

Nachweis von aspiriertem Amylum und Cellulose mit der modifizierten Steinschen Reaktion

G. JOBBA

Gerichtlich-Medizinisches Institut der Universität Szeged (Ungarn)

Eingegangen am 18. Dezember 1970

Demonstration of the Aspired Amylum and Cellulose by the Modified Stein-Reaction

Summary. By the author modified Stein-reaction—in the case of aspiration—in the lung the simultaneous demonstration is possible of three materials (bilirubin, amyllum, cellulose).

Zusammenfassung. Mit der vom Verfasser modifizierten Steinschen Reaktion können — im Falle einer Aspiration — in der Lunge drei verschiedene Substanzen (Bilirubin, Amyllum und Cellulose) gleichzeitig nachgewiesen werden.

Key-Words: Aspiration — Nachweis von Bilirubin, Amyllum und Cellulose in der Lunge — Steinsche Reaktion.

Bei der in vivo erfolgten Aspiration von Vomitus können die im Magen befindlichen Stärkegranula in die Lunge — und durch sie sogar auch ins Blut — so aus der linken Kammer — gelangen [13]; somit kann die Identifizierung des in die Lunge aspirierten Materials gerichtsmedizinisch von Bedeutung sein. Die aus d-Glykose entstehende Stärke, das Glykogen, Dextran und die Cellulose liefern mit Jod — je nach ihrer Polymerisiertheit — abweichende Farbreaktionen. Bekanntlich bildet das Jod mit dem Amyllum einen blaufarbenen Komplex [2]; bekannt ist auch, daß mit der Jod als Reagens benutzenden Steinschen Reaktion das Bilirubin histochemisch nachweisbar ist [4, 6, 14, 15]. Aufgrund der obigen Überlegungen war das Ziel unserer Untersuchungen, mit der Steinschen Reaktion oder einer Modifikation derselben neben dem Bilirubin auch die aus der Nahrung stammende Stärke und Cellulose im Aspirat zu identifizieren.

Material, Methodik und Ergebnisse

In den Versuchen wurden bei Ratten die Trachea subglotteal eröffnet und aus der Spritze ein wäßriges Gemisch aus Amyllum solani, Bilirubin (pro anal.) und Apfelreißel beliebiger quantitativer Zusammensetzung zur Aspiration gebracht. Aus den makroskopisch dunkleren Lungengebieten wurden nach der Suffokation Stückchen entnommen, in 4%igem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet, zu Schnitten verarbeitet und diese mit der von uns modifizierten Steinschen Reaktion untersucht:

1. Deparaffinieren.
2. Jod-Oxydation 5—18 Std mit einem Lugol-Jodtinkturgemisch 2:1. Das Bilirubin wird zu grünfarbenem Biliverdin oxydiert.
3. Spülen in dest. Wasser.
4. Dejojodierung mit 0,5%igem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ einige Sekunden (unter makroskopischer Kontrolle, bis die Schnitte nahezu weiß werden).

Das in der Steinschen Reaktion ursprünglich zur Dejodierung benutzte 5%ige $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zersetzt den J-Amylum- und J-Cellulosekomplex. Das 0,5%ige $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bewirkt keine Zersetzung der gebildeten Komplexe, aber eine entsprechende Dejodierung der Gewebe. Die in der Stein-Reaktion ursprünglich vorgeschriebene 15—30 min lange Dejodierung bewirkt Verblässen der intensiv blauen Farbe des J-Amylumkomplexes, deshalb ist die unsererseits angewandte kurzfristigere Dejodierung zweckentsprechender. Ähnlich angewandt ist auch 30%ige KJ-Lösung (10 ml dest. Wasser + 3 g KJ) zur Dejodierung brauchbar.

5. Spülen in dest. Wasser.

6. Kernfärbung 4—6 min mit Mayerschem Hämatoxylin (anstatt der 1—3stündigen Alaun-Carmin- bzw. der 3—18stündigen Mayerschen Carmalaunfärbung). Die hellblauere Farbe der Kerne beeinträchtigt die Bewertbarkeit der dunkler blauen extracellulär aspirierten Amylumgranula nicht. (Die Kernfärbung kann auch fortgelassen werden, sie begünstigt nur die bessere Orientierung.)

7. Spülen in dest. Wasser.

8. Bläuen in Leitungswasser.

9. Entwässern in Alkohol oder Aceton.

10. Aufhellen in Xylol.

11. Eindecken mit Kanadabalsam.

Ergebnis. Bilirubin grün; Amylum dunkelblau; Cellulose hellgelb. (Nach der Beschreibung von Stein ist das Bilirubin smaragdgrün.)

Die Schnitte müssen unverzüglich untersucht werden, da die Farbe des J-Amylum- und J-Cellulosekomplexes nach einigen Tagen blässer wird, sofern die Schnitte nicht im Dunkeln aufbewahrt werden.

In unseren Sektionsfällen konnte bei makroskopisch sicherer Mageninhalts-Aspiration mit Hilfe der modifizierten Stein-Reaktion in 10 von 13 Fällen die Anwesenheit von Bilirubin, Amylum + Cellulose (Pflanzenbestandteile) bzw. Cellulose in der Lunge erwiesen werden. (Humanfälle, bei denen Bilirubin, Amylum und Cellulose gemeinsam im Aspirat vorhanden gewesen wäre, hatten wir nicht.) Das in der menschlichen Lunge befindliche Corpus amylaceum nimmt an der Stein-Reaktion nicht teil, es wird nur vom Hämatoxylin blaßblau gefärbt.

Besprechung

Die Steinsche Reaktion dient dem Nachweise von Bilirubin bzw. Hämatoïdin [1, 4, 6, 14, 15]. Im Falle von Mageninhaltaspiration ist die Voraussetzung für den positiven Ausfall der Reaktion die Anwesenheit von regurgitierter Galle im Magen. Bei der Beurteilung der Positivität ist zu berücksichtigen, daß nicht sicher zu entscheiden ist, ob das Bilirubin aus dem Blut oder aus der Gallenblase stammt [3] und ferner Hämatoïdin auch postmortal entstehen [5] und im Gewebssaft in Lösung gehen kann [7].

Das Glykogen gibt mit Jod eine braune [8, 9, 12] oder rötlichbraune Farb-reaktion [16], die in der Gynäkologie bei der Untersuchung der Portio-Epithelien ausgedehnt angewandt wird. Bei histologischen Untersuchungen wird die Bewertbarkeit durch den Umstand beeinträchtigt, daß auch manche Eiweißbildner — ebenso wie das Amyloid — eine braune Farb-reaktion geben [10, 12]. Der Polymerisationsgrad des Glykogens kommt in der PAS-Reaktion nicht zum Ausdruck [6].

Zum Amylumnachweis steht die Methode von Milividov [4] zur Verfügung, die ebenfalls Jod als Reagens benutzt. Nach Straub [16] liefert Amylum mit Jod eine violettblaue, seine Amylfraktion eine rein blaue und seine Amylopektin-

fraktion eine rötlichbraune Farbreaktion. Zum Pektinnachweis dient die Krajčínoviéische Amin- und die Ruthenium-Rot-Methode [10], die aber nicht mit Jod arbeiten. Mit Lugol zeigt das Amylum in den Faeces Bläulichschwarzverfärbung [2]. In histologischen Schnitten ist mittels Jod-Oxydation das Dextran nachweisbar [11].

Zum Cellulosenachweis dient die Methode von Post und Laudermilk [4], die mit Jod-Reagens arbeitet und bei der die Cellulosen der verschiedenen Pflanzen (Baumwolle, Stroh, Apfelgras, Ananas, Hanf, Sisalhanf, Manilahanf, Yukka, Sägemehl, Kapok, Jute) eine hellblaue, dunkelblaue, grünlichblaue, gelbe bzw. bräunlichgelbe Farbreaktion geben.

Den Vorteil der Steinschen Reaktion erblicken wir in ihrer einfachen und ohne große Chemikalienansprüche arbeitenden funktionierenden Art; andererseits ermöglicht sie mit unserer Modifizierung den simultanen Nachweis dreier verschiedener Substanzen.

Literatur

1. Barka, T., Anderson, J. P.: Histochemistry. New York-Evanston-London: Hoeber Medical Division 1963.
2. Bálint, P.: Klinikai laboratoriumi diagnosztika. Budapest: Medicina Könyvkiadó 1962.
3. Fischer, H., Reindel, F.: Über Hämatoidin. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **127**, 299 (1923).
4. Glick, D.: Techniques of histo- and cytochemistry. New York: Interscience Publishers Inc. 1949.
5. Kenyeres, B.: A törvényszéki orvostan tankönyve. Budapest: Universitas Könyvkiadó Társaság 1925.
6. Kiszely, Gy., Barka, T.: Gyakorlati mikrotechnika és hisztokémia. Budapest: Medicina Könyvkiadó 1958.
7. Lignac, G. O. E.: Über das Hämatoidin und seine Beziehungen zum Blut- und Gallenfarbstoff. Virchows Arch. path. Anat. **243**, 273 (1923).
8. Mancini, R. E.: Nueva reaccion del yodo para investigar el glucogeno en tejidos. Revisita Asoc. méd. argent. **60**, 286 (1946).
9. — Histochemical study of glycogen in tissues. Anat. Rec. **101**, 149 (1948).
10. Pearse, E. G. A.: Histochemistry. London: Medicina Literis 1960.
11. Persson, B. H.: Distribution of dextran in the tissues of rabbits. Nature (Lond.) **170**, 716 (1952).
12. Roulet, F.: Methoden der pathologischen Histologie. Wien: Springer 1948.
13. Somogyi, E., Budvári, R.: Igazságügyi orvostan az orvosi gyakorlatban. Budapest: Medicina Könyvkiadó 1960.
14. Stein, J.: Reazione permanente istochimica per mettere in evidenza la bilirubina. Rinascentza med. **12**, 343 (1935).
15. — Réaction histochimique stable de détection de la bilirubine. C. R. Soc. Biol. (Paris) **120**, 1136 (1935).
16. Straub, F. B.: Biokémia. Budapest: Medicina Könyvkiadó 1965.

Dr. med. G. Jobba
Gerichtlich-Medizinisches Institut
der Universität
Szeged, Kossuth Lajos sugárút 40