

XII.

Über Färbung mit Bestschem Karmin, speziell zum Nachweis von Fibrin.

(Aus dem Pathologischen Institute des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)

Von

Eug. Fraenkel.

(Hierzu Taf. III, Fig. 1, 2.)

Vor 2 Jahren hatte ich unter Demonstration farbiger Photogramme in der biologischen Abteilung des ärztlichen Vereins darauf aufmerksam gemacht, daß wir in dem von Best zum färberischen Nachweis von Glykogen angegebenen Karmin (cf. Vhdlgn. d. D. pathol. Ges., IV. Tagung, S. 108) einen ausgezeichneten Farbstoff zur tinktoriellen Darstellung von Fibrin besitzen (Vhdlgn. d. biol. Abt. d. ärztl. Vereins 1908, S. 105). Ich habe mich seitdem bei meinen histologischen Untersuchungen sehr intensiv mit dem Bestschen Karmin beschäftigt und möchte über einige der dabei gewonnenen Erfahrungen nachstehend berichten, um so mehr, als, wie ich sehe, die Fähigkeit dieses Karmins, Fibrin in so farbenprächtiger Weise sichtbar zu machen, weiteren Kreisen nicht bekannt geworden zu sein scheint und die Anwendungsweise desselben sich nach wie vor lediglich auf die tinktorielle Glykogendarstellung bezieht.

Jeder, der nach den Vorschriften von Best mit dessen Karmin gefärbt hat, wird, darin zweifle ich nicht, mancherlei Mißerfolge zu verzeichnen gehabt haben. Mir selbst ist es im Anfang vielfach so ergangen, und ich habe mich durch Beziehen der Karminlösungen aus verschiedenen Quellen davon überzeugt, daß die fertigen Lösungen schon für die makroskopische Betrachtung ein durchaus von einander abweichendes Aussehen in den Nuancen des Rot darbieten können. Bei meinen, sich nun über mehr als 2 Jahre erstreckenden, bezüglichen Untersuchungen bin ich durch die Krankenhausapotheke in bereitwilligster Weise unterstützt worden und verfüge jetzt konstant über sehr brauchbare, intensiv färbende Bestsche Karminlösungen. Bei der Anfertigung derselben habe ich mich an die Bestschen Angaben (a. a. O. S. 109 sub linea) gehalten.

Best läßt das Karmin mit Ammoniumchlorid verreiben und mit Wasser kochen. Hier würde eine genauere Vorschrift über die Dauer des Kochens sehr am Platze sein. Der Abkochung wird nach Best Lith. carbon. und Liqu. ammon. caust. zugefügt; nach 24 Stunden wird filtriert. Zum Färben wird diese Lösung mit ammoniakalischem Alkohol (1 : 4) verdünnt. In der so hergestellten Lösung sollen die Schnitte 15 bis 60 Minuten verbleiben. Die Stammlösung färbt Glykogen nur am 2. bis 10. Tage der Herstellung, am besten am 3. bis 4. Tage.

Nach meinen Erfahrungen bedürfen diese Bestschen Angaben in vielfacher Beziehung einer Korrektur. Ich wenigstens habe Karminlösungen, die tatsächlich innerhalb 15 bis 60 Minuten Glykogen kräftig zu färben vermögen, nur ganz ausnahmsweise unter die Hände bekommen und habe deshalb, anfangs zögernd, später immer dreister, die Schnitte stundenlang in der vorschriftsmäßig verdünnten Karminlösung belassen, bis zu 20 Stunden. Dabei erhält man dann tadellose

Präparate, in denen die feinsten Glykogentröpfchen mühelos zu erkennen sind. M. E. ist man, falls in nach einstündiger Färbung untersuchten Schnitten der Glykogen-nachweis negativ ausfällt, keineswegs zu der Annahme berechtigt, daß die Gewebe tatsächlich kein Glykogen enthalten.

Um sich von der Färbekraft der benutzten Lösung zu überzeugen, nimmt man in Abständen von $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde einen oder den andern Schnitt und kontrolliert unter dem Mikroskop. So kann man sich vor Überfärben des Gewebes unschwer schützen. Auch bei dem Entfärben der Schritte bin ich von den Best-schen Vorschriften insofern abgewichen, als ich die Schnitte in der mehrfach gewechselten Differenzierungsflüssigkeit so lange belasse, bis sie roten Farbstoff nicht mehr abgeben. Die auf Glykogen zu untersuchenden Gewebe habe ich in Anlehnung an die Angaben von G i e r k e und L u b a r s c h immer in absolutem Alkohol fixiert und kann auch nur zur Innehaltung dieser Vorschrift raten, wenn man zuverlässige Resultate über Menge und Vorhandensein von Glykogen erhalten will.

Es hat sich nun bei meinen Untersuchungen, die ich aus ganz bestimmten Gründen zunächst auf Präparate von e i t r i g e r E n t z ü n d u n g d e r M e - n i n g e n beschränkt hatte, ergeben, daß sich dabei ein fädiges Material in dem Exsudat färbte, das füglich nichts anderes sein konnte als Fibrin. Um darüber ins klare zu kommen, wählte ich bei meinen ferneren Untersuchungen eine Erkrankung, in deren Verlauf erfahrungsgemäß reichlich Fibrin zur Abscheidung kommt, ich meine die L u n g e n e n t z ü n d u n g. Dabei stellte sich mit absoluter Sicherheit heraus, daß sich in der Tat das in den Alveolen befindliche Exsudat-Fibrin in ganz distinkter Weise hellrot färbt und gegen die mit dunkelblauen Kernen versehenen, in den Alveolen befindlichen zelligen Elementen scharf kontrastiert. Das Gleiche ergab sich für das in den Lungenarterien angehäufte, mehr oder weniger reichliche, fädige Fibrin.

Es gelingt nun, das fibrinöse Material von gleichzeitig in den Schnitten vorhandenem Glykogen sehr gut zu unterscheiden. Schon die Form, in der das Glykogen auftritt, als gröbere und feinere Kugeln und Tröpfchen, ist eine von der des Fibrins, das sich in feinen Fäden, dichten Netzen oder knorriegen Balken präsentiert, völlig abweichende. Aber auch hinsichtlich des Farbenton's unterscheiden sich beide Substanzen voneinander, insofern das Rot des Glykogens ein exquisit leuchtendes, brillantes ist, während dieser eigenartige Glanz dem auch fast feurigroten Fibrin durchaus fehlt.

Daß das B e s t s c h e Karmin nicht absolut elektiv färbt, wußte B e s t selbst. Er erwähnt, daß „derbes Bindegewebe sich auch rot färbt, ferner die Körner der Mastzellen und am täuschendsten das Protoplasma der Magendrüsen“ (cf. G i e r k e, Habilitationsschrift S. 11). G i e r k e fügt hinzu, daß manche Kalkablagerungen ein ähnliches Verhalten zeigen. Eine Verwechslung dieser Dinge mit Glykogen ist indes ebenso ausgeschlossen, wie eine solche mit Fibrin, und wir dürfen deshalb das B e s t s c h e Karmin als einen Glykogen und Fibrin spezifisch tingierenden Farbstoff bezeichnen. Die damit gefärbten Schnitte sind absolut dauerhaft und meine vor 2 Jahren demonstrierten Präparate zeigen noch jetzt die gleiche Farbenpracht wie damals.

In gleicher Weise wie in eitrig entzündeten Meningen und pneumonisch erkrankten Lungen läßt sich auch das F i b r i n i n P s e u d o m e m b r a n e n

(beispielsweise bei der Rachendiphtherie) mit dem Bestschen Karmin hervorragend schön färben.

Eine Entfärbung in der aus Methylalkohol, absolutem Alkohol und Aqu. dest. (2 : 4 : 5) hergestellten Lösung tritt auch bei noch so langer Einwirkung dieser Differenzierungsflüssigkeit nicht ein. Ich lasse, wenn mich anderweitige Beschäftigung an der Versorgung der Schnitte hindert, diese stundenlang in dem Entfärbungsgemisch liegen. Gerade an solchen, sich auf fibrinöse Entzündungen der Rachenengebilde bei echter Diphtherie beziehenden, mit Best schem Karmin gefärbten Schnitten kann man sich davon überzeugen, wie auch in den tieferen Schichten der eigentlichen Mukosa fibrinöses Exsudat angehäuft ist, hier meist in Form eines äußerst feinfaserigen Gewirrs, während es um die hier verlaufenden Gefäße dickere Ringe bildet und das Lumen anderer als kompakte Thromben total obturiert.

In dieser Weise hergestellte, sich durch ihren Kontrastreichtum auszeichnende, Schnitte eignen sich nun ganz besonders gut für die Anfertigung farbiger Photogramme. Dabei war mir aufgefallen, daß in letzter Zeit hergestellte, bei der Betrachtung unter dem Mikroskop tadellos gefärbt erscheinende Präparate auf dem photographischen Schirm einen auffallend violettreten Farbenton darboten, der sich auf den Lumièreplatten in störender Weise geltend machte. Änderungen der Expositionszeit schafften keinen Wandel. Die Ursache mußte also in dem Karmin gesucht werden und meine darauf gerichteten Recherchen ließen mich feststellen, daß die Karminlösung zwar in der Vorschrift entsprechenden, richtigen Zusammensetzung hergestellt, aber nicht gekocht war. Es wurde Carmin. ammon. chlorat. und Lithion carbon. fein verrieben, gemischt und mit dem Gemisch von Aqu. dest. und Liquor ammon. caust. während eines Tages digeriert, dann filtriert. Die so angefertigte Lösung färbt zwar, wie erwähnt, Glykogen wie Fibrin durchaus tadellos, aber, wie die Betrachtung der damit tingierten Schnitte bei Bogenlicht auf dem photographischen Schirm lehrte, doch in einer für die Herstellung farbiger Photogramme unzweckmäßigen Nuance.

Ich suchte nun nach einer Erklärung für dieses Verhalten und habe kalt und (nach der Bestschen Vorschrift) heiß gelöstes Karmin spektroskopisch untersucht. Fertigte man sich im Verhältnis von 1 : 72 mit ammoniakalischem Alkohol verdünnte Lösungen an und betrachtete diese bei einer Schichtdicke von 10 mm, so fiel schon makroskopisch die Differenz im Aussehen des auf kaltem bzw. heißem Wege gelösten Karmins auf. Während das letztere einen absolut rein roten Farbenton darbot, zeigte ersteres eine deutlich violette Röte. Sehr deutliche Unterschiede deckte das Spektroskop auf.

Die heiße Lösung zeigte einen deutlichen Absorptionsstreifen von λ 502—522, einen schwächeren von 542—565; die entsprechenden Dunkelheitsmaxima lagen bis λ 512 bzw. 552.

Die kalte Lösung zeigte einen intensiven Streifen von λ 508—529, einen

schwächeren von λ 550—570, die entsprechenden Dunkelheitsmaxima lagen bis λ 517 bzw. 560.

Der photographische Schirm und das Spektroskop haben uns also Differenzen zweier, ihrer chemischen Zusammensetzung nach gleichartigen Karminlösungen kennen gelehrt, die durch die Betrachtung der damit gefärbten mikroskopischen Schnitte nicht zu bemerken waren.

Wem es nicht darauf ankommt, nach der Bestschen Methode gefärbte Schnitte zur Herstellung farbiger Photogramme zu verwenden, der kann auch kalt angefertigte Karminlösungen benützen. Die Darstellung des Glykogens sowie des Fibrins gelingt damit tadellos. Für Lumièrephotogramme müssen dagegen, meinen hier mitgeteilten Erfahrungen zufolge, die Schnitte in (nach Best's Angaben) heiß gelöstem Karmin gefärbt werden.

Ich lasse für Interessenten die Vorschrift, nach der meine Lösung angefertigt wird, hier folgen.

Karmin (Marke Nacarate) 0,5, Ammon. chlor. 1,0, Lithion carbon. 0,25 werden fein verrieben gemischt und in 25,0 kochenden destillierten Wassers eingetragen. Nach dem Erkalten fügt man den Liquor. ammon. caust. (10,0) hinzu, digeriert einen Tag und filtriert.

Mit so hergestellten Lösungen, die ich immer im Dunkeln, möglichst kühl und vor allem sorgfältig verkorkt konserviere, kann man nicht nur Tage und Wochen, sondern Monate lang mit stets gleich guten Resultaten färben, so daß die Lösungen fast ausnahmslos bis zum letzten Tropfen verwendbar sind. Die Stammlösung wird immer unfiltriert mit ammoniakalischem Alkohol verdünnt. Bei Mißerfolgen empfiehlt sich immer eine Kontrollfärbung an sicher glykogenhaltigem Material, wozu sich am besten Stückchen von meist durch starken Glykogengehalt ausgezeichneten malignen Hypernephromen eignen.

Daß die Schnitte mit (am besten D'Eliafield'schem) Hämatoxylin vorgefärbt werden müssen, hat Best bereits angegeben. Es empfiehlt sich, stark zu überfärbten und mit Salzsäurealkohol bis zu der gewünschten Nüance zu differenzieren. Beim nachherigen Einbringen in (Leitungs-) Wasser dunkeln sie dann ohnehin wieder nach. Nach erfolgter Hämatoxylinierung entzelloidiniere ich die Schnitte gewöhnlich (in Azeton-Alkohol); danach kommen sie in absoluten Alkohol, Aqu. destill. und werden erst dann der Karminfärbung unterworfen. Die Entzelloidinierung kann aber auch erst an diese angeschlossen werden; die Auflösung des Zelloidins geht aber dann viel schwieriger und oft nicht ganz vollständig vor sich. Absolut notwendig ist übrigens die Entzelloidinierung überhaupt nicht, aber die Schnitte sind doch eleganter.

Ich will nicht unerwähnt lassen, daß man auch in Knochenschnitten Fibrin in vortrefflicher Weise mit dem Bestschen Karmin zur Anschaugung bringen kann. Ich fixiere die Knochen vor der Entkalkung aber auch in absolutem Alkohol. Ich sehe davon ab, weitere Angaben über die Verwendbarkeit des Bestschen Karmins auf andern histologischen Gebieten zu machen und kann nur sagen, daß es mir außerordentlich gute Dienste geleistet hat. Vorbedingung ist der Besitz eines guten Karmins. Ich zweifle nicht daran, daß so manche widersprechende Angaben über das Vorkommen von Glykogen unter normalen und pathologischen Verhältnissen auf die Benutzung eines ungeeigneten Karminpräparates zurückgeführt werden müssen.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. III, Fig. 1, 2.

Fig. 1. Fibrinöses Exsudat in den Lungenalveolen bei lobulärer Pneumonie. Vergr. 200 fach.

Fig. 2. Fibrinöse Pseudomembran der hinteren Rachenwand bei Schlunddiphtherie.

Alle Präparate sind mit Bestscher Karminlösung gefärbt.

XIII.

Über einige Fälle von Carcinoma corporis uteri mit viel Glykogen.

(Aus dem Patholog. Institut der Universität Bern.)

Von

Hermann E. De Bonneville, aus Genf,

Arzt, Assistent am Institut in Bern.

(Hierzu 2 Textfiguren und Taf. III Fig. 3.)

In der sehr umfangreichen Literatur über Carcinoma uteri vermissen wir Angaben über den Glykogengehalt des Uteruskrebses. Auch die neuesten Handbücher der Geburtshilfe und Gynäkologie berücksichtigen die Frage nicht. Nur bei Langhans findet sich die Bemerkung, in seiner Arbeit aus dem Jahre 1890, daß die gewöhnliche Form des Portiokrebses nur im ganzen selten Glykogen und nicht in größerer Menge enthält.

Die zwei Fälle von Uteruskrebs, die ich im folgenden beschreibe, waren ausgezeichnet durch ihren Glykogengehalt. Besonders der erste enthielt Glykogen so massenhaft, daß schon deshalb eine genauere Bearbeitung und Veröffentlichung sich lohnen dürfte.

Sie wurden mir nach Härtung in Alkohol übergeben. Es wurden die gewöhnlichen Methoden des Mikrotoms und der Färbung angewandt, also Einbettung in Zelloidin und zwar lagen einzelne Blöcke bis 3 Monate in Zelloidin, so daß es möglich war, an denselben trotz des größeren Umfangs der Blöcke, doch noch vollständige Schnitte bis zu 10 μ herab zu erhalten und zwar Schnitte von 3 auf 2 cm. Von Färbungen wurden angewandt: Hämatoxylin-Eosin, die Bestsche Färbung des Glykogens mit Karmin, die Unna-Pappenheim'sche Färbung für die Plasmazellen und begreiflicherweise die van Gieson'sche Färbung, wo es notwendig war.

Uterus Nr. 1. Carcinoma corporis uteri.

Krankengeschichte. 76jährige Frau, die immer ganz gesund und kräftig gewesen, 4 normale Geburten und 3 Aborte durchgemacht hat. Sie leidet seit 12 Jahren an geringen Blutabgängen durch die Vagina. Vor 2 Jahren konstatierte der Hausarzt, daß der Uterus faustgroß war. Seit dieser Zeit nahm er allmählich an Größe zu, entleerte sich aber unter zwei Malen. Beide Male floß in großer Menge eine klare rötliche Flüssigkeit aus, ganz plötzlich und so, daß die Patientin „im Bett gebadet war“.

Beim Eintritt in das Linden hospital in Bern fand Herr Dr. v. Mutsch, dem ich die klinischen Notizen verdanke, den Uterus wie im 8. Monate der Gravidität, kugelrund von außen anzufühlen. Im hinteren Scheidengewölbe fühlte man einen faustgroßen runden Tumor an der

Fig. 1

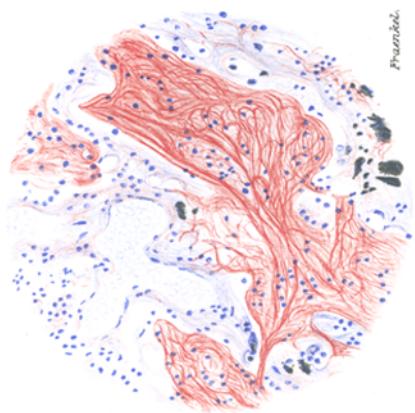


Fig. 3

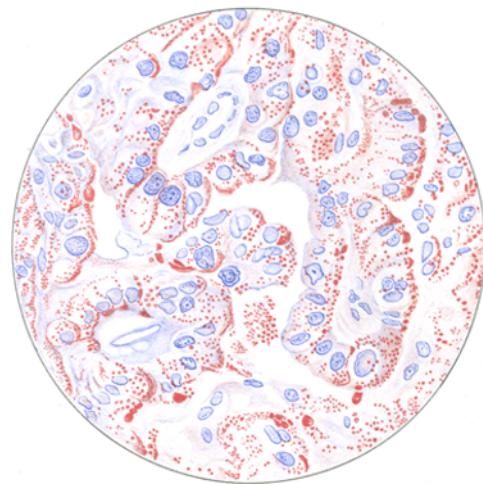


Fig. 3

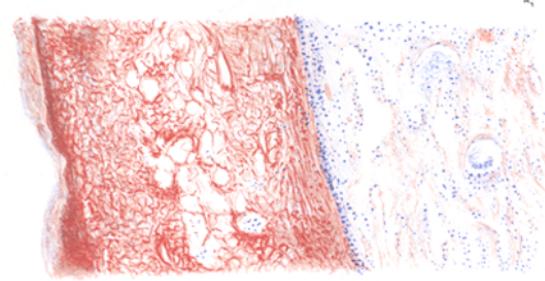


Fig. 2

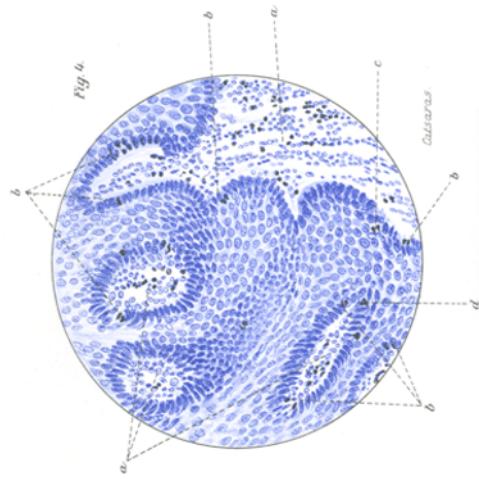


Fig. 4