Streifen oder auch blaue Bruchstücke, die gegen die übrige Masse kontrastieren und gar nicht zur Reaktion zu gehören scheinen. Ich erwähne hier eines ähnlichen Vorkommnisses, das MOLESCHOTT anführt (v. o.). MOLESCHOTT konnte in einem Falle durch H_2SO_4 und ohne irgend etwas zuzusetzen ein vollkommen schönes Blau erzeugen, als er die H_2SO_4 in den Verhältnissen 4:1 (Wasser) oder 3:1 auf das Gallenfett einwirken ließ, ohne zu erwärmen und ohne die Präparate gleich mit einem Glasplättchen zu bedecken.

Er ließ dieselben 2—3 Minuten an der Luft stehen. Selbst bei Anwendung einer Säure von $4\frac{1}{2}:1$ fand er bei dieser Behandlung neben karminroten und violetten Kristallen blaue Bruchstücke, Streifen und Tropfen, aber viel weniger zahlreich. MOLESCHOTT bemerkte aber ganz ausdrücklich, daß er dieses entschiedene Blau nur am Cholesterin von einer Bereitung hervorrufen konnte, vier andre Präparate, die er zur Vergleichung untersuchte, gingen nicht über Violett und Lila hinaus. —

Wir haben weiter oben des behaupteten Vorkommens von Blau in der H_2SO_4 -Cholesterin-Reaktion schon gedacht und gesagt, daß die Bedingungen, unter denen reines Cholesterin bei seiner Behandlung mit Schwefelsäure blaue Färbung zeigen soll, uns unbekannt sind, daß aber sehr wahrscheinlich geringe Beimengungen intensiv reagierender Stoffe (Jod) im Spiele sein könnten.

7. Nimmt man von einer mäßigen starken Chloroformlösung von Lanolin. puriss. LIEBREICH eine kleine Menge auf ein Uhrsälchen, läßt

¹⁵ Wien. med. Wochenschr. 1855. pag. 131.

das Chloroform über der Flamme abdampfen und versetzt hierauf den Rückstand mit 1—2 Tropfen konz. H_2SO_4 , so sieht man unter dem Mikroskop schöne gelbe Kugeln neben andern gelben Massen, die bald orange und zum Teil rosafarbig werden, dann aber in ein ausgeprägtes Grün abtönen.

Der Ton ins Rote ist hier immer viel schwächer als bei Cholesterin, der Ton ins Grüne dagegen durchaus dominierend. Auch hier bemerkt man zuweilen ganz ähnlich wie bei Cholesterin vereinzelte blaue Kugeln oder blau gefärbte Bruchstücke, die wie gesagt bestimmterer Deutung noch harren.

Resümieren wir die Thatsachen dieses Kapitels, so finden wir, daß die citierten Reaktionen, wenn auch verschieden in ihrer Form, doch immer nur dasselbe zeigen. Sie alle beweisen uns die Thatsache, daß die charakteristischen Grundfarben für diese beiden Stoffe die folgenden sind:

	Anfangsfarbe	Schlussfarbe
Cholesterin	rot	violett
Lanolin	orange bis rot	grün

Auf diese ist vor allem zu achten, alle andern Erscheinungen haben keinen charakteristischen Wert. Ebenso wenig vermag das Volumen und die Stärke der zur Untersuchung verwendeten Lösungen, von denen wir oben einige Beispiele mitgeteilt, die Reaktion wesentlich zu beeinflussen.

Die genannten Grundfarben sind von um so größerer Bedeutung, als man bei aufmerksamem Reagieren mittels derselben sogar in Mischungen Cholesterin neben Lanolin zu erkennen und selbst annähernd quantitativ abzuschätzen vermag.

III.

Nachdem wir im vorhergehenden die Reaktion für Cholesterin und Lanolin zunächst für sich, dann aber auch für Cholesterin und Lanolin zugleich näher festgestellt haben, erwächst uns die Aufgabe, an die Untersuchung des Hautextraktes zu schreiten.

Zu unsern Untersuchungen haben wir von der menschlichen Haut diejenigen Partien gewählt, welche für gewöhnlich die dickste Epidermis besitzen, nämlich die Fußsohle. Doch auch die Haut der Handflächen und anderer Körperregionen gelangte zu Extraktion und Untersuchung.

Zur Trennung der Epidermis von der Cutis bedienten wir uns der jüngst von Dr. PHILIPPSON empfohlenen Methode¹⁶, welche es gestattet, Epidermis von Cutis ganz scharf zu trennen. Die Methode besteht darin, daß man die betreffenden Stücke in einer sehr schwachen, $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ %igen Essigsäure, je nach der GröÙe derselben 1—3 Tage, liegen läÙt. Alsdann erfolgt die Trennung infolge der verschiedenen Quellungsfähigkeit der Oberhaut einerseits und der bindegewebigen Cutis anderseits in ganz scharfer Weise.¹⁷

Das Unterhautfettgewebe wurde schon vorher möglichst vollständig von der Cutis entfernt und schließlich alle 3 Teile, Epidermis, Cutis und Unterhautfettgewebe, in zerkleinertem Zustande für sich der Extraktion in Chloroform, Äther oder Benzol übergeben.

Die gewonnenen Extrakte gelangten in ähnlicher Form wie Cholesterin und Lanolin zur Untersuchung.

Epidermisextrakt.

1. Löst man in einem Reagenscylinder ca. 0,02—0,03 g Epidermisextrakt in ca. 3 ccm Essigsäureanhydrid und versetzt hierauf die Lösung mit einer kleinen Menge konz. H_2SO_4 , so entsteht eine Rosafärbung, die bald in Violett übergeht.

2. Löst man in einem Reagenscylinder ca. 0,01—0,03 g Epidermisextrakt in ca. 5 ccm Chloroform und schiebt dieser Lösung ein ähnliches Volumen konz. H_2SO_4 unter, so entsteht an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten ein gelbrötlicher Ring, der später feurig rotbraun wird und einen Niederschlag rotbrauner Massen zeigt. Das Chloroform zunächst über der Grenzschrift zeigt eine rosa-violette Färbung. Das Violett herrscht bald vor, und der gröÙere Teil der Chloroformsäule teilt nach und nach diese violette Färbung. Von eventueller Beimischung anderer Farben ist nicht die geringste Spur vorhanden.

3. Nimmt man von einer mäÙig starken Epidermisextrakt-Chloroformlösung eine Probe auf ein Uherschälchen und läÙt das Chloroform vollständig über der Flamme verdampfen, setzt hierauf 1—2 Tropfen H_2SO_4 hinzu, so bemerkt man unter dem Mikroskop schöne, homogene, gröÙere und kleinere gelbe Kugeln, die bald folgende Farbenskala durchlaufen: Orange, Rosa, Karmin, Purpur und schließlich in schönes Violett abtönen.

Die ganze Masse durchläuft diese Skala ziemlich gleichzeitig; immer

¹⁶ *Monatsh. f. prakt. Dermat.* Bd. VIII. 1889. No. 9.

¹⁷ Die hierzu verwendete Essigsäurelösung wurde untersucht und lieÙ keine Spur von Cholesterin und Cholesterinfett nachweisen.

ist der rote Ton ausgezeichnet und ebenso die violette Schlussfarbe. Beimischungen, die die Gleichmäßigkeit des Bildes stören resp. eine andre Reaktion zeigen würden, sind nicht vorhanden. Auch fehlen hier immer jene geringen blauen Beimischungen, welche in Form von Kugeln, Streifen und Bruchstücken bei Cholesterin und Lanolin mitunter zu treffen sind. Nach dem Violett tritt später auch hier wie bei Cholesterin eine schmutzig grau-grünliche Verfärbung ein. Ein ganz gleiches Verhalten zeigen die Extrakte aus der Cutis und dem Unterhautfettgewebe, nur ist hier der Gehalt an Cholesterin ein bedeutend geringerer.

Diese vielfach wiederholten Untersuchungen ergaben immer das nämliche Resultat. Sie beweisen uns also mit größter Bestimmtheit, daß weder in der Oberhaut, noch in der Cutis und im Unterhautfettgewebe der menschlichen Haut Spuren von Lanolin vorkommen, und daß alles das, was bei LIEBREICH und andern auf Lanolin zu deuten schien, ausschließlich auf Cholesterin zu beziehen ist.

IV.

Da wir jetzt in der Lage sind, Cholesterin von Lanolin zu unterscheiden, so haben wir uns schließlich auch noch der Aufgabe unterzogen, das Cholesterin im Hautextrakt von den beigemengten Hautfetten zu trennen, um hierdurch auch noch dem allfälligen Einwand zu begegnen, daß Spuren von Lanolin unserm Hautfette doch beigemischt gewesen seien und durch unsere Reaktionen unberücksichtigt geblieben wären. Hierzu blieb uns kein andrer Weg übrig als derjenige der Verseifung.

Es handelte sich also darum, alle Glycerinfette des Hautextraktes in Seife überzuführen und den nicht verseifbaren Teil desselben von den Seifen zu trennen.

Im unverseiften Rest hatten wir vor allem Cholesterin zu erwarten, sodann eventuell vorhandenes Lanolin. Daß Lanolin bei dieser Behandlung nicht auch in Verseifung übergeht, beruht auf seinem gegenüber den gewöhnlichen Glycerinfetten verschiedenen chemischen Verhalten. Während nämlich letztere durch wässrige Alkalien verseift werden können, kann dies nach LIEBREICH bei Lanolin nur durch alkoholisches Kali oder durch schmelzendes Kali bewirkt werden.

Zur Verseifung selbst benutzten wir die nämliche Methode, deren sich HOPPE-SEYLER¹⁸ zur Trennung von Cholesterin von Ätherextrakt-rückständen bedient hat, nur mit dem Unterschied, daß wir an Stelle

¹⁸ HOPPE-SEYLER, Über das Vorkommen von Cholesterin und Protagon und ihre Beteiligung bei der Bildung des Stroma der roten Blutkörpern. *Medizinisch-chemische Untersuchungen*. I. Heft. 1866. pag. 143.

überschüssiger konz. alkoholischer Lösung von Ätzkali ca. 40 % wässrige Kalilauge benutzten und dies aus schon erwähntem Grunde. Der Prozeß verlief folgendermaßen: Die völlig klar abgegossenen oder filtrierten Ätherauszüge wurden auf dem Wasserbade durch Destillation vom Äther befreit. Der Rückstand wurde mit überschüssiger, klarer, wässriger 40 %iger Kalilauge auf dem Wasserbade mehrere Stunden im Sieden erhalten, und dann die Seifenlösung mit Wasser verdünnt¹⁹ und mit Äther geschüttelt. Nach dem Absitzenlassen und Abgießen des Äthers wurde derselbe untersucht. Auf dem Objektträger verdunstet, durfte ein Tropfen desselben mikrochemisch kein Fett mehr erkennen lassen. War dieses dennoch der Fall, so wurde der abgedampfte Ätherrückstand nochmals mit Kalilauge warm behandelt und die Flüssigkeit nochmals nach dem Erkalten mit Äther geschüttelt.

Wir haben diese Prozedur mehrmals durchgeführt und als Rest stets nur reines Cholesterin bekommen, keine Spur von Lanolin und keine sonstigen Fette.²⁰

Dieser reinere Cholesterinextrakt ergab die oben angeführten reinen Cholesterinreaktionen in vollkommenster Weise.

V.

Auf die von uns gefundenen Thatsachen fußend, müssen wir die Rolle des Lanolins im Tierreiche doch wesentlich anders auffassen, als es nach der bekannten Arbeit von LIEBREICH den Anschein hatte.

Als sicherer Fundort für dasselbe existiert für uns bisher nur die Schafwolle. Alle andern Horngebilde enthalten nach BUZZIS und unsern Untersuchungen, die sich vollständig an das schon früher Bekannte anreihen, wohl Cholesterin in erheblichen Mengen, aber Lanolin oder überhaupt Cholesterinfette hat weder LIEBREICH noch sonst jemand mit Sicherheit in denselben nachgewiesen.

Auf der andern Seite ist das Vorkommen des Cholesterins ein noch viel verbreiteteres, als man es bisher angenommen hat. Was für uns am wichtigsten erscheint, auch die gewöhnlichen tierischen Glycerinfette, das subkutane Fett des Menschen nicht ausgenommen, enthalten es, und hierauf sind die positiven Resultate gegenüber der LIEBERMANNschen

¹⁹ Von den Seifen geht nach HORPE-SEYLER nur dann etwas in den Äter über, wenn es an Wasser und Alkali fehlt.

²⁰ Es ist mir trotz wiederholter gründlicher Verseifung nicht gelungen, den Ätherextrakt so absolut frei von Glycerinfetten zu erhalten, als man nach den gewöhnlichen Angaben über Verseifung erwarten sollte. Mikrochemisch ließen sich stets noch sehr geringe Spuren von Glycerinfett nachweisen. Für unsere Hauptfrage nach dem Vorhandensein von Lanolin im Ätherextrakt nach Abscheidung der größten Menge der Glycerinfette sind diese aber nur schwer zu beseitigenden Spuren der letzteren jedoch ohne Belang.

Reaktion zu beziehen, die von anderer Seite unrichtig auf Cholesterinfette bezogen wurden. Ganz besonders reich an Cholesterin fanden wir den Leberthran. So erklären sich auch LIEBREICHS Befunde von Cholesterinfett in der Niere, Leber und im Fett des Kaninchenblutes; auch hier handelte es sich höchst wahrscheinlich nur um Cholesterin.

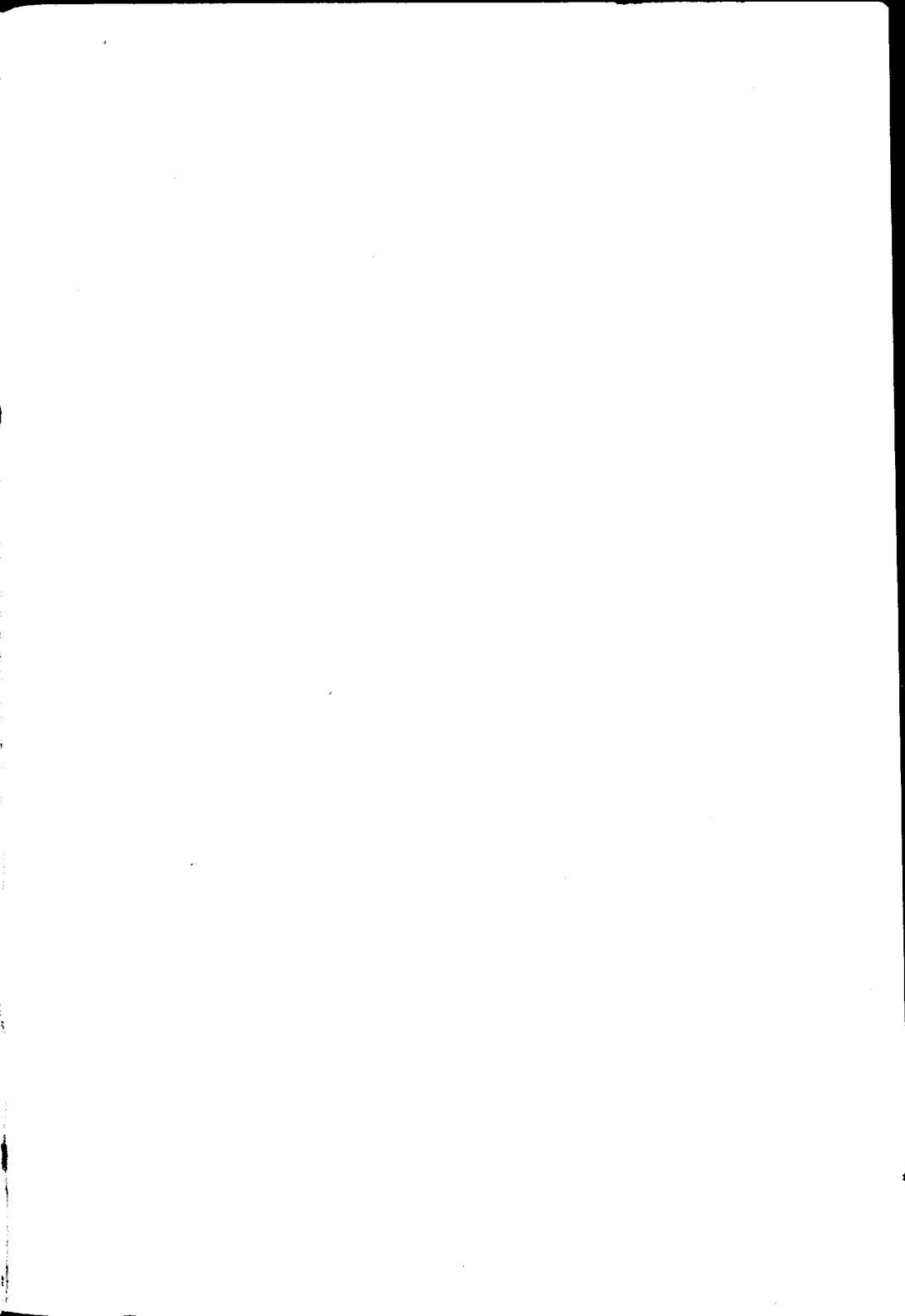
Besonders müssen wir Dermatologen dem Irrtum zu begegnen suchen, daß in den Übergangsschichten der Oberhaut des Menschen Lanolin von irgend jemand nachgewiesen und überhaupt nachweisbar sei. Nachdem gerade jetzt durch die Bemühungen so vieler Forscher die komplizierte Histologie dieser Oberhautschicht einigermaßen aufgeklärt wird, kann eine solche unerwiesene Behauptung von autoritativer Seite dem Fortschritte unserer Erkenntnis an dieser Stelle nur schaden.

Ebenso müssen wir auf die einschmeichelnde Anschauung verzichten, daß die menschliche Haut mit einem besonderen aseptischen Fette zum Schutz gegen Mikroparasiten ausgerüstet sei. An Stelle des Lanolins zeigt die genauere mikroskopische und chemische Untersuchung von BUZZI und mir eine ungeahnte große Menge von Cholesterin in den Knäueldrüsen und der Oberhaut. Es wäre im Sinne von GOTSTEIN zu untersuchen, ob die starke Beimischung dieser Substanz vielleicht eine Rolle spielen könnte, die man allzu rasch einem hier nicht vorhandenen Cholesterinfett zuzuschreiben geneigt war.

Zum Schlusse sprechen wir unserm verehrten Lehrer, Herrn Dr. UNNA, für seine Rathschläge und bewährte Unterstützung bei dieser Arbeit unsern herzlichsten Dank aus.



11369



1907