

## IX.

# Eine makro- und mikrochemische Reaction der Fettgewebs-Nekrose.

Von

C. Benda in Berlin.

Vor einiger Zeit machte ich eine mich überraschende Beobachtung, für die ich auch in der Literatur keine Notizen gefunden habe.

Ich verwende, angeregt durch einige Hinweise C. Weigert's<sup>1</sup>, sowie durch Erfahrungen, die ich selbst mit nahestehenden Methoden gemacht habe, jetzt vielfach das von Weigert zur Darstellung der Neuroglia empfohlene Härtungsverfahren auch für andere histologische Untersuchungen. Das Verfahren besteht in einer Fixirung von Gewebsstücken mit einer stärkeren, mindestens 10 procentigen Formalinlösung, alsdann in einer nach einem oder mehreren Tagen sich anschliessenden Imprägnirung mit der von W. angegebenen sog. Neuroglia-Beize, einer Mischung von Kupferacetat-, Chromalaun- und Essigsäurelösung. Die Imprägnirung nehme ich meist im Brütöfen vor, wie es Weigert empfiehlt.

Während nun mit Ausnahme der Knochensubstanz, die sich allerdings auch mit dem Kupfersalz intensiv bläut, alle von mir untersuchten Organe in dieser Beize selbst nach wochenlanger Behandlung nur eine blasse grau-grüne Färbung annehmen und nach einiger Wässerung bald noch etwas abbleichen, fiel mir bei einem bestimmten Material ein ganz abweichendes Verhalten auf. Dasselbe sah nach 24 stündiger Beizung im Brütöfen wie mit Grünspan oder noch besser wie mit Patina überzogen aus, und auch auf Einschnitten ergab sich in der Tiefe dieselbe Färbung. Nachdem ich zunächst eine zufällige Verunreinigung der Beize vermuthet hatte, ergab sich bei erneuten Versuchen an dem Material derselben Erkrankung die regelmässige Wiederholung der gleichen Färbungs-Erscheinung.

Das Material, um welches es sich handelte, rührte zum Theil von nekrotischen Fettgewebs-Massen her, die Herr College Brentano bei einem Patienten der chirurgischen Abtheilung aus einem peritonealen Abscess entleert hatte, theils nach dem einige Zeit später erfolgten Tode des Patienten aus den bei der Section gefundenen multiplen Fettgewebs-Nekrosen des Peritoneum. Dieselben hatten sich, beiläufig bemerkt, bei diesem, von Herrn Brentano anderwärts näher beschriebenen merkwürdigen Fall im Anschluss an einen vom Duodenum ausgehenden Jauche-Abscess der Bursa

omentalis unter nur geringer Bethheiligung des Pankreas entwickelt. Sie zeigten makroskopisch und mikroskopisch das typische Verhalten.

Es war nun leicht, festzustellen, dass es von der Glia-Beize allein die Kupfersalzlösung war, welche die Färbung hervorbrachte, da letztere auch bei Fortlassung des Chromalauns und der Essigsäure eintrat. Vor Allem zeigte sich aber, als ich statt der anfänglich untersuchten grossen Conglomerat-Nekrose die isolirten Heerdchen vor Augen hatte, dass es ausschliesslich die Nekrosen waren, welche die eigenartige Färbung angenommen hatten. Die Färbung haftet nicht nur an der Oberfläche, sondern geht auch in die Tiefe, soweit die Stücke von der Kupferlösung durchdrungen werden, und auch der einzelne Heerd ist, wie der Durchschnitt ergibt, in seiner ganzen Dicke durchgefärbt, nur vielfach etwas heller grün marmorirt. Die Beschränkung der blaugrünen Färbung auf die nekrotischen Heerde ist eine so scharfe, dass es möglich ist, die denkbar kleinsten, sonst makroskopisch unsichtbaren Heerdchen zu erkennen. So traten auf den Durchschnitten des Pankreas, an dem ich bei der Section beim besten Willen nichts von Nekrosen erkannt hatte, nach der Kupferung ziemlich zahlreiche, allerdings unendlich feine Heerdchen in den Bindegewebs-Septen und innerhalb der Läppchen, makroskopisch gerade noch wahrnehmbar, hervor.

Ueber das Wesen der Färbung belehrte die mikroskopische Untersuchung, die an Zupfpräparaten oder an Gefrierschnitten vorgenommen wurde. Letztere lassen sich aus dem gekupferten Pankreas besonders schön gewinnen, während sie selbstverständlich aus dem eigentlichen Fettgewebe nur mangelhaft gelingen. Es bestätigt sich mikroskopisch, dass an den normalen Fettzellen keine Spur von Bläuung eingetreten ist. In den nekrotischen Heerden sind die scholligen Massen, die nach R. Langerhans' schöner Beobachtung<sup>2</sup> aus fettsaurem Kalk bestehen, deutlich aber bloss blaugrün gefärbt. Die intensivste Färbung, die bei durchfallendem Licht mehr grün, bei auffallendem bläulich erscheint, kommt den nadelförmigen Fettsäure-Krystallen zu, die genau in derselben Form und drusenartigen Anordnung, wie sie im ungefärbten Zustand, sowie bei Osmium- oder Sudanrothfärbung hervortritt, sich mit dem Kupfersalz gefärbt erweisen. In Glycerin scheint sich die Färbung (jetzt seit etwa vier Wochen) zu halten; vor der Einbettung in dasselbe kann man eine Gegenfärbung des Gewebes mit Alaun- oder Kupferhämatoxylin vornehmen. Die letztgenannte Färbung führt uns einen Schritt weiter in der Erkenntniss des Chemismus der eingetretenen Reaction. Wenn man die Schnitte des gekupferten Materials mit wässriger Lösung des krystallisirten Hämatoxylin behandelt, so entsteht, wie bei der Weigert'schen Markscheiden-Färbung, eine blauschwarze Gewebs-Färbung, indem das von den Geweben aufgenommene Kupfersalz in den Kupferhämatoxylinlack übergeführt wird. Die Fettsäure-Krystalle behalten aber ihre blaugrüne Farbe. Ohne mich hier über die Theorie der Hämatoxylinlack-Färbungen sonst engagiren zu wollen, möchte ich aus der erwähnten Erscheinung nur schliessen, dass das Kupfersalz in den Fettsäure-Krystallen

keinesfalls nur „absorbirt“ sein kann, sondern an einen anderen Körper chemisch zu fest gebunden sein muss, um seine Affinität zum Hämatoxylin äussern zu können. Es kann nicht zweifelhaft sein, dass hier ein fettsaures Kupfersalz entstanden ist.

Die Entstehung fettsaurer Kupfersalze beim Kochen von Neutralfett-Lösungen mit Kupferacetat, oder beim Zusammengiessen einer Alkaliseifen-Lösung mit Kupferacetat in der Kälte ist bekannt. Das Merkwürdige der vorliegenden Reaction liegt darin, dass hier die Bildung des fettsauren Kupfersalzes unmittelbar an den Krystallen der Säure und unter Beibehaltung der Krystallform vor sich geht, und dass die Verbindung schon bei ziemlich niedrigen Temperaturen (bei längerer Einwirkung der Zimmertemperatur, bei mehrstündiger Einwirkung der Bruttemperatur) erfolgt.

Die Reaction ist in dieser Form, wie mich Herr Thierfelder unterrichtete, wahrscheinlich auch von Seiten der Chemiker nicht beachtet worden.

Ich habe des Weiteren einige Versuche gemacht, um die bei der Reaction betheiligte Fettsäure zu ermitteln. Ich konnte die gleiche Reaction an den auf dem Objektträger angehefteten Krystallen einer mir von dem Oberapotheker Herrn Dr. Beissen aus der Waschseife dargestellten Fettsäure ausführen. Sie misslangen mir bei Zimmer- oder Bruttemperatur, dagegen an einer mir von Herrn J. Munk freundlichst überlassenen Stearinsäure aus Hammelfett, und ebenso an Fettsäure-Krystallen aus einer Lungengangrän, die ich auf Anregung Herrn A. Fränkel's darauf prüfte. Es musste sich also um eine Eigenschaft einer bestimmten oder einiger Fettsäuren handeln, die weiter zu eruiren waren. Ich vermuthete zunächst, dass es dieselben Fettsäuren, vielleicht Palmitin- und Stearinsäure-Gemische, seien, die nach R. Langerhans' Beobachtungen innerhalb der Nekrosen im lebenden Körper bei der Bildung des fettsauren Kalks betheiligt sind, also auch den Kalk bei Körpertemperatur aus seinen in der Circulation befindlichen Salzlösungen abfangen müssen.

Ich habe nunmehr mit reinen, von der Firma J. D. Riedel bezogenen Präparaten der drei hauptsächlich in Frage kommenden Fettsäuren, der Palmitinsäure, der Stearinsäure und der Oelsäure, Versuche angestellt. Es ergab sich, dass alle drei Substanzen sowohl rein, als auch in den verschiedenartigsten Gemischen im Stande sind, sich mit Kupferacetat zu einer fettsauren Kupfer-Verbindung zu vereinigen. Während aber bei Palmitin- und Stearinsäure hierzu Siedetemperatur oder längere Einwirkung von mässigen Temperaturen (etwa 40°) nöthig ist, geschieht diese Verbindung bei der flüssigen Oelsäure schon bei Zimmertemperatur momentan, sobald man Oelsäure mit Kupferacetat-Lösung schüttelt. Durch Zusatz von Oelsäure zu Stearin- und Palmitinsäure wird die Bildung der Kupfer-Verbindung ebenfalls erleichtert. Ich glaube mich durch diese Vergleiche berechtigt, aus der von mir beobachteten Kupferreaction der Fettgewebs-Nekrosen auf einen be-

deutenden Antheil von Oelsäure innerhalb der nekrotischen Fettzellen neben den beiden anderen genannten festen Säuren schliessen zu dürfen.

Für die histologische Untersuchung gewährt die neue Reaction einige unverkennbare Vortheile. Die übrigen Fettfärbemethoden, Osmiumsäure und Sudanroth, von denen besonders das letztere an den Gefrierschnitten des Formalin-Gliabeize-Materials brillante Färbungen ermöglicht, färben Neutralfette und Fettsäuren gleichmässig. Die Sudanfärbung ist ausserordentlich geeignet, die parenchymatöse Entzündung der Pankreaszellen darzustellen. Aber gerade bei der Sudanfärbung verschwindet durch die Intensität der Färbung des Fetts der charakteristische Unterschied zwischen den normalen und den nekrotischen Fettzellen, indem die Fettsäuren, wo sie von amorphem Fettdetritus umgeben sind, kaum erkannt werden können.

Bei der Kupferung hingegen heben sich die blaugrünen Fettsäure-Krystalle von den etwas matter gefärbten amorphen Concretionen fettsauren Kalkes, und beide von den gänzlich ungefärbten, normalen und pathologischen Neutralfett-Tropfen aufs Schärfste ab. Man ist so auch mikroskopisch im Stande, die kleinsten Anfänge der Erkrankung zu beobachten. In dem erwähnten, nur wenig erkrankten Pankreas, welches vornehmlich das Object meiner bisherigen Untersuchung war, habe ich so mehrfach ganz isolirte nekrotische Fettzellen gefunden, die theils in den interlobulären Bindegewebszügen, theils inmitten fast normaler Drüsenläppchen vertheilt waren. Ich glaube, dass dieselben bei keiner anderen Methode auffallen würden, und dass sie thatsächlich, soviel ich auch aus der sorgfältigen Zusammenstellung der grossen Arbeit von Katz und Winkler<sup>3</sup> ersehe, bisher nicht beobachtet zu sein scheinen. Eine zweite der Methode verdankte Beobachtung greift in eine in dem Capitel der Fettgewebs-Nekrose viel discutierte Frage ein. Ich finde in der Umgebung einzelner interstitieller Nekrose-Heerdchen des Pankreas kleine Infiltrate von Zellen, offenbar leukocytischer Natur, die mit stark lichtbrechenden Schollen und Tropfen angefüllt sind. Diese Einschlüsse sind ebenfalls deutlich grün gefärbt. Wir haben hier offenbar die Zellen vor uns, die Balser<sup>4</sup> als wuchernde Fettzellen auffasste. Langerhans<sup>2</sup> erkannte die Beziehung der Zellen zu Gefässen, scheint aber ihre Einschlüsse nicht bemerkt zu haben, er glaubt dagegen, Strassen von fettsauren Kalkmassen ohne Beziehung zu Zellen in der Umgebung der Nekrose zu sehen. Dass solche freien Fettkalk-Concremente vorkommen, kann ich nach meinen Präparaten bestätigen, ebenso muss ich aber auch für die Existenz der fetthaltigen Zellen eintreten. Ueber die Beziehung beider giebt meine Methode Aufschluss. Da weder das Fett degenerirender Zellen, noch das resorbirte oder infiltrirte Fett von Leukocyten oder Parenchymzellen je die betreffende Reaction zeigen, müssen auch jene Zelleinschlüsse Partikeln fettsauren Kalks, die aus den Nekrose-Heerden stammen, vorstellen. Es ist daraus zu folgern, dass die Balser'schen Zellen Phagocyten sind, welche die Resorption des Nekrose-Heerdes einleiten. Ich erwähne schliesslich noch, dass im Uebrigen das vorliegende Pankreas nur geringfügige Entzündungs-Erscheinungen auf-

weist. Die Pankreasepithelien enthalten nur stellenweise kleinste, mit Sudan-roth färbbare Fetttröpfchen. Um die kleinsten und frischesten Nekrose-Heerdchen und isolirten nekrotischen Zellen fehlt jede Spur einer entzündlichen Zellinfiltration. Grössere Leukocyten-Ansammlungen im peri- und parapankreatischen Bindegewebe stehen mit dem erwähnten Peritoneal-Abscess in Verbindung, aber lassen keine unmittelbare Beziehung zu den Nekrosen erkennen.

Ich fasse meine Ergebnisse zusammen: Die Kupferung von Formalin-Material giebt eine sehr feine makroskopische und mikroskopische Reaction auf Fettgewebs-Nekrose durch eine blaugrüne Färbung der Fettsäure-Krystalle und des fettsauren Kalks, bei der vornehmlich eine Oelsäure-Verbindung des Kupferoxyds in Erscheinung tritt. Mit Hülfe der Methode sind die ersten Anfänge der Nekrose als unabhängig von Entzündungs-Processen zu erkennen. Die Zellinfiltrationen in der Umgebung der Heerde sind theilweise als Zeichen einer Resorption des Heerdes aufzufassen.

### Literatur.

1. C. Weigert, Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuralgie. Festschrift Frankfurt a. M. 1895. S. 144.
2. R. Langerhans, Ueber multiple Fettgewebsnekrose. Dieses Archiv. 122. 1890.
3. Katz und Winkler, Die multiple Fettgewebsnekrose. Klinische und experim. Studien. Berlin 1899.
4. Balser, Ueber Fettnekrose, eine zuweilen tödtliche Erkrankung des Menschen. Dieses Archiv. 90. 1882.