

VI.

Beiträge zur Histologie der Leber.

Von Igacuschi Moritzi Miura aus Japan.

(Hierzu Taf. VI.)

(Aus dem pathologischen Institut zu Berlin.)

Die zur Darstellung feiner Nervenverzweigungen und Nervenendigungen bisher üblichen Färbungsmethoden mikroskopischer Objecte bleiben noch immer ziemlich weit hinter den Ansprüchen zurück, welche man nothwendig an sie stellen muss, da sie recht complicirt sind, langsam wirken, und nicht in dem Grade zuverlässige Resultate geben, dass die nervösen Fasern jederzeit mit Bestimmtheit als solche erkennbar und von anderen Elementen zu unterscheiden wären.

Speciell für die Untersuchung des Nervenapparates der Leber ist vielfach die Methode der Goldchloridfärbung in Anwendung gekommen. Pflüger fand dadurch die Endigung der Primitivfasern in die Leberzellen und Kupffer eigenthümliche sternförmige Zellen an den Leberzellbalken, welche er für Elemente bindegewebiger Natur hielt. Allein die ganz sicher nachweisbaren markhaltigen Nervenfasern konnte man nur bis zum interlobulären Bindegewebe verfolgen.

Erst im Jahre 1876 hat M. Nestrowsky durch eine neue und complicirte Goldbehandlungsmethode feine Nervengeflechte im Leberläppchen nachgewiesen, welche in diesem Archiv Bd. 63, S. 412 beschrieben sind.

Die Methode von Nestrowsky ist kurz zusammengefasst folgende: Ein von der Vena portar. injicirtes, frisches Leberstück von einem Hund oder einer Katze wird mit einem Gefriermikrotom geschnitten und 20—25 Minuten lang in $\frac{1}{4}$ prozentige Goldlösung gelegt, während man das Licht davon abhält. Dann kommt das Präparat in ein Gemisch von 11 Theilen Wasser

und 1 Theil Glycerin, zu dem auf 1 Unze je 2 gtt. concentrirte Essigsäure gefügt werden. Schon nach 3 tägigem Verweilen der Schnitte in diesem Gemisch tritt in ihnen eine hellrothe Färbung ein; doch ist es am besten, das Präparat zwischen dem 5. bis 15. Tage zu untersuchen. Das Präparat wird unter dem Mikroskop in einer Flüssigkeit, bestehend aus gleichen Theilen Wasser und Glycerin und einigen Tropfen Essig- oder Oxalsäure, betrachtet. Findet man dabei nichts, so setzt man das Präparat dem Lichte aus; nach 2 Stunden fügt man einen Tropfen Schwefelammonium hinzu, und stellt das Präparat wiederum an einen hellen Ort. Nach 24 Stunden sind die Nerven wahrnehmbar, doch noch nicht deutlich, erst am 4. Tag ist das Präparat fertig, und ändert sich auch fernerhin nicht mehr.

Nestrowsky fügt noch hinzu, dass die Zeichnung manchmal durch Zusatz von zu viel Schwefelammonium verschwindet. Ferner hat er darauf aufmerksam gemacht, dass das Präparat nicht mit Wasser benetzt werden darf, dass es in absolutem Alkohol nicht länger als 1½ Minuten liegen bleiben darf, dass es stets mit ozonisirtem Terpenthin geklärt werden muss und das Licht davon abgehalten werden soll.

Das so erhaltene Bild beschreibt Nestrowsky im Wesentlichen folgendermaassen:

Die Nerven bilden um die V. portar. herum einen vollständigen Plexus, an welchem man ein gröberes und ein feines Netz unterscheiden kann. Diejenigen Fasern, welche von diesem Plexus entspringen, in den Aeinus eindringen, unter einander anastomosiren und dadurch Schlingen 1., 2. etc. Grades bilden, stammen stets von den gröberen Aesten. Bei dem Hunde sind die durch Anastomose der gabelförmig getheilten, sehr feinen Fasern gebildeten Maschen lang und schmal, während die Fasern bei der Katze breit sind und ein dickeres Maschennetz bilden. Die Nervenfasern, aus welchen die Schlingen bestehen, folgen meist dem Verlauf der Capillaren; selten findet man, dass die Nervenfasern längs der Leberbalken verlaufen, Capillaren quer treffen etc. Eine Endigung dieser Fasern an Leberzellen ist nicht beobachtet worden.

Als ich Anfang Januar dieses Jahres die Goldfärbung an der Leber versuchte und mich als Reductionsflüssigkeit einer

Traubenzuckerlösung bediente, stiess ich auf diese von Nestrowsky beschriebenen Gebilde in dem Leberparenchym. Die Methode ist äusserst einfach und man kommt schnell und sicher zum Ziel.

Zu diesem Zwecke legte ich entweder ein ganz frisches oder ein, einige Tage in Müller'scher Flüssigkeit conservirtes, kleines, dünnes Leberstückchen in eine Traubenzuckerlösung (100,0 Aq. + 20,0 Sacchar. tart. + 1,0 Natr. chlor.). Nach 8—12 Stunden brachte ich das Stückchen in eine Goldchloridnatriumlösung von 0,5 pCt. und liess es darin 12—24 Stunden lang liegen. Dann kam das Präparat wieder in die oben angegebene Traubenzuckerlösung, worin es etwa 12—48 Stunden lang verblieb, bis es eine dunkelviolette Färbung angenommen hatte. Das Präparat wurde dann mit dem Gefriermikrotom oder in Celloidincolloidum eingebettet geschnitten, und in einem Medium (im ersten Falle in Glycerin, Kochsalzlösung etc., im zweiten Falle in Nelkenöl) untersucht.

Es sei hier bemerkt, dass das Bild viel schärfer und deutlicher hervortritt, wenn man zu dem Schnitte einen Tropfen concentrirter Essigsäure oder Kalilauge hinzufügt.

Wenn man ein Präparat noch schneller anfertigen will, so muss man es im letzten Act (Einlegen desselben in Traubenzuckerlösung) einer Temperatur von 40—50° C. aussetzen. Die Reduction tritt dann schon nach 2—3 Stunden ein. Dabei sind aber die reducirten Goldstäubchen an den Fasern manchmal viel gröber, und die letzteren werden dabei undeutlicher, als bei langsamer (1—2—3 Tage lang dauernder) Reduction.

Es ist oft der Fall, dass die normalen Leberzellen (besonders bei der fötalen Leber) fast ebenso stark vergoldet werden, wie die Geflechte, und dadurch ein ganz verwaschenes Bild entsteht. Um diesen Uebelstand zu vermeiden, habe ich eine fettig degenerirte Leber von einem mit Phosphor vergifteten Hunde als Object genommen. Die Geflechte färben sich dabei, wie in der normalen Leber, aber die fettig degenerirten Leberzellen treten mit oder ohne Kerne ganz bedeutend schwächer hervor.

Behandelt man dieses gefärbte Präparat von der Fettleber mit einem Gemisch von gleichen Theilen Alkohol und Aether, so treten die Geflechte noch schärfer und deutlicher hervor; da-

durch wird das Fett (der Inhalt der fettig degenerirten Leberzellen) aufgelöst, und das Präparat sieht fast wie zerzupft aus.

Zum Schluss der Darstellung meiner Goldfärbung möchte ich noch erwähnen, dass dieselbe bei etwas älteren Leberstücken ebenso gut oder sogar besser gelingt, als bei frischen. Diesen Umstand könnte man dadurch erklären, dass der Zucker, welcher durch Fermentation in der Leber selbst entstanden ist, dabei begünstigend eingewirkt hätte.

Die Bilder nun, welche die in der oben beschriebenen Weise behandelten Schnitte ergeben, gleichen auf's Genaueste dem Geflechte, welches Nestrowsky beschrieb und abbildete, wie aus Folgendem hervorgehen dürfte:

Nach meiner Beobachtung kann ich an dem Geflechte 3 Abtheilungen unterscheiden:

1) Ein gröberes Netz um die Aeste der Vena portarum, die Gallengänge und die Arteria hepatica herum. Von diesem Maschennetz gehen zahlreiche feinere, fast gerade verlaufende Fasern ab, welche unter einander anastomosirend in's Innere des Läppchens hineintreten und in der mittleren Zone derselben zwischen Vena intra- und interlobularis in

2) ein feinmaschiges, aus vielfach gewundenen feinen Fasern bestehendes Geflecht übergehen. Diese Fasern laufen meistenteils an den Capillaren in dem Acinus entlang und anastomosiren vielfach, die Zellbalken überbrückend, mit benachbarten Fasern. Es entsteht dadurch ein Bild, als ob jeder Zellbalken in einem feinmaschigen, netzförmigen Schlauch läge. An und über den Zellbalken liegen sehr zahlreiche Knotenpunkte der Geflechte, von denen 3—6 oder noch mehr Fasern ausgehen. Diese Fasern vereinigen sich grösstentheils wieder in grössere Stämme und bilden um die Vena intralobularis

3) einen zweiten grobmaschigen, grobfaserigen Plexus, welcher fast immer schwächer entwickelt ist, als der in dem interlobulären Bindegewebe.

Ein Theil derjenigen Faserzüge, welche mit den Pfortaderzweigen verlaufen, gehen direct in die Glisson'sche Kapsel über.

Es sind in den Vereinigungspunkten der Fasern keine deutlichen Kerne wahrnehmbar, was bei reticulärem Rindegegewebe

der Fall sein würde; ebenso wenig sind irgendwo gangliöse Elemente zu sehen.

Das bisher geschilderte Bild bezieht sich hauptsächlich auf die Untersuchung der Menschen-, Hunde- und Kalbsleber, welche sich unter einander sehr ähnlich verhalten. Es variiert um ein Geringes bei verschiedenen Thierarten, wie folgende Beispiele zeigen:

1. Kaninchenleber. Die Fasern sind stärker und bilden ein dichtes, leicht darzustellendes Netz.

2. Schweine- und Hammelleber. Das aus starken, vielfach gewundenen Fasern bestehende Netz ist sehr stark in den Interstitien entwickelt, dagegen relativ wenig im Acius.

3. Meerschweinchenleber. Das Netzwerk ist feinfaserig und feinmaschig, wie beim Menschen, aber weniger stark entwickelt.

4. Frosch- und Salamanderleber. Ein ganz grobfaseriges und veitmaschiges Geflecht tritt bei der angegebenen Methode leicht zu Tage.

Ich habe ferner die fötale Leber von Menschen, Kaninchen und Meerschweinchen untersucht. Dabei bemerkte ich, dass die Fasern viel dünner und spärlicher vorkommen, als in der mütterlichen Leber.

Es fragt sich nun, welche Deutung diesem ganz typischen und regelmässig wiederkehrenden Netzwerk zu geben ist. Denn, wie im Eingang bemerkt, sind die besten Färbungsmethoden auf Nervengewebe insofern noch unzuverlässig, als man die nervöse Natur nicht direct sehen, sondern nur durch Ausschliessung anderer noch in Frage kommender Fasern mit gleicher Reaction erschliessen kann.

Nestrowsky beschrieb das Netz, wie gesagt, als Nervenplexus im Leberparenchym, indem er die Lymphgefässe, Capillargefässwände und Gallencapillaren aus bestimmten Gründen ausschloss, und in der That gleicht das Bild weder diesen Kanälen noch dem gewöhnlichen fibrillären und durch sternförmige Zellen ausgezeichneten Bindegewebe. Der Grund, warum es kein fibrilläres Bindegewebe sein kann, ist, dass das letztere im Präparate meist ungefärbt oder schwach röthlich gefärbt erscheint und erst durch Gentianaviolett, Eosin etc. gefärbt wird, so dass

es sich von dem von Anfang an dunkelviolett oder schwärzlich gefärbten Plexus leicht unterscheiden lässt.

Bei diesem Beweise per exclusionem hat Nestrowsky ein Gebilde nicht weiter berücksichtigt, welches meiner Meinung nach durchaus in Betracht zu ziehen ist, nehmlich das elastische Gewebe, welches von Asp (1873) und von Petzke (1874) in der Leber beobachtet wurde. (Der Letztere macerirte das Präparat in concentrirter Weinsäurelösung 8—10 Tage lang, wusch es mit Aqua destillata sorgfältig ab und färbte es mit Anilinroth.)

Es fragt sich nun weiter: „Ist das Netz wirklich der von Nestrowsky beschriebene Nervenplexus oder das elastische Gewebe von Asp?“

Vorläufig kann ich diese Frage nicht entscheiden, doch halte ich das letztere für wahrscheinlich; die Gründe dafür sind:

1. Der Plexus nimmt mit dem Quantum des interstitiellen Bindegewebes zu, so z. B. ist er in der Hammelleber und der cirrhotischen Menschenleber sehr stark entwickelt, während er in der Kaninchenleber bedeutend zurücktritt.

2. Die Fasern des Plexus stehen mit der Glisson'schen Kapsel im innigsten Zusammenhang.

3. Wenn man das Präparat mit Natronlauge oder starker Essigsäure so lange in Berührung lässt, dass die gefärbten Leberzellen und das Bindegewebe stark alterirt werden, so bleibt das Geflecht, mit Ausnahme der feinsten Fasern, unversehrt. Dagegen der Auerbach'sche Plexus des Darms, wenn er ebenfalls mit Gold (und Traubenzucker) behandelt ist, wird in Kalilauge und Essigsäure in kurzer Zeit mehr oder weniger verändert und nach mehreren Stunden fast vollständig aufgelöst.

Zum Schluss bemerke ich noch, dass die Niere und Nebenniere des Hundes bei derselben Behandlung mit Goldchlorid ähnliche Bilder liefert; die Fasern folgen hierbei den Arterien und bilden um sie herum einen dichten Plexus, von welchem zahlreiche feine Fasern entspringen, die sich eine kleine Strecke weit verfolgen lassen.

Für die gütigste Unterstützung während dieser Arbeit spreche ich hierbei dem Herrn Professor Virchow, dem Herrn Professor Waldeyer und dem Herrn Dr. Grawitz den wärmsten Dank aus.

Nachträglich möchte ich noch hinzufügen, dass es mir durch dieselbe Goldmethode mit geringfügiger Modification gelungen ist, auch die Gallencapillaren (bei verschiedenen Thieren) sowohl in der normalen, als in der pathologischen Leber zu färben.

Ich werde darüber später berichten.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel VI.

Fig. 1 stellt ein Leberläppchen von einem Kaninchen in schwacher Vergrösserung dar. Man sieht daran: 1 die centralen und peripherischen dichteren Netzwerke, bestehend aus gröberen Fasern. 2 Die Zwischenzone, welche aus ganz feinen Fasern besteht. Ferner 3 die V. centralis. Sie ist von dem dicht verflochtenen Netz umgeben und als eine feine punktförmige Lücke erkennbar. 4 Das interlobuläre Gefäßsystem, ebenfalls von dem dichten Netz umsponten. 5 Blaue Punkte in den feinen Maschen des Netzwerks. Sie sind Kerne der Leberzellen, deren Contour nicht angedeutet ist.

Fig. 2 zeigt das obere Verhältniss in starker Vergrösserung (Immersionssystem $\frac{1}{8}$ Zeiss). 1 Die oberflächlich liegenden, schwarzen Fasernetze gehen plötzlich oder allmählich in 2 die tiefbefindlichen, graublau angedeuteten Fasernetze über. Der allmähliche Uebergang ist auf dem Bilde leider nicht richtig angedeutet.



