

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin. — Direktor: Geheimrat  
*Lubarsch.*)

# Untersuchungen über den Gehalt der Nasen-, Kehlkopf- und Luftwegeschleimhaut und das Vorkommen von Fetten, fettähnlichen Stoffen und Pigmenten in normalen und krankhaften Zuständen.

Von

Dr. Hisomu Mitsuhashi (Japan).

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Dezember 1925.)

## Inhaltsverzeichnis.

Einleitung (S. 2).

Material und Untersuchungsmethode (S. 2).

I. Untersuchung von Totgeburten und Säuglingen ohne Erkrankungen der Nasen-Atmungsorgane (S. 3).

Mikroskopisches Verhalten des Fettgewebes der Schleimhäute (S. 4).

II. Gleiche Untersuchungen bei Kindern und Erwachsenen ohne nachweisbare Erkrankungen der Nasen- und Atmungsorgane (S. 5).

Über die Fetttröpfchen der Drüsenepithelzellen und Pigmente der Muskelzellen der Mukosa der Nasen-(Untermuschel)Luftröhrenschleimhäute (S. 6).

Morphologisches Verhalten der Zellfetttröpfchen der Schleimhäute (S. 7).

1. Optische Verhältnisse (S. 7).

2. Mikrochemisches Verhalten (S. 10).

3. Lokalisation, Menge und Form der Fetttröpfchen (S. 10).

Das morphologische Verhalten des Pigments der Muskelzellen der Nase und der Luftwege (S. 11).

1. Optische Erscheinungen (S. 11).

2. Mikrochemisches Verhalten (S. 11).

3. Natur des Pigmentes (S. 13).

III. Untersuchungen bei Kindern und Erwachsenen mit Erkrankungen der Nase und der Luftwege (S. 14).

1. Allgemeinerkrankungen (S. 15).

A. Phosphatide in Drüsenepithelzellen (S. 15).

B. Über das Vorkommen des Abnutzungspigmentes in Nase und Luftwegen bei verschiedenen Erkrankungen (S. 16).

Über das Vorkommen von Phosphatiden und Abnutzungspigment in der Nase und den Luftwegen bei Phtisikern (S. 18).

2. Lokale Krankheitsscheinungen (S. 19).

IV. Auspflanzung von Nasen-, Kehlkopf- und Luftwegeschleimhaut von Kaninchenfeten (S. 22).

- Material und Nährmedium (S. 22).
- Gewinnung des Nährmediums (S. 22).
- Über den Fettgehalt der Nasen- und Luftwegeschleimhäute von Kaninchenfeten (S. 23).
- Über den Fettgehalt der Organe der oberen Luftwege von Kaninchenfeten (S. 24).
- Fett nachweis im Nährmedium (S. 24).
- Wachstumserscheinungen des Schleimhautgewebes (S. 25).
- Wachstumserscheinungen von Epithelzellen und Fettbildung in ihnen in vitro (S. 26).
- Morphologische Erscheinungen der Epithelien in vitro (S. 27).
- Zur Frage der Fettoplasmacytose (S. 27).
- Die Fettsubstanzen der Epithelzellen nach Beobachtungen in vitro (S. 28).
- Bindegewebszellenwachstum und die Verfettung der Bindegewebszellen (S. 29).
- Wachstumserscheinungen der Bindegewebszellen (S. 30).
- Fett nachweis in den Bindegewebszellen (S. 30).
- Wachstumserscheinungen der Muskelzellen und Fettbildung in ihnen (S. 31).
- Zur Frage der Unterscheidung von Fibroblasten und Myocytes in vitro (S. 32).
  - A. Unregelmäßig auftretende Unterscheidungsmerkmale (S. 32).
  - B. Sichere Unterscheidungsmerkmale (S. 33).
- Literatur zur Lipoidfrage in vitro (S. 35).
- Zusammenfassung (S. 35).

### **Einleitung.**

Seit dem Bericht über den pathologischen Fettstoffwechsel von Dietrich hat die Forschung auf diesem Gebiete weitere große Fortschritte gemacht und viele Fragen, die damals noch strittig waren, einer Klärung zugeführt. Aber in bezug auf die pathologische Bedeutung der Fett-Lipoidablagerungen sind die Untersuchungen noch nicht erschöpfend. Die Literatur über das Vorkommen von Fetten und Lipoiden in den verschiedenen Organen ist zwar sehr umfangreich — ich habe über 700 Arbeiten gelesen — und trotzdem gibt es noch eine ganze Reihe von Organen und Organteilen, bei denen die Frage, ob das Auftreten von Fetten und Lipoiden in Zellen noch in den Bereich der normalen oder der krankhaften Vorgänge hineingehört, ungelöst ist. Derartige Fragen müssen zunächst mit morphologischen Methoden untersucht werden. Chemische, biologische und experimentelle Untersuchungen kommen nur als Hilfsmittel daneben in Betracht. Ich wurde deswegen von Herrn Geh. Rat Lubarsch veranlaßt, derartige Untersuchungen unter Hinzuziehung auch von Pigmentablagerungen für Nasen-, Kehlkopf- und Luftwegeschleimhaut vorzunehmen.

### **Material und Untersuchungsmethode.**

Das Untersuchungsmaterial stammte von 200 Fällen im Alter vom 5. Fetalmonat bis zum 70. Lebensjahr. Es wurde so früh als irgend

möglich nach dem Tode, spätestens aber 24 Stunden danach entnommen. Verwandt wurden 1. Nasenschleimhaut: Vorderschädelgrube und Nasendach wurden abgemeißelt, und aus der Nasenhöhle wurde von Ober-, Mittel- und Untermuschel und Nasennebenhöhle die Schleimhaut entnommen; 2. Kehlkopf: Untersucht bei Totgeburten ganzer Kehlkopf, bei Erwachsenen Stimmbänder und die Umgebungsschleimhaut; 3. Lufröhre: Untersucht der erste Ring, die Bifurkationsstelle und die dazwischenliegende Schleimhaut mit Knorpel. Härtung des Materials: 10 proz. Formalinlösung, Müller-Formol, Formalin-Alkohol (zur Eisenreaktion). Je nach Bedarf wurden Gefrier- oder Paraffinschnitte angefertigt. Färbung: Sudan III, Nilblausulfat, Smith-Dietrich, Ciaccio, Fischler. Außerdem Untersuchung der Präparate im polarisierten Licht. Pigmentnachweis: Ohne Färbung, Färbung mit Carmin, Turnbullblaureaktion und Oxydasereaktion.

### I. Untersuchung von Totgeburten und Säuglingen ohne Erkrankungen der Nasen-Atmungsorgane.

Das untersuchte Material stammte zumeist von Sektionen, teilweise auswärtigen Zusendungen. Es ist selbstverständlich, daß unser Material mehr oder weniger durch krankhafte Zustände beeinflußt war. Ich wählte Fälle aus, die makroskopisch keine Veränderungen der Nasen- und Atmungsorgane zeigten. Die Luftwege mußten also unbehinderte Luftzufuhr erlauben. Die anatomischen Verhältnisse zeigen zwischen Totgeburten und Säuglingen kaum Unterschiede, außer daß bei Totgeburten das Drüsengewebe der Schleimhäute tiefer als bei Säuglingen liegt. Ich berücksichtige nun: 1. Die Epithelschicht der oberflächlichen Schleimhaut, 2. das Unterhautbindegewebe, 3. die Schleimdrüsen, 4. die Muskelzellen zwischen dem Drüsengewebe. Wir wollen für die vorliegende Untersuchung das Fett nach seinem Vorkommen in zwei Arten einteilen: 1. interstitielles Fettgewebe, 2. intracelluläres Fett. Man findet Fettgewebe im Zwischengewebe der Schleimhautdrüsen mit Ausnahme der Nasenschleimhaut. Dagegen findet man keine intracellulären Fettsubstanzen an den obenerwähnten vier Stellen. Bei Erwachsenen sieht man in den Drüsenepithelzellen Fetttröpfchen. Vielleicht läßt es sich Entwicklungsgeschichtlich erklären, daß Fettbildungsvorgänge in den Drüsenepithelzellen erst später auftreten. Die untersuchten 56 Fälle waren Totgeburten vom 5. Monat an und Säuglinge bis zum 8. Monat. Das Vorkommen des „Fettgewebes“ der Luftwegeschleimhäute war folgendes: Unter 12 Totgeburten zeigten 2 Fettgewebe im Kehlkopf und in der Trachealschleimhaut, unter 44 Fällen von Säuglingen fand sich 6 mal Fettgewebe im Kehlkopf, 7 mal in der Lufröhrenschleimhaut, und zwar fand sich das Fettgewebe öfter tiefer bis zur Bifurkationsstelle hin.

**Mikroskopisches Verhalten des Fettgewebes der Schleimhäute.**

10 dicke, frisch geschnittene Präparate wurden mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt und mit Polarisationsapparat bei Zimmer-temperatur untersucht. Außerdem wurden die Präparate jedesmal mit Fettfarbstoffen gefärbt. Bei der Nilblausulfatfärbung muß man die Präparate mindestens 20 Min. in konzentrierter Lösung von Nilblausulfat liegenlassen, dann in Wasser auswaschen und nach *Schmorl* in 1 proz. Essigsäurelösung differenzieren. Bei der Smith-Dietrich-Methode ist es notwendig, daß, wie *Kawamura* betont hat, nach der Chromierung die Schnitte gründlich in Wasser ausgewaschen werden oder über Nacht in destilliertem Wasser liegenbleiben. Bei der Differenzierung mit Boraxferricyankalilösung muß man alle 2 Stunden die Präparate beobachten, um zu sehen, ob die Blutkörperchen gut differenziert sind oder nicht. Zur Lipoidfärbung empfehle ich die Smith-Dietrich-Methode, weil sie gleichzeitig die Gruppe der doppeltbrechenden Cholesterin-körper und P-haltige Substanzen färbt. In frischen Präparaten, die Fette und Lipoide enthalten, sieht man tropfenförmige, meistenteils anisotrope Substanzen, die bei einfacher Untersuchung nicht hervor-treten, unter dem Polarisationsmikroskop jedoch glänzende Licht-figuren zeigen. Oft bilden sie nadelförmige Krystalle. Außerdem sieht man isotrope Kugeln und Ovale. Die doppeltbrechenden Substanzen verlieren ihre Anisotropie beim Erwärmen und gewinnen sie nach dem Abkühlen wieder. Wenn man dieselben Präparate 20 Min. mit absolutem Alkohol behandelt, dann verschwinden meistenteils die doppeltbrechen-den Substanzen, nur bisweilen sieht man schöne doppeltbrechende Körper, die bei Erwärmung ihre Anisotropie schwerer verlieren als früher. Vielleicht handelt es sich um zwei verschiedene doppeltbrechende Substanzen. Die eine ist im absoluten Alkohol leicht, die andere schwer löslich. Wahrscheinlich handelt es sich um Cholesterinester oder Cho-lesterinfettsäuregemische. Mit Nilblausulfatlösung gefärbt, zeigen die mit Formalin fixierten Gefrierschnittpräparate feine Fettmassen. Man sieht verschiedene Fettröpfchen. Die Fettgewebsläppchen enthalten anisotrope Kugeln oder isotrope Schollen, die, an Menge verschieden, zu Haufen zusammenliegen. Das Verhältnis von iso- und anisotropen Substanzen zueinander ist in den einzelnen Fällen verschieden. Oft sitzt die rote Masse im Zentrum der Fettgruppe und ist von der blau-roten umgeben. An der Peripherie liegt die tiefblaue Masse. Dieselben ungefärbten Präparate, 5—10 Min. in absolutem Alkohol eingetaucht, dann in Wasser gut ausgewaschen, werden wieder mit Nilblau gefärbt. Die früher rot gefärbten Massen sind jetzt verschwunden, dagegen zeigen teilweise hellrotfarbene Substanzen, die manchmal im Zentrum ganz blaß sind, schöne Doppelbrechung. Tiefblau gefärbte Körnchen bilden Massen mit manchmal nicht gefärbtem Zentrum, so daß blaue Ringe

oder Halbmonde entstehen. Die Smith-Dietrich-Methode färbt die Lipoidmassen schwärzlich oder blauschwarz. Die blauschwarzen Substanzen zeigen Doppelbrechung. Es ist bemerkenswert, daß unsere nach *Smith-Dietrich* gefärbten Präparate bei Behandlung mit absolutem Alkohol sich nicht von unbehandelten Präparaten unterscheiden. Wahrscheinlich färben sich Neutralfette und Cholesterinester nicht, sondern Cholesteringemische und P-haltige Fettsubstanzen. Die schwärzliche Substanz in unseren Präparaten mit der Smith-Dietrich-Färbung entspricht der tiefblauen bei Nilblausulfatfärbung, die blauschwarze entspricht der blauroten. Es muß sich auch nach ihr die bei der Smith-Dietrich-Methode schwarzgefärbte Substanz darstellen lassen. Wirklich wird nach Ciaccio diese Substanz schön rotviolett gefärbt, die bei Nilblausulfatfärbung der tiefblauen Masse entspricht. Wenn man die Gefrierschnitte mit Sudan III färbt, sehen die verschiedenen Fettsubstanzen alle rot aus, doch mit Unterschied, teils tieffrot, teils hellrot. Zur Fetteinteilung läßt sich diese Färbung weniger heranziehen. In den einzelnen Fällen wechseln die Fettsubstanzen der Luftwegeschleimhaut von Totgeburten und Säuglingen stark. Manchmal sind verschiedene Fettsubstanzen in großer Menge vorhanden, manchmal sind sie sehr spärlich oder fehlen ganz. In manchen Fällen findet man Fettmassen, die zum Teil Doppelbrechung zeigen und sich mit Nilblausulfat rötlich färben. Sudan III gibt hier Rotfärbung, zum Teil zeigen die Fettkörper keine Doppelbrechung, färben sich mit Nilblausulfat rötlich, mit Sudan III rot, und beide Substanzen sind in absolutem Alkohol leicht löslich. Es handelt sich wahrscheinlich um zwei verschiedene Fettkörper: Cholesterinester und Neutralfette. Das Fettgewebe der Luftwegeschleimhaut besteht größtenteils aus Neutralfett, Cholesterinester und wenig Lipoiden im engeren Sinne. Wie schon erwähnt, scheint mir, daß ohne besondere Erkrankungen die Fettgewebssubstanzen der Schleimhäute die Zellfettbildung nicht beeinflussen. In 5 Fällen von angeborener Syphilis konnte ich übrigens nichts besonderes finden. Die Befunde waren die gleichen wie bei den normalen Fällen.

## II. Gleiche Untersuchungen bei Kindern und Erwachsenen ohne nachweisbare Erkrankungen der Nasen- und Atmungsorgane.

Ich wählte möglichst folgendes Material: Unglücksfälle, Selbstmorde, Ermordete, Herzschlag, akute Pneumonie, Phlegmone, Erysipel und akute Erkrankungen, und untersuchte in  $1\frac{3}{4}$  Jahren 144 Fälle unter 2362 Sektionsfällen vom 1. bis 70. Lebensjahr. Über das „Fettgewebe“ der Schleimhäute läßt sich kurz folgendes sagen: Unter 32 Fällen im Alter von 1—10 Jahren fand sich „Fettgewebe“ im Kehlkopf 6 mal, in der Trachea 11 mal, unter 10 Fällen im Alter von 11—20 Jahren „Fettgewebe“ im Kehlkopf 2 mal, in der Trachea 3 mal. Unter 18 Fällen im

Alter von 21—30 Jahren „Fettgewebe“ im Kehlkopf 5 mal, in der Trachea 4 mal. Unter 35 Fällen im Alter von 31—50 Jahren „Fettgewebe“ in der Nase 1 mal, im Kehlkopf 1 mal, in der Trachea 11 mal. Unter 49 Fällen im Alter von 50 bis über 70 Jahren in der Nase „Fettgewebe“ 2 mal, im Kehlkopf 10 mal, in der Trachea 12 mal. Es scheint, daß das „Fettgewebe“ der Schleimhäute nicht mit dem Alter zunimmt. Von Interesse ist nur, daß „Fettgewebe“ der Nasenschleimhaut, das bei Kindern und Säuglingen nicht vorzufinden war, unter 34 Fällen bei Erwachsenen sich 3 mal fand, 1 mal bei einem 45jährigen (Unglücksfall), einmal bei einem 63jährigen (Selbstmord) und 1 mal bei einem 50jährigen (akute Pneumonie). Es findet sich im Zwischengewebe der Schleimdrüsen und erscheint immer isotrop. Ciacio ist negativ, die Substanzen sind im absoluten Alkohol leicht löslich, also handelt es sich wahrscheinlich um Neutralfette. Wenn man noch mehr Fälle auf Fettsubstanzen der Nasenschleimhaut durcharbeiten würde, so würde man wahrscheinlich die gleichen Fettsubstanzen finden wie in den Luftwegen, doch kann ich nicht weiter darauf eingehen, da ich nur die 3 mitgeteilten Fälle untersucht habe. Zusammenfassend läßt sich sagen: Das Fettgewebe der Luftwege von Kindern und Erwachsenen zeigt die gleiche Beschaffenheit wie bei Totgebürgen und Säuglingen, es besteht aus sogenanntem Neutralfett und Cholesterinester und wenig Lipoid. Ein Unterschied besteht nur in der Menge und Häufigkeit des Vorkommens. Das Fettgewebe der Nasen-Luftwegeorgane scheint vom Ernährungszustande abzuhängen. Ich möchte nun auf das Morphologische nicht weiter eingehen und mich der cellulären Fettablagerung und den Pigmenten zuwenden.

#### Über die Fettröpfchen der Drüsenepithelzellen und die Pigmente der Muskelzellen der Mukosa der Nasen- (Untermuschel) Luftröhrenschleimhäute.

Die Literatur über Lipoide der Nase und der Luftröhre ist gering. In der Lunge konnte bei fieberrhaften Erkrankungen die Bildung von Lipoiden beobachtet werden. Diese Zellen, die mit neutralrot-positiven myelinogenen Substanzen erfüllt sind, sind nach Lange<sup>46)</sup> die so oft auftretenden Desquamativzellen, auf die schon Schultz<sup>67)</sup> hingewiesen hatte. Auch über die Pigmente der Nase und der Luftröhre liegt nur wenig Literatur vor. Eine Arbeit von Suchanek<sup>68)</sup> berücksichtigt die Pigmente der Nasenschleimhaut, der Regio olfactoria. Diese als „Chromatophoren“ bezeichneten Pigmente sollen der Untermuschel fast vollständig fehlen.

Ich habe endlich Lipoidablagerungen in den Schleimdrüsenepithelzellen der Untermuschel bei einem 4jährigen Kind gefunden. Es war das jüngste unter meinen positiven Fällen von Zelllipoid. Im Verlauf

weiterer Untersuchungen fand ich es bei Erwachsenen in der Nase und im Kehlkopf und in der Trachea. Es scheint mir diese Substanz im Alter vermehrt zu sein, außerdem habe ich sogenanntes Abnutzungspigment bei einem 30jährigen gefunden. Dies war der jüngste unter den positiven Fällen von Pigment. Das Pigment lag in den Muskelzellen der Mucosa der Nasen-Luftwegeschleimhaut. Im Alter scheint das Abnutzungspigment vermehrt zu sein. Ich lasse nun zur Übersicht eine Tafel von allen untersuchten Fällen folgen, in der Angaben gemacht sind über 1. Vorkommen der Lipoid- und Pigmentablagerungen in bezug auf Alter, Krankheiten, Zellarten, Häufigkeit, 2. das morphologische Verhalten der Fettsubstanzen der Drüsenepithelzellen, der Nase und der Luftröhre, 3. das mikrochemische Verhalten, 4. Lokalisation, Menge, Form, 5. das morphologische Verhalten des Pigments, 6. das mikrochemische Verhalten des Pigments, 7. die Natur des Pigments.

Die Fettablagerung und die Pigmentierung in der Nase ist reichlicher als in der Luftröhre, doch kann man die Luftröhre nicht vollständig untersuchen.

### Morphologisches Verhalten der Zellfetttröpfchen der Schleimhäute.

#### 1. Optische Verhältnisse.

A. Ungefärbte Präparate, frisch geschnitten, 5–10  $\mu$  dick, wurden mit Immersion untersucht. Bei einem Fall, einem 4jährigen, war kaum etwas zu finden. Erst im verdunkelten Gesichtsfeld sah man kleine Bläschen. Bei Erwachsenen haben diese Tröpfchen einen schwach gelblichen Ton. Je größer sie sind, desto stärker lichtbrechend scheinen sie zu sein. Gelegentlich fanden sich im polarisierten Licht kleine faden- oder punktförmige Körper fein doppelbrechend, die bei weiterer Behandlung, z. B. Nilblausulfatfärbung ihre Eigenschaft nicht änderten und meistenteils im Drüsenumen lagen. Wahrscheinlich handelt es sich um sogenannte „Stäubchen“. Bisweilen treten auch doppelbrechende Elemente in Form von Tropfen oder Krystallen im Drüsenumen auf. Außerdem, wenn auch selten, findet man doppelbrechende Substanzen in Leukocyten im Drüsenumen oder zwischen den Epithelien. Sie färben sich mit Nilblausulfat rot und zeigen Doppelbrechung, die bei Erwärmung verloren geht und nach Abkühlung wieder auftritt. Die Substanzen färben sich nicht nach *Ciaccio* und *Smith-Dietrich*. Es ist nicht unmöglich, daß Fettsubstanzen in den Leukocyten und anderen weißen Blutzellen gebildet werden und später unter Umständen wieder aus ihnen austreten. Vielleicht zerfallen diese Zellen auch, und das Fett bleibt gelegentlich zwischen den Epithelien liegen. Daß es sich um Fettkörper handelt, scheint mir sicher, nur kann ich nicht sagen, ob sie zur Cholesteringruppe gehören oder nicht. Vielleicht läßt sich ihre chemische Natur bei den verschiedenen Erkrankungen durch mikro-

Tabelle.

Häufigkeit der Fettablagerungen der Drüsenepithelzellen und der Pigmentablagerungen der Muskelzellen der Nasen-Luftwegeorgane.

Altersstufen	Hauptkrankheit und Todesursache	Alter und Geschlecht	Vorkommen des Fettes in			Vorkommen des Pigmentes in		
			Nase	Kehlkopf	Trachea	Nase	Kehlkopf	Trachea
1 bis 10 J.	Pneumonie, Herzschlag . . . . .	4 ♂	+	-	-	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	4½ ♀	+	-	-	-	-	-
	Von 32 untersuchten Fällen . . . . .		2	0	0	0	0	0
11 bis 20 J.	Lobäre Pneumonie . . . . .	18 ♀	+	-	-	-	-	-
	Erysipel . . . . .	11 ♂	+	-	-	-	-	-
	Pneumonie, Endokarditis . . . . .	16 ♂	+	-	-	-	-	-
	Von 10 untersuchten Fällen . . . . .		3	0	1	0	0	0
21 bis 30 J.	Peritonitis nach Frühgeburt . . . . .	27 ♀	+	-	-	-	-	-
	Akute Peritonitis . . . . .	29 ♂	+	-	-	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	29 ♀	+	-	-	-	-	-
	Erysipel . . . . .	24 ♂	-	-	-	-	-	-
	Kopfschuß (Selbstmord) . . . . .	30 ♂	+	+	-	-	-	-
	Schädelbasisbruch (Selbstmord) . . . . .	29 ♂	+	+	-	-	-	-
31 bis 50 J.	Von 18 untersuchten Fällen . . . . .		5	2	1	1	0	1
	Gehirnabsceß . . . . .	39 ♂	+	-	-	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	41 ♀	+	-	-	-	-	-
	Kath. Pneumonie . . . . .	42 ♂	+	-	-	-	-	-
	Tetanus . . . . .	50 ♂	+	+	+	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	44 ♂	-	-	-	-	-	-
	Pneumonie . . . . .	42 ♂	+	-	-	-	-	-
	Herzschlag . . . . .	40 ♂	+	-	-	-	-	-
	Wirbelsäulebruch . . . . .	32 ♂	+	-	-	-	-	-
	Malaria tetiana . . . . .	44 ♂	+	-	-	-	-	-
	Peritonitis nach Probeoperation . . . . .	42 ♂	+	-	-	-	-	-
	Embolie nach Cholecystostomie . . . . .	43 ♂	+	-	-	-	-	-
	Endokarditis, Herzschlag . . . . .	38 ♂	-	-	-	-	-	-
	Selbstmord durch Erhängen . . . . .	36 ♂	+	-	-	-	-	-
	Beinphlegmone . . . . .	39 ♂	+	-	-	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	47 ♂	-	-	-	-	-	-
	Pneumonie . . . . .	35 ♂	+	-	-	-	-	-
	Pneumonie, Herzschlag . . . . .	48 ♂	-	-	-	-	-	-
	Phlegmone . . . . .	50 ♂	+	-	-	-	-	-
	Folgen d. op. Magengeschwürs . . . . .	38 ♂	+	-	-	-	-	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	47 ♂	+	-	-	-	-	-
	Mediastinitis, Pneumonie . . . . .	50 ♂	-	-	-	-	-	-
	Peritonitis nach Cholecystostomie . . . . .	50 ♂	-	-	-	-	-	-
	Gesichtserysipel . . . . .	50 ♂	+	-	-	-	-	-
	Kath. Pneumonie . . . . .	40 ♀	-	-	-	-	-	-
	Von 35 untersuchten Fällen . . . . .		15	9	9	5	2	2

Tabelle (Fortsetzung).

Alters-stufen	Hauptkrankheit und Todesursache	Alter und Geschlecht	Vorkommen des Fettes in			Vorkommen des Pigmentes in		
			Nase	Kehlkopf	Trachea	Nase	Kehlkopf	Trachea
51 bis über 70 J.	Eitige Peritonitis . . . . .	56 ♂	+	+	-	-	-	-
	Erysipel . . . . .	55 ♂	+	-	-	-	-	-
	Apoplexia cerebri . . . . .	67 ♂	-	+	-	+	+	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	54 ♀	+	-	-	-	-	-
	Pneumonie . . . . .	58 ♂	-	-	-	+	-	-
	Herzschlag, Mastdarmkrebs .	76 ♂	-	-	-	+	+	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	72 ♂	+	-	-	+	+	-
	Schädelbasisbruch . . . . .	64 ♂	+	-	-	+	+	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	66 ♀	+	-	-	-	-	-
	Kath. Pneumonie . . . . .	62 ♂	-	-	-	+	+	-
	Schädelbruch . . . . .	57 ♂	+	-	+	+	+	-
	Herzmuskelveränderung . . .	61 ♀	+	-	-	-	-	-
	Embolie nach Probeoperation .	62 ♂	-	+	-	+	-	-
	Pneumonie nach Uterusoperation	55 ♂	+	-	-	-	-	-
	Bronchopneumonie . . . . .	53 ♂	+	-	+	+	+	-
	Bronchopneumonie . . . . .	71 ♀	+	-	-	+	+	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	70 ♂	+	-	+	-	-	-
	Herzschlag nach Probeoperation	60 ♀	+	-	-	-	-	-
	Bronchopneumonie . . . . .	53 ♂	+	-	-	-	-	-
	Pneumonie, Herzschlag . . .	52 ♂	+	-	-	-	-	-
	Gesichtsplegmone . . . . .	57 ♂	+	-	+	+	+	-
	Eitige Cholecystitis . . . . .	54 ♂	+	-	-	-	-	-
	Pneumonie, Magengeschwür .	59 ♂	+	-	-	-	-	-
	Akute Peritonitis . . . . .	56 ♂	+	-	+	+	+	-
	Lobäre Pneumonie . . . . .	59 ♂	-	-	-	+	+	-
	Akute Peritonitis . . . . .	54 ♂	+	-	-	-	-	-
<i>Von 49 untersuchten Fällen</i>			19	8	9	12	4	6

Übersicht der oberen Tafel.

Alters-stufen Jahre	Zahl der Fälle	Vorkommen der Fettablagerungen in			Vorkommen der Pigment- ablagerungen in		
		Nase	Kehlkopf	Trachea	Nase	Kehlkopf	Trachea
1—10	+ 32	+ 2	0	0	0	0	0
11—20	+ 10	+ 3	0	+ 1	0	0	0
21—30	+ 18	+ 5	+ 2	+ 1	+ 1	0	+ 1
31—50	+ 35	+ 15	+ 9	+ 9	+ 5	+ 2	+ 2
51 bis über 70	+ 49	+ 19	+ 8	+ 9	+ 12	+ 4	+ 6
1 bis über 70	144	44 (30,5%)	19 (13,1%)	20 (13,8%)	18 (12,5%)	6 (4,2%)	9 (6,2%)

chemische Untersuchungen näher erklären. Mir scheint, die Fettsubstanzen in den Leukocyten im Drüsenlumen haben nichts mit den Lipoidablagerungen der Drüsenepithezelnen zu tun.

B. Gefärbte Präparate. Die Tröpfchen in den Drüsenepithezelnen färben sich mit Nilblausulfat tiefblau ohne Doppelbrechung zu zeigen, mit Sudan färben sie sich rot, nach *Smith-Dietrich* schwärzlich, nach *Ciaccio* rotviolett.

### 2. Mikrochemisches Verhalten.

A. Säuren und Alkalien. Gefrierschnitte in 5 proz. Salpetersäure oder in 5 proz. Natronlauge eine Woche lang eingelegt, blieben unverändert. Wenn die Schnitte etwas aufquollen, wurden sie in destilliertem Wasser gewaschen und wieder in die Lösungen zurückgebracht. Gefrierschnitte von Drüsenepithezelnen der Nasenuntermuschel, die zu anderen Zwecken über 6 Wochen in 5 proz. Salpetersäure zum Entkalken gelegen hatten, zeigten mit Sudan III gelblichrote, mit Nilblausulfat bläuliche Färbung. Es scheint, daß die Zellipode der Nase und der Luftwege gegen Säuren und Alkalien wenig empfindlich sind.

B. Alkohol. Gefrierschnitte in 50- oder 70 proz. Alkohol für mehrere Stunden eingetaucht, zeigen keine Veränderungen der Phosphatide. Werden die Präparate zuerst 5 Min. in 70 proz. Alkohol gebracht, dann 1 Stunde in absoluten Alkohol eingelegt, so verschwindet ein Teil der Tröpfchen. Äther, Chloroform und Benzin wirken noch stärker als absoluter Alkohol. Sicher sind also unsere Lipoidtröpfchen im Alkohol löslich, doch ist die Löslichkeit in den verschiedenen Fällen sehr wechselnd. In einzelnen Fällen, besonders bei Material von älteren Leuten, lösen sich die Phosphatide der Drüsenepithezelnen, für 24 Stunden in absoluten Alkohol gebracht, fast gar nicht — nur ein kleiner Teil der Tröpfchen verschwindet —, sondern färben sich mit Sudan III gelbrot. Warum an Präparaten von Kindern diese Substanzen nach 1 stündiger Behandlung mit absolutem Alkohol verschwinden, in dem anderen Falle nach 1 tägiger Behandlung noch erhalten sind, ob sich ferner eine Pigmentierung der Fettsubstanzen der Drüsenepithezelnen feststellen läßt oder nicht, dies alles zu beantworten bereitet noch Schwierigkeiten. Der Alkohol extrahiert ja die Phosphatide nicht vollständig.

### 3. Lokalisation, Menge und Form der Fetttröpfchen.

Die Menge der Fettsubstanzen vermehrt sich mit zunehmendem Alter. Sie erscheinen meistenteils in kleinen oder mittelgroßen Drüsen. In den Epithelen der großen Drüsen sind sie dagegen spärlich vertreten. Außerdem treten sie nicht gleichmäßig auf, z. B. sieht man in einem Präparat in kleinen Drüsenepithezelnen ziemlich reichlich Fetttröpfchen, an anderen Stellen desselben Präparates findet man nichts.

Manchmal liegt das Fett mehr in der oberflächlichen Schleimhautschicht, manchmal wieder zeigt es entgegengesetztes Verhalten. Die Form der Fettkörper erscheint unter Immersion bei Ciaccio-Färbung fast rundlich, bei Nilblausulfat und anderer Färbung unregelmäßig. Die Größe der Tröpfchen ist sehr verschieden, bei Erwachsenen sind sie manchmal doppelt so groß wie bei Kindern. Den Sitz der Fettträpfchen im Zelleib bilden in der Regel der basale Zellabschnitt, die Umgebung des Zellkerns und die dem Drüsenumen abgewandte Zellhälfte. Die Menge der Tröpfchen beträgt in manchen Zellen 1, in anderen 2—3 oder noch mehr.

Über die chemische Natur der obenerwähnten Substanzen läßt sich etwas Bestimmtes nicht sagen. Bekannt ist, daß Drüsengewebe verschiedener Organe physiologischerweise mehr oder weniger Lipoide enthalten. Ob die Fettsubstanzen, die ich in der Nase und den Luftwegen gefunden habe, die gleichen sind wie in den Samenblasen oder der Prostata, den Hoden und Brustdrüsen, weiß ich nicht. Nach Kawamura, Dietrich, Schulze u. a. muß es sich jedenfalls um eine P-haltige Substanz, ein „Phosphatid“ handeln.

#### **Das morphologische Verhalten des Pigments der Muskelzellen der Nase und der Luftwege.**

##### *1. Optische Erscheinungen.*

A. Ungefärzte Präparate. Pigmente müssen zunächst immer am ungefärbten Präparat untersucht werden. Frische Gefrierschnitte, möglichst dünn geschnitten, werden unter Immersion betrachtet. Man sieht bräunliches Pigment punktförmig oder unregelmäßig gestaltet. Manchmal sieht es schmutzig, grünschwarz oder gelblichbräunlich aus. Oft zeigt der übrige Teil des Zelleibs einen mehr oder weniger hellgrünen Ton. Die Menge des Pigments ist bei den einzelnen Fällen sehr verschieden, wo es spärlicher auftritt, sieht man in einer Zelle nur ein Körnchen, in anderen Fällen erfüllt es das ganze Protoplasma. Die Größe der Pigmentkörnchen wechselt sehr, mit dem Alter nimmt es an Menge zu.

B. Mit Carmin (ich empfehle Mayersche alkoholische Carminlösung) gefärbt, sieht man bräunliches Pigment genau wie ohne Färbung. Mit Nilblausulfat gefärbt, zeigt es bläuliche Farbe, mit Sudan oder Ciaccio gelbbräunliche, nach Smith-Dietrich und Fischler schwärzliche. Bei Hämatoxylin-Alaun-Eosin, sowie bei Weigert-van-Gieson-Färbung sieht das Pigment bräunlich aus.

##### *2. Mikrochemisches Verhalten.*

A. Säuren und Alkalien. Die Pigmente sind gegen 5 proz. Salpetersäure und 5 proz. Natronlauge ganz unempfindlich. Oft bleiben sie über 1 Monat lang unverändert. Sie sind noch schwerer als die Phosphatide durch Säuren und Alkalien zu beeinflussen.

*B. Alkohol und Benzin.* Nach 24stündiger Behandlung mit absolutem Alkohol und Färbung mit Sudan III sieht man bräunliche Körnchen. Werden die Präparate einen Tag lang in absoluten Alkohol gelegt, dann 10 Min. in Benzin gebracht, wieder in Alkohol gelegt und dann mit Sudan gefärbt, so verschwindet das meiste, nur große blaß-bräunliche Körnchen sind im Zelleib zu sehen. Wenn man die Gefrierschnitte 20 Min. in absoluten Alkohol eintaucht, dann  $\frac{1}{2}$  Stunde in Benzin bringt, so verschwindet alles. In absolutem Alkohol ist das Pigment also schwerer löslich als die Phosphatide.

*C. Oxydationsmittel.* Wir verwenden 1. 3 proz. Argentum nitricum. Gefrierschnitte, kurze Zeit mit 70 proz. Alkohol behandelt, dann in Wasser gewaschen und in 3 proz. Argentum nitricum eingelegt, sind nach 24 Stunden oft dunkelbraun, nach 3 Tagen ganz schwarz; 2. wurde Wasserstoffsuperoxyd angewandt. Meinen Erfahrungen nach ist 2 bis 3 proz. Wasserstoffsuperoxyd am geeignetsten. In stärkeren Konzentrationen quellen die Schnitte. Es wurden von der Nasenuntermuschel Gefrier- und Paraffinschnitte hergestellt, die in 10 proz. Formalin, 97 proz. Alkohol ana konserviert und mit Wasser ausgewaschen waren. Die Schnitte wurden in 3 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung eingetaucht und täglich mehrere Male beobachtet, ob sie verblaßten oder nicht. Man sieht alle Übergänge. Oft wurden die Schnitte nach 2 Tagen blasser und waren nach 3 Tagen ganz farblos.

*D. Eisenreaktion.* Für die vorliegenden Untersuchungen mußten zunächst die anatomischen Verhältnisse der Nasen-, Kehlkopf- und Trachealschleimhäute genau in Betracht gezogen werden. Außer auf Fette und Lipoide hatte ich dieselben Präparate mit Hämalaun-Eosin und mit der Weigert-van-Gieson-Färbung gefärbt, unter gewöhnlicher Paraffineinbettung. Die glatten Muskelfasern treten im Subcutangewebe der Schleimhäute, und zwar zwischen den Schleimdrüsen, hervor. Die Drüsen sehen wie von Muskelfasern umringt aus. Die Nasenuntermuschel besitzt die sogenannten Schwellkörper, die aus Komplexen von glatten Muskelfasern und feinen Venen bestehen. Außerdem, wenn auch seltener, findet man Schwellkörper in folgenden Organen: Mittel- und Obermuschel, hintere Hälfte des Nasenseptum, Nasenrachenraumorgane, hintere Rachenwand. Es ist wichtig zu wissen, wo in den oberen Luftwegen Schwellkörper vorhanden sind und wo nicht. Die Muskelfasern in den Luftwegschleimhäuten sind weniger zahlreich als in der Nase, ihre anatomischen Verhältnisse sind die gleichen wie in der Nasenschleimhaut. Wir können also in diesen Geweben die glatten Muskelzellen überall gut studieren und, wie ich oben erwähnte, findet sich reichlich Pigment in den Präparaten der Untermuschel. Unser Material wurde möglichst schnell nach dem Tode entnommen, in 10 proz. Formalin, 97 proz. Alkohol ana fixiert, dann

in Wasser gewaschen und auf dem Gefriermikrotom geschnitten. Vor allem wurde die Turnbullblaureaktion angewandt, dabei wurden als Kontrolle aus demselben Material Leber und Herzmuskel entnommen und gleichzeitig ebenso behandelt. Am besten eignen sich als Kontrolle frische hämorrhagische Infarkte. In den Leberzellen fand man manchmal eine sehr schöne blaue Eisenreaktion, selten war sie in den Herzmuskelzellen anzutreffen, dagegen zeigten die Muskelzellen der Nase und der Luftwege, die Lieblingssitz sogenannter Abnutzungspigmente sind, keine Eisenreaktion in meinen 144 Fällen. Ich vermutete das Auftreten der Eisenreaktion besonders in dem lockeren kapillarreichen Gewebe und untersuchte deshalb die Schwellkörper der Nase sehr genau, aber es war ebenso wie in oberflächlichen Zylinderepithelzellen und in den subcuten Bindegewebszellen nichts zu finden.

### 3. Natur des Pigmentes.

Wie oben erwähnt, ist die Natur des Pigmentes nicht genau bekannt. Es gibt das Pigment, das ich in der Nase und den Luftwegen gefunden habe, auch in anderen Geweben, worüber zahlreiche Arbeiten vorliegen. Es wird bezeichnet als Abnutzungspigment (*Lubarsch*), Fettpigment (*Oberstein*), Chromlipoid (*Ciaccio*), Lipofuscin (*Borst, Hueck*). *Lubarsch* sagt in seinen Untersuchungen über Pigment<sup>51, 52</sup>: „Vorläufig möchte ich für die Einteilung der endogenen Pigmente nur 3 Gruppen vorschlagen: 1. Hämoglobinogene Pigmente, 2. proteinogene Pigmente, 3. lipoidogene Pigmente, zu denen wir vorläufig nur die wirklichen Lipochrome rechnen können. Das ist zunächst nur ein Schema, in das einzelne Pigmente der verschiedenen Fundorte einzutragen, eine zunächst noch recht unvollkommen erfüllbare Aufgabe ist. Lipofuscin möchte ich aber zusammen mit dem Melanin zu den proteinogenen Pigmenten rechnen.“ *Ciaccio*<sup>17)</sup> hat künstlich dargestellte Fettstoffe der Autoxydation unterworfen. Seine so erhaltenen Oxylipoide wiesen Ähnlichkeit mit den natürlich vorkommenden Abnutzungspigmenten auf und er ist geneigt, auch im Körper einen ähnlichen Vorgang anzunehmen. *Ciaccio* erklärt weiter: „Daß es sich um Lipochrom handelte . . ., daß es Komplexe sein möchten, gebildet durch die mehr oder weniger stabile Vereinigung eines Fettstoffes mit einem Pigment, wodurch eine Änderung in den Löslichkeitsverhältnissen hervorgerufen wurde.“ Um die vorliegenden Untersuchungen weiterführen zu können, wäre eine eingehendere mikrochemische Untersuchung nötig. Ein Hilfsmittel, das uns vielleicht weitere Einblicke in die Pigmententstehung gewähren würde, wäre vielleicht auch die Organexplantation und die Züchtung von Gewebskulturen. Bezeichnen möchte ich das Pigment als fetthaltiges Abnutzungspigment.

### III. Untersuchungen bei Kindern und Erwachsenen mit Erkrankungen der Nase und der Luftwege.

Die physiologisch schon fetthaltigen Organe und Gewebe zeigen vermehrten Fettgehalt bei verschiedenen Krankheitszuständen, vor allem bei chronischen Stoffwechselschädigungen, z. B. Diabetes mellitus und Carcinomkachexie. Es bestehen dabei mehr oder weniger ausgedehnte rückschrittliche Vorgänge in den verschiedenen Organen. Nebenniere, Leber und Herz können wir als Fettspiegel der allgemeinen Verfettung betrachten. Die spezifisch in einzelnen Geweben vorkommende



Abb. 1. Photo, Zeiss. Objektiv A. Okular Homal I: Schleimhaut der Nase. Magenkreb. 45 Jahre. Nilblausulfatfärbung. Einschluß in Glycerin. Fast alle Drüsenepithezel len der kleinen und mittelgroßen Drüsen enthalten Phosphatide, die im Präparat tiefblau gefärbt sind.

Verfettung wie das Auftreten von Zellipoiden in bösartigen Gewächsen oder im nekrotischen Gewebe ist der regressiven Fettinfiltration zuzuordnen. Fettsucht und Gravitätsfettsucht müssen wir zu den progressiven Prozessen zählen, bei denen es sich um eine Fettspeicherung handelt. Das Wort „Steatose“ bezeichnet eigentlich physiologische Fettspeicherungsvorgänge, doch sprechen wir in bezug auf die verschiedenen pathologischen Verfettungsvorgänge von Steatosis sagittativa, Steatosis dyscrasiva, Steatosis transportativa, Steatosis retentiva. Die Verfettungen zeigen verschiedene Formen von Übergängen und die pathologischen Vorgänge, die sich in dem betroffenen Gewebe dabei

abspielen, sind sehr verwickelt, besonders bei Entzündungen. Meine eigenen Untersuchungen habe ich nach zwei Richtungen hin angestellt: 1. habe ich Allgemeinerkrankungen, 2. lokale Veränderungen berücksichtigt.

### 1. Allgemeine Erkrankungen.

#### *A. Phosphatide in Drüsenepithelzellen.*

Von allgemeinen Stoffwechselkrankheiten untersuchten wir zuerst 6 Fälle von Diabetes mellitus. Es handelte sich um Personen im Alter von 39—60 Jahren. Ich fand Phosphatide 5 mal in der Nase, 2 mal im

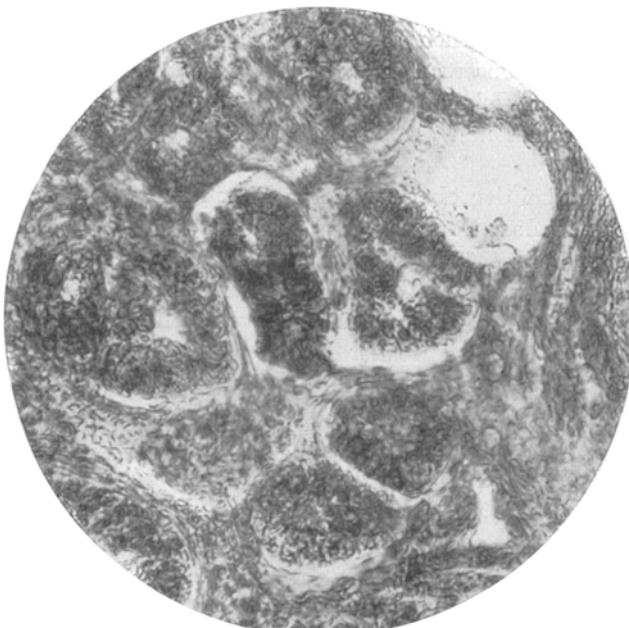


Abb. 2. Photo. Zeiss. Objektiv D. Ocular Homal I: Schleimhaut der Nase. Diabetes. 42 Jahre. Smith-Dietrich-Färbung. Einschluß in Glycerin. Im Präparat sieht man die Phosphatide der Drüsenzellen schwärzlich gefärbt.

Kehlkopf, 3 mal in der Trachea, und zwar fand ich mehr und größere Teilchen als bei den normalen Fällen. Die Fetttröpfchen erfüllten die kleinen und mittelgroßen Drüsen. Ihre chemische Natur scheint die gleiche zu sein wie bei den normalen Fällen. Es handelt sich jedenfalls um Phosphatide. Nur in einem unter 6 Fällen, bei einer 60jährigen Person, waren keine Phosphatide zu finden. Daraufhin habe ich verschiedene erschöpfende Erkrankungen, wie Carcinomkachexie, chronische Pneumonie, Endstadien von Paralyse, Syphilis u. a. untersucht. Die Phosphatide in den von mir untersuchten Organen waren auch

bei diesen Erkrankungen vermehrt. Ihre Beschaffenheit ist die gleiche wie bei den Fällen von Diabetes. Lokalisation und Menge ist in den einzelnen Fällen sehr verschieden.

*B. Über das Vorkommen des Abnutzungspigmentes in Nase und Luftwegen bei verschiedenen Erkrankungen.*

Die pathologische Bedeutung des Abnutzungspigmentes ist noch weniger geklärt als die der Phosphatide, und wenn ich es oben „fett-haltiges Abnutzungspigment“ genannt habe, so kommen ihm doch auch Eigenschaften des „proteinogenen Pigmentes“ zu. Auch ob es regelmäßig in den Muskelzellen der Submucosa vorkommt und ob es, wenn man es gelegentlich findet, dort entsteht oder nur abgelagert wird, entzieht sich unserer Kenntnis. Dies alles sind Fragen, die weiterer Klärung bedürfen. Ich habe nur untersucht, ob es bei den verschiedenen Stoffwechselkrankheiten vermehrt ist und dabei mit den Phosphatiden parallel geht.

Es wurden bei den obenerwähnten Lipoide untersuchungen dieselben Präparate auf das Vorkommen von Pigment in den Muskelzellen durchforscht. Ich möchte besonders die Untersuchungen über die Nase mitteilen, weil hier die Muskelzellen reichlicher sind und das Pigment häufiger auftritt als in den anderen Organen der Luftwege (s. obere Tafel). Außerdem sind die Erscheinungen in den verschiedenen Organen bei gleichen Bedingungen sich immer sehr ähnlich. Es fand sich Pigment unter 6 Fällen von Diabetes 2 mal (Phosphatide 5 mal), unter 27 Fällen von Carcinomkachexie 5 mal (Phosphatide 19 mal), unter 7 Fällen von progressiver Paralyse 2 mal (Phosphatide 5 mal). Es scheint, daß bei den chronischen Krankheitserscheinungen das Pigment vermehrt ist. Doch geht es mit den Phosphatiden nicht parallel. Wir haben verschiedene Fälle beobachtet; so war bei einem Fall von Diabetes (54 Jahre) reichlich Epithellipoid und Muskelzellenpigment vorhanden, während bei einem ähnlichen Fall zwar viel Epithellipoid, aber kein Pigment zu finden war. In einem anderen Fall von perniziöser Anämie (26 Jahre) fehlte das Lipoid, während reichlich Pigment da war (Abb. 3). Bei einer 42jährigen Patientin (perniziöse Anämie) war es wieder umgekehrt. Hier nach scheint das Abnutzungspigment der Nasen-Luftwegeschleimhaut bei den verschiedenen Stoffwechselkrankheiten zwar vermehrt zu sein, aber es geht mit den Phosphatiden der betroffenen Gewebe nicht parallel.

Ich möchte noch einen besonderen Fall mitteilen, wo sich anscheinend Abnutzungspigment in den Muskelzellen der Submucosa der Nasenschleimhaut (Abb. 3 u. 4) fand und deutlich positive Turnbullblaureaktion der Trachealmuskelzellen zeigte.

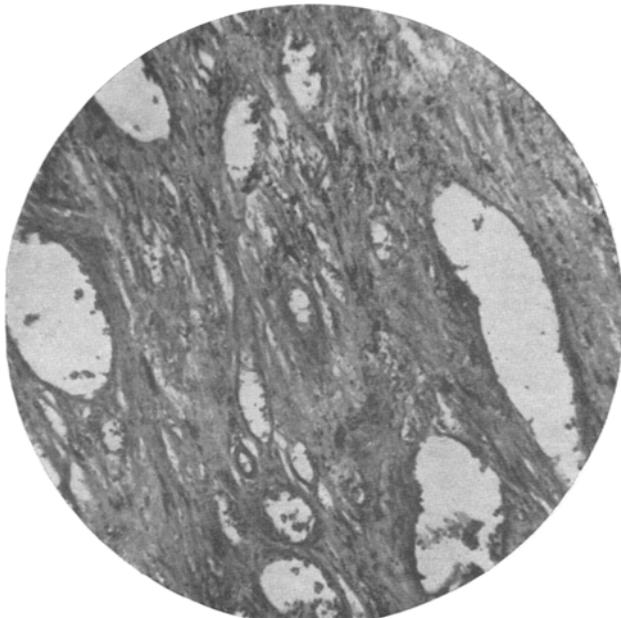


Abb. 3. Photo. Zeiss. Objektiv D. Ocular Homal I: Abnutzungspigment der Nase. Das Präparat zeigt die Lokalisation und Menge in den Schwellkörpern. Gefrierschnitt. Einschluß in Immersionsöl. Vorher 3 Tage mit 3 proz. Argentum nitricum-Lösung behandelt. 26 Jahre.



Abb. 4. Photo. Zeiss. Objektiv D. Ocular Homal I: Dasselbe Präparat wie Abb. 3. Das Pigment erfüllt den Leib der Muskelzellen. Seine Form ist unregelmäßig. Smith-Dietrich (Fettfärbung).

Klinische Diagnose Anämie. Todesursache Blutung. Fleckige Verfettung der Herzmuskelatur (s. unter Sektionsprotokoll).

Es ist dies von allen meinen Untersuchungen über Hämosiderin der einzige positive Fall. 5 Zellen eines Präparates zeigten die Reaktion. Aus dem Sektionsprotokoll dieses Falles sei folgendes mitgeteilt: ...

*Sehr starke allgemeine Blutarmut. Regeneratives Knochenmark im Oberschenkel. Kleine Blutung in der Uterusschleimhaut. Blutungen an der Innenseite der Kopfschwarte. Vergrößerung der Milz. Blutarmut und fleckförmige Verfettung (Tigerung) der Herzmuskelatur. Sehr starkes Ödem beider Lungen. Hydrothorax beiderseits. Rechts 300, links 100 ccm Flüssigkeit. Starke Blutüberfüllung der Leber. Wenige sklerotische Flecke in der absteigenden Brust-aorta. Ein erbsengroßer Cholesterinpigmentkalkstein in der Gallenblase. Herz: Sehr starke fleckförmige fein- bis mittelgroßtropfige Verfettung der Triebmuskelatur, gleichmäßige geringere Verfettung des Hisschen Bündels. Milz: Blutarm, feintropfiges Lipoid in den Lymphknöpfchen und Reticulumzellen. Niere: Geringe Stauungsblutüberfüllung, gleichmäßig spärlich sehr feintropfiges Lipoid. Leber: Stauungsatrophie, feintropfiges Lipoid in den atrophischen Bezirken ...*

An diesem Material fand ich in Leber und Milz deutlich feine Eisenreaktion. In der Mucosa der Trachea fanden sich hier keine Phosphatide und Abnutzungspigmente.

#### *Über das Vorkommen von Phosphatiden und Abnutzungspigment in der Nase und den Luftwegen bei Phthisikern.*

Die Angaben der einzelnen Untersucher über das Vorkommen von Lipoiden im Drüseneipithel der untersuchten Organe sind sehr verschieden. Einige behaupten ein vermehrtes Auftreten, andere das Gegenteil. *H. L. Posner*<sup>61)</sup>, der die Prostata untersucht hat, fand in allen Fällen außer bei ganz jungen Kindern und bei schwererer Tuberkulosekachexie Lipoid in dem gut erhaltenen Drüseneipithel. Dagegen kommt *Ishihara*<sup>46)</sup>, der auch die Prostata untersuchte, zu anderen Be-funden. Bei den Stoffwechselkrankheiten sowie bei der Tuberkulosekachexie sind die Epithellipoide reichlich vorhanden. Ich habe 20 Fälle von Phthisikern im Alter von 19—55 Jahren untersucht und fand 4 mal in der Nase, 1 mal im Kehlkopf und 2 mal in der Trachea Phosphatide. Lokalisation, Menge und Form sind genau die gleichen wie bei normalem Material. Als Fettspiegelkontrolle müssen bei diesen Untersuchungen stets mehrere Organe dienen, wie Nebenniere, Leber und Herz. Außerdem müssen gerade bei Phthisikern die Sektionsprotokolle genau durchgesehen werden, da oft auch noch andere Erkrankungen vorliegen. Es scheint jedenfalls, daß bei den Fällen von Tuberkulose ohne Er schöpfung keine Vermehrung der Lipoide in den Drüseneipithelen von Nase und Luftwegen vorhanden ist. Über das Abnutzungspigment

bei Tuberkulose kann ich nichts besonderes aussagen, sein Verhalten ist genau das gleiche wie in normalen Fällen.

## 2. Lokale Krankheitserscheinungen.

In Nase und Luftwegen haben wir Krankheitserscheinungen mit und ohne entzündliche Veränderungen. Letztere, besonders Neubildungen, hatte ich nur wenig Gelegenheit zu untersuchen. Bei den ersten war in Fällen von Stauung und Hyperämie nichts Besonderes zu finden. Höchstens, daß sich eine gelegentliche Verminderung der Lipoide zeigte. Ich möchte dagegen einiges über meine Untersuchungen des Lipoidgehaltes der Nase bei entzündlichen Prozessen mitteilen. Unter den vielen entzündlichen Nasenerkrankungen wählte ich für eine eingehende Untersuchung 1. die Rhinitis hypertrophicans chronica, 2. die Rhinitis atrophicans chronica. Es ist schwierig, genügend Material von diesen Erkrankungen zu bekommen, denn bei der Rhinitis atrophicans chronica ist eine Operation gerade kontraindiziert und auch die andere Erkrankung wird neuerdings ohne operative Eingriffe vom Arzt behandelt. So waren wir vor allem auf das Sektionsmaterial angewiesen, unter dem sich nur selten typische Fälle fanden. 2 Fälle von Rhinitis atrophicans chronica habe ich genau untersucht, ohne Lipoid- und Pigmentzellen finden zu können. Wahrscheinlich wird durch die Vorgänge bei der Rhinitis atrophicans die sonst lipoid- und pigmenthaltige Nasenschleimhaut so verändert. Aber bei nur 2 untersuchten Fällen läßt sich nichts Sichereres aussagen. Von Rhinitis hypertrophicans chronica untersuchte ich 7 Fälle. Die Untermuschel ist hier ungefähr 2 mal größer als normal, weich oder derb, mit unregelmäßig geformter Oberfläche. Die Mittelmuschel ist fast von der gleichen Beschaffenheit wie die Untermuschel, sie ist noch weicher und polypös. In 6 von den 7 Fällen fand ich keine Lipoid- und Pigmentzellen, trotzdem alles Material von Erwachsenen herrührte. In einem Falle fand ich zwar keine Phosphatide in den Drüsenepithelien, aber fettführende Makrophagen, die infolge der entzündlichen Veränderungen in dem betreffenden Gewebe auftraten. Ferner fanden sich in dem entzündlich veränderten Gebiet viele Leukozyten und verdickte Muskelzellen. Die Fettsubstanzen der Makrophagen wurden nicht näher untersucht. *Lubarsch*<sup>48, 49)</sup> beschreibt lipoidhaltige Histiocyten im Reticulum des Thymus, als perivasculäre Zellen im Hoden und in der Rindenschicht der Nebenniere. Meistens enthalten diese Zellen Gemische anisotroper und isotroper Fette, wie *Kleeberg* bei chronischer Entzündung der Brustdrüsen fand. Nach *Krompecher*<sup>43)</sup> ändert sich bei Fibroblasten und Makrophagen des Granulationsgewebes das morphologische Verhalten mit der Menge und Art der entzündlichen Gewebsflüssigkeit. Die Makrophagen fallen häufig durch den Wabenbau ihres Zelleibes

auf. Sie stammen von Bindegewebszellen, vom Endothel und von den Lymphocyten und Polyblasten ab und können je nach den Bedingungen in ihren Waben Lipoid, Eiweiß, Fett, Pigment u. a. enthalten.

Woher in den von mir untersuchten Fällen die Makrophagen stammten, kann ich nicht mit Sicherheit sagen. Ich glaube nur in meinen Präparaten mastzellenähnliche und plasmazellenähnliche Makrophagen festsstellen zu können. Die letzteren scheinen mir die Hauptträger der Fettsubstanzen zu sein.

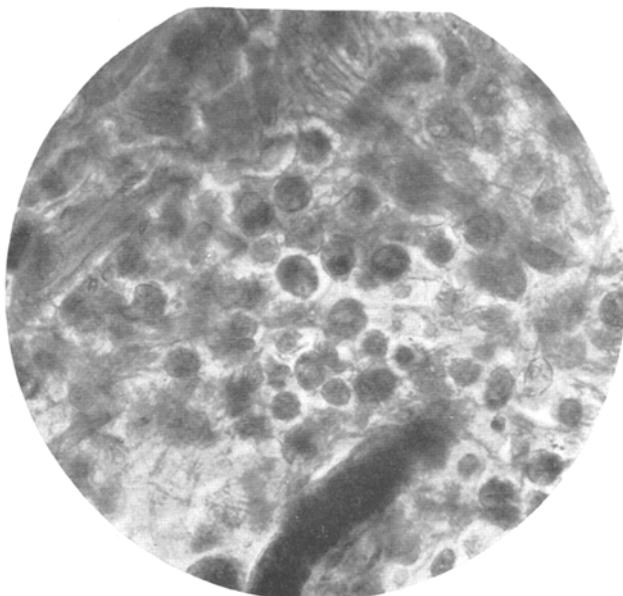


Abb. 5. Zeiss. Objektiv D. Okular Homal I: Färbung nach Shmith-Dietrich, Einschluß in Glycerin. Die schwarz gefärbte Fettsubstanz im Zelleib zeigt schöne Doppelbrechung. 84 Jahre. Perniziöse Anämie (siehe unten Protokoll).

Zum Fettnachweis wurden Gefrierschnitte, zur Bestimmung der Zellart Paraffinschnitte angefertigt und gefärbt mit Hämalaun-Eosin, Weigert-van Gieson, Giemsa, Mastzellenfärbung. Hierbei zeigte sich, daß die von uns gefundenen fetthaltigen großen Monocyten meistenteils Plasmazellen waren, während die Mastzellen keine Fettröpfchen enthielten. Plasmazellenverfettung im entzündeten Schleimhautgewebe wurde schon vor 15 Jahren von *Miller*<sup>54)</sup> besonders bei chronischer Salpingitis, Endometritis, Cervixpolypen und allen Entzündungen beschrieben, bei denen reichlich Plasmazellen auftreten. Über die Art der Fettsubstanzen wird aber nichts ausgesagt. Ich möchte daher über die Fette der Plasmazellen meines Falles hier einige Angaben machen. Die Fettsubstanzen der Plasmazellen der entzündeten Nasenschleimhaut

bilden Gemische anisotroper und isotroper Fette. Die Tropfen sind 2—3 mal größer als die der Phosphatide in den Drüsenepithelzellen. Manchmal findet man 2—4 Tropfen in jeder Zelle, die — bei Sudanfärbung deutlich erkennbar — sich mit Nilblausulfat blau, nach *Smith-Dietrich* schwärzlich färben (Abb. 5) und dabei schöne Doppelbrechung zeigen, die bei Anwendung der Ciaccio-Methode größtenteils verloren geht, während sich spärliche rotviolette Fetttropfen im Zelleib zeigen. Die Fischlersche Methode läßt vereinzelt schwärzliche Körnchen in den Zellen erkennen. Die Eisenreaktion ist negativ, die Oxydasereaktion positiv. Es scheint, daß meistens anisotrope Fettsubstanzen in den Makrophagen entstehen, vielleicht Cholesterinkörper und wenige P-haltige Lipide.

*Sektionsprotokoll.* 34jährige Frau. Gehirntumor. Kreislauorgane: Ganz geringfügige Arteriosklerose. Ein abnormer Sehnenfaden in der linken Herzkammer. Atmungsorgane: Blutüberfüllung beider Lungenunterlappen. Geringe katarrhalische Bronchitis. Atelektase beider Lungenunterlappen. Verdauungsorgane: Alte verkalkte Tbc., mehrere bis haselnußgroße verkäste Lymphknoten. Milz: Blutüberfüllung, Lymphknötzchenschwellung der Milz. Leber: Ziemlich reichlich halb reiskorn- bis gut kirschgerngroße, zum Teil verkäste Konglomerattüberkel der Leber. Nervensystem: Ein gut walnußgroßer Solitärüberkel an der Unterseite des linken Stirnlappens des Gehirns. Mit der harten Hirnhaut in etwa markstückgroßer Ausdehnung verwaschen. Sehr starke Abplattung der Gehirnwundungen.

Es handelt sich, da *Ciaccio* und *Fischler* positiv, um Fettsäuren und Phosphatide. Hauptsächlich liegt aber eine Cholesterinverfettung der Plasmazellen vor. Die Mastzellen untersuchte ich auf das normale Vorkommen von Lipoiden hin, sowie darauf, ob bei den entzündlichen Vorgängen der Schleimhäute sich Fette in ihrem Zellinneren bildeten oder ablagerten. In mehr als 2500 Präparaten fand ich mehr oder weniger reichlich Mastzellen. Aber nur in einigen Präparaten zeigten ein paar Zellen bei Sudanfärbung rote Körnchen. Andere Methoden zum Fett-nachweis an demselben Schnitt ergaben dagegen nur negative Befunde, so daß den wenigen Präparaten mit Sudanfärbung keine Bedeutung beigemessen werden kann. Mastzellengranula von Fettsubstanzen zu trennen, gelingt ohne Schwierigkeit, z. B. färbt Sudan III Fett rot, Mastzellengranula eigentlich violett. Die Mastzellen fallen übrigens zwischen den Bindegewebszellen der Nase und der Luftwege durch ihre Form und Größe besonders auf. Am reichlichsten fand ich sie bei der eitrigen chronischen Entzündung der Schleimhäute der Oberkieferhöhle, bei dem Empyema Highmori. 5 Fälle von Empyema Highmori aus Prof. von Eickens Klinik wurden von mir untersucht. Die Schleimhaut war um Daumenstärke verdickt, während sie normalerweise papierdünn ist. In allen Fällen fanden sich zahlreiche Mastzellen, hier und da gruppenweise zerstreut, aber niemals kamen sie als Fetttträger in Frage. In der

Literatur findet sich nur eine Arbeit über Mastzellenlipoid. Nach Ciaccio<sup>18)</sup>) kommen im chronischen Granulationsgewebe lipoidhaltige Mastzellen vor, die mesenchymalen Ursprungs sind und sich sonst nirgends finden. Diese interstitiell gelegenen Lipoidzellen Ciaccios erscheinen ferner im Stroma mancher Geschwülste und bei der Vermehrung des Fettgewebes. Nach meinen Untersuchungen führen die Mastzellen der Nase und der oberen Luftwege weder bei normalen noch bei entzündlichen Vorgängen Lipide.

#### **IV. Auspflanzung von Nasen-, Kehlkopf- und Luftwegeschleimhaut von Kaninchenfeten.**

##### **Material und Nährmedium.**

Trächtigen Kaninchen werden ungefähr 25 Tage alte Feten aus dem Uterus herausgeschnitten, von denen keimfreies Material zum Ansetzen von Kulturen benutzt wird. Nach meinen Erfahrungen sind Feten der 3. bis 4. Woche besonders geeignet. Bei jüngeren Feten ist die Materialgewinnung schwierig, weil ihre Untermuschel und Trachea noch zu klein sind, außerdem wachsen die Kulturen schlechter. Die Mutterkaninchen darf man beim Eingriff nicht narkotisieren. Schon eine Woche nach der Operation sind sie wieder ganz munter und lebhaft. Den Feten trennt man möglichst schnell quer von außen die Nase ab, die Untermuschel wird von innen herausgenommen. Dann wird die vordere Halshaut aufgeschnitten, das Subcutangewebe wird stumpf mit der Pinzette gelöst und Kehlkopf und Trachea lassen sich jetzt leicht herausnehmen. Das Material wird schnell in Ringerlösung eingelegt und bald zur Auspflanzung benutzt.

##### **Gewinnung des Nährmediums.**

*A. Plasmagewinnung.* Man wählt junge Kaninchen aus. Durch direkte Herzpunktion kann man leicht 10 ccm Blut bekommen, die gleich zentrifugiert werden. Nicht mehr als etwa 2 ccm Plasma werden abgenommen, um keine roten Blutkörperchen oder Leukocyten mitaufzunehmen. Das Plasma kommt in paraffinierten Plasmaröhrchen für 20 Min. auf Eis und wird dann zum Ansetzen von Kulturen verwandt. Da ich außer der Methode des hängenden Tropfens auch die Kammermethode anwandte, so brauchte ich meist zu einmaligem Ansetzen das Blut von 2–3 Tieren.

*B. Knochenmarkextrakt.* Den Feten wird der Oberschenkel herausgenommen, das Knochenmark wird mit der Messerspitze ausgekratzt, mit der Schere zerkleinert, mit etwas Ringer versetzt und 10–20 Min. zentrifugiert. Es wurden oft 5–6 Feten verwandt, um genügend Material zu erhalten.

*C. Embryonalextrakt.* 14 Tage alte Feten sind zur Gewinnung von Embryonalextrakt besonders geeignet. Sie werden möglichst schnell

mit der Schere zerkleinert und weiter genau wie das Knochenmark behandelt. Selbstverständlich muß keimfrei gearbeitet werden. Alle Instrumente müssen steril sein, ebenso die zur Plasmagewinnung dienende Spritze und die Glasrörchen.

Die obenerwähnten Nährmedien habe ich zur Benutzung folgendermaßen gemischt: 1. 3 Teile Plasma, 1 Teil Ringer; 2. 5 Teile Plasma, 2 Teile Knochenmarkextrakt; 3. 5 Teile Plasma, 2 Teile Embryonalextrakt. Die Medien 2. und 3. enthalten soviel Ringerlösung, daß sie nicht zu flüssig sind. Von diesen 3 Nährmedien erwies sich mir im Laufe der Untersuchungen das 3 als am geeignetsten. Bei den folgenden Untersuchungen über Zellfettbildung in vitro wurde Nährmedium und Material gleichmäßig Beachtung geschenkt.

### Über den Fettgehalt der Nase- und Luftwegeschleimhäute von Kaninchenfeten.

47 Feten von 10 Kaninchenmüttern wurden von mir zum Vergleich mit meinen früheren Ergebnissen untersucht. Da ich zur Gewebszüchtung nur die Untermuschelschleimhaut verwandt habe, so muß ich mich auch in meinen Angaben auf sie beschränken. Zunächst schnitt ich die ganze Nase quer von außen mit der Schere ab, legte sie ungefähr 3 Tage lang in 10 proz. Formalinlösung, dann wurde sie in Wasser gewaschen und dann wurden ohne Entkalkung Gefrierschnitte angefertigt, und zwar so, daß Untermuschel, Mittelmuschel und Nasenseptum zusammen auf einem Präparat waren. Die Schnitte wurden genau wie beim Menschenmaterial untersucht. Die anatomischen Verhältnisse sind ähnlich wie beim Menschen. Man sieht die Oberflächenepithelschicht, die Submucosa, Schleimdrüsen und Muskelfasern. Die einzelnen Zellen dieser Schichten zeigen allerdings Unterschiede gegenüber den Zellen beim Menschen. Ich will hier aber nur auf ihren Fettgehalt näher eingehen.

Es ist schon lange bekannt, daß die Tiere in ihrem Knochenmark und in den Knorpelzellen verschiedene Fettarten enthalten, und ich kann diese Befunde nur bestätigen. Aber in der Schleimhaut der Untermuscheln oder einzelnen Gewebszellen findet sich kein Fett oder fetthaltiges Pigment. Wenn Schnitte mit Sudan III 2 Stunden lang gefärbt werden, bekommen die Drüsenepithezelnen und oberflächlichen Schleimhautepithelien einen lilaähnlichen Ton, den die Muskelzellen und anderen Bindegewebszellen nicht zeigen. Diese Beobachtung haben wir auch beim Menschenmaterial, besonders bei älteren Leuten, manchmal gemacht. Es handelt sich sicher um Überfärbung, nicht um Fett. Allerdings läßt sich einwenden, daß ebensogut auch die anderen Zellen überfärbt sein müssen. Vielleicht kommen aber noch besondere cellulär bedingte Ursachen hinzu. Jedenfalls enthält die Schleimhaut der

Untermuschel von Kaninchenfeten keine Fettsubstanzen und fettähnlichen Pigmente.

### Über den Fettgehalt der Organe der oberen Luftwege von Kaninchenfeten.

Trachea und Kehlkopf wurden längs und quer geschnitten. Bei den 47 Feten fand sich mehr oder weniger Fettgewebe der Submucosa der Schleimhaut, meistenteils Cholesterinester, teils zusammen mit Neutralfett und wenig Lipoid. Die Färbarkeit ist etwas anders als beim Menschen. Zum Beispiel färbt sich beim Menschen Neutralfett mit Sudan schön rot, beim Tier hellgelbrot. Cholesterinkörper des Menschen färben sich nach Dietrich schwarzblau, beim Tier schmutziggrauschwarz. Vielleicht liegen Unterschiede in der chemischen Natur der Fette vor. In einzelnen Zellen der Schleimhäute, z. B. in der oberflächlichen Epithelienschicht und in den Drüsenepithelzellen, fanden sich ebensowenig Fette oder Lipoide wie in der Nase.

### Fettnachweis im Nährmedium.

Die Fettkörper des Nährmediums lassen sich chemisch und histochimisch nachweisen. Ich habe bei den Untersuchungen über Zellfettbildung *in vitro* alle Fettfärbungen auf das Medium angewandt. Es lässt sich so ein ungefähre Überblick über die Fettarten gewinnen, die bei den verschiedenen Medien natürlich Unterschiede zeigen. Deshalb müssen auch immer, wenn neue Kulturen angesetzt werden, genügend Präparate des Mediums gefärbt werden. Das Medium, das aus 5 Teilen Plasma und 2 Teilen Embryonalextrakt bestand, wurde in folgender Weise untersucht. 3 Tropfen des Mediums wurden auf ein gewöhnliches Deckgläschen gegeben — besser mischt man noch etwas destilliertes Wasser dazu — und im polarisierten Licht untersucht. Man kann in einer Stunde leicht mehrere Präparate durchsehen. Oft fand ich mehr oder weniger blasige, nicht doppelbrechende Körper, seltener anisotrope — dem Anschein nach — Fettsubstanzen und Cholesterintafeln. Letztere unter 20 Präparaten ungefähr einmal. In einem Präparat waren manchmal 2—3 doppelbrechende Stellen zu finden — vermutlich immer Fettkörper. Ich ließ die Präparate bei Zimmertemperatur trocknen, tropfte dann stark verdünnte Nilblausulfatlösung auf und ließ sie über Nacht im Brutofen ruhig liegen, dann wurden sie in 1 proz. oder noch stärker verdünnter Essigsäurelösung differenziert. Man findet meistenteils rundliche, isotrope, blaue Fettröpfchen mit hellroten oder bläulich-rötlichen Hüllen, oder Krystalle, die feine Doppelbrechung zeigen. Bei Smith-Dietrich-Färbung sieht man kleine, rundliche schwarze Körnchen, schwarze Hüllen und Tafeln. Letztere zeigen Doppelbrechung. Die Ciaccio-Methode gibt weniger gute Resultate. Ich wandte sie

folgendermaßen modifiziert an. Die Präparate wurden bei Zimmer-temperatur getrocknet, kurz über der Flamme erwärmt und zusammen mit den Deckgläschen in die 1. Fixierungsflüssigkeit und dann in die 2. gebracht. Dann kamen sie in Wasser, durch die Alkoholreihe-Alkoholxylool-Xylool und dann  $\frac{1}{2}$  Stunde in Xyloolparaffin bei  $50^{\circ}$  in den Paraffinofen. Dann wurden die Schnitte bis zum 70 proz. Alkohol zurückgebracht und gefärbt. Das Lipoid färbt sich so rot. Die Sudanfärbung ist auch brauchbar, aber manchmal bekommt man Niederschläge im Medium, so daß statt Sudan besser Scharlachrot angewendet wird. Vor allem muß die verdünnte Farbstofflösung auf das Medium viel länger als auf die Schnitte einwirken. Es zeigt sich, daß das Nährmedium meistenteils Lipoide enthält, zum Teil Cholesterinester. Es ist selbstverständlich, daß alle obenerwähnten Phänomene nicht immer zu beobachten sind, auch in demselben Medium findet man verschieden viel Fett vor. In einem Medium, das 5 Teile Plasma und 2 Teile Knochenmark enthielt, fand sich ebensoviel Lipoid wie bei dem ersterwähnten Medium, dagegen schienen die cholesterinesterähnlichen Substanzen seltener zu sein.

Um den Fettgehalt des Mediums möglichst weit herabzudrücken, habe ich folgende Versuche angestellt. Das von mir gebrauchte Medium wurde ziemlich lange zentrifugiert, dann wurde die oberste Schicht abgenommen, das Medium wurde steril filtriert und weiter zentrifugiert. Der Fettgehalt verminderte sich deutlich. Cholesterintafeln konnte ich überhaupt nicht mehr finden. Aber wenn man viele Präparate untersucht, dann trifft man noch immer genügend Lipoide, trotzdem sie durch die Behandlung weniger geworden sind. Das Medium chemisch fettfrei zu bekommen, versuchte ich in der chemischen Abteilung von Prof. Rona, indem ich es mit Äther behandelte. In 5 ccm dieses entfetteten Mediums wurde ganz wenig Mercks Lécithin gegeben. Setzte man mit einem so behandelten Medium Bindegewebszellen an, so zeigten sie nach 24 Stunden Absterbeerscheinungen, die Gewebsstückchen schrumpften, Wachstum war nicht zu erkennen. Die chemische Behandlung schädigt das Medium zu sehr. Sicher werden Lipoid-Eiweißverbindungen zerstört, und das Medium wird zum Ansetzen der Kulturen unbrauchbar.

#### Wachstumserscheinungen des Schleimhautgewebes.

Ich habe — ebenso wie bei dem Menschenmaterial — untersucht: A. oberflächliche Schleimhautzellen, B. Drüsenepithezelzellen, C. Bindegewebszellen, D. Muskelzellen. Da ich *in vitro* die Erscheinungen unter B. nicht genau analysieren konnte, so möchte ich nur über das übrige berichten.

Wenn man Nasenschleimhaut von Feten züchtet, so wachsen die verschiedenen Zellarten nicht gleichmäßig, sondern hauptsächlich

wandern Bindegewebzellen und Muskelzellen aus, während das Epithelwachstum gering ist. Wird die Schleimhaut der oberen Luftwegeorgane mit Knorpel zusammen gezüchtet, so wachsen die Knorpelzellen gar nicht, sie sterben vielmehr bald ab, wodurch auch das Wachstum der anderen Zellen gehemmt wird. Man muß deshalb die Schleimhaut immer allein zur Züchtung verwenden. Im allgemeinen wächst die Schleimhaut der Nase besser als die der oberen Luftwege, wobei sich 3 Zellarten unterscheiden lassen. Da die Vorgänge bei der Zellfettbildung überall die gleichen sind, beschränke ich mich im folgenden auf die Nasenschleimhaut.

#### **Wachstumserscheinungen von Epithelzellen und Fettbildung in ihnen in vitro.**

Kleine Gewebsstückchen der Untermuschelschleimhaut von Kaninchensfeten werden in 5 Teilen Plasma und 2 Teilen Embryonalextrakt im hängenden Tropfen gezüchtet. Am nächsten Tage sieht man 1—2 Reihen angewachsener Zellen von rundlicher oder ovaler Form, verschieden groß und dazwischen einige besonders große runde Zellen. Kurze Zeit nachher nehmen die blasigen und ovalen Zellen eine langgestreckte Form an, während die großen runden Zellen unverändert bleiben. Nach ungefähr 3 Tage langer Züchtung lassen sich deutlich 2 Zellarten unterscheiden, die eine sieht Bindegeweb- und Muskelzellen ähnlich, die andere Epithelzellen. Erstere Zellart zeigt lebhafte Auswanderung als die zweite. Die Gewebsstückchen müssen im allgemeinen jetzt umgesetzt werden, denn das Medium zeigt häufig Trübung, Versteifung oder Verflüssigung. Hat sich das Medium verflüssigt, so zeigen die Gewebsstückchen zitternde Bewegung. Außerdem sieht es so aus, als ob die Bindegewebzellen das Wachstum der Epithelzellen hemmen. Bisweilen treten die beobachteten Erscheinungen auch später als nach 3 Tagen auf. Ich habe öfters erst nach 4 Tagen mit gutem Erfolg umgesetzt. Zu frühes Umsetzen ist jedenfalls schädlich, denn Ruhe ist eine Hauptbedingung für gutes Zellwachstum. Bei der ersten Umsetzung werden die epithelähnlichen Zellen mit kleinen Gewebsstückchen zusammen, getrennt von den anderen Zellen, abgenommen und die beiden Zellarten einzeln in neues Medium umgesetzt. Die epithelähnlichen Zellen gehen bei dieser Umsetzung leicht verloren. Außerdem wachsen nach dem Umsetzen die großen runden Zellen manchmal nicht, sondern bleiben unverändert, und andere Zellen wachsen aus. Reines Epithelgewebe ist also schwer zu kultivieren. Ich habe deshalb nach der 2. Umsetzung nur noch das Medium gewechselt. Es wurden erst 3 Tropfen Ringerlösung auf das Gewebestückchen mit einer feinen Pipette gegeben, dann blieben die Präparate 20 Min. im Brutschrank ruhig stehen, darauf wurden die Ringerlösung und das alte Medium

sorgfältig abpipettiert und neues Medium zugesetzt. Ein Zellwachstum war aber durchaus nicht in allen Fällen zu erzielen. Unter 30 Präparaten wuchsen oft nur 5—7 Stückchen gut, und in günstigen Fällen hielt dieses Wachstum über 4 Wochen lang an.

### Morphologische Erscheinungen der Epithelien *in vitro*.

Die Epithelzellen wachsen zu Haufen zusammenliegend, wobei die einzelnen Zellen eine 4—6eckige Gestalt annehmen. In den Zellen sieht man rundliche Körnchen. Einzelne Zellen und die dem Plasmahof zugewendeten Zellteile zeigen Abrundung. Ich lenkte nun meine Untersuchungen besonders auf die Fettbildung in neu ausgewachsenen Zellen. Man sieht, wo Fett vorhanden, von vornherein im Protoplasma mehrere kleine, stark lichtbrechende Tropfen. Sie sitzen meistens nahe am Zellkern. Im polarisierten Licht zeigen sie keine Doppelbrechung. Nach kürzerer Zeit vermehren sie sich manchmal und finden sich dann hauptsächlich im Plasma. Im allgemeinen konnte ich die Fettröpfchen in den ausgewanderten Zellen nur sehr selten beobachten, oft enthalten die neugewachsenen Zellen keine Fettsubstanzen, erst nach einiger Zeit tritt manchmal Fett auf. Wahrscheinlich enthalten junge, lebhaft wachsende Zellen keine Fette oder höchstens ganz spärlich. So war im Inneren der Gewebestückchen oft nichts zu finden, während die isolierten Zellen oder die dem Plasmahof zugewandten Zellen reichlich Fettsubstanzen enthielten. Kurz vor dem Zelltod vermehren sie sich, wobei gleichzeitig sogenannte Degenerationsgranula erscheinen. Im allgemeinen sind die Befunde sehr wechselnd. Zum Beispiel eine Woche im gleichartigen Medium gezüchtete Präparate zeigen viel Fetttropfen in den Epithelzellen, dagegen fehlen in anderen Präparaten die Fette ganz.

### Zur Frage der Fettphagocytose.

Es ist bekannt, daß bei der Bewegung der Epithelzellen, bei der Phagocytose der Milzzellen *in vitro* Bakterien, Fremdkörper, Fette, Eiweißkörnchen, die sich im Nährmedium finden, in den Zelleib aufgenommen werden. Trotzdem ist zweifellos das Verhalten der verschiedenen Zellen unter verschiedenen Bedingungen sehr wechselnd. Bei der Phagocytose nehmen die Zellen aktiv die Fremdkörper auf. In unseren Kulturen aber nähern sich die Fettröpfchen manchmal aus physikalischen Ursachen dem Rande der Gewebestücken und legen sich gelegentlich direkt an die Zellen an. Da ich solche Fetttropfen manchmal dicht am Zelleib bemerkte, so nahm ich alle 2 Stunden die Präparate aus dem Brutofen heraus und untersuchte sie darauf, ob das Fett in die Zellen eintrat. Aber die Epithelien wuchsen ohne die kleinsten Veränderungen in ihren Umrissen zu zeigen. Die Fettröpfchen schienen

zu groß zu sein, um phagocytiert werden zu können. Auch keine passive Fettaufnahme war zu beobachten. Es ist aber wohl möglich, daß kleinste, nicht sichtbare Fetttröpfchen und Lipoideiweißkörper von den Zellen während ihres Wachstums aufgenommen werden, zu größeren Tropfen zusammengetreten und so für uns bemerkbar werden. Etwas Sichereres hat sich aber nicht feststellen lassen.

#### **Die Fettsubstanzen der Epithelzellen nach Beobachtungen in vitro.**

Auf die obenerwähnten Präparate wurden die histologischen Fett-nachweismethoden angewandt. Gibt man auf die Gewebsstückchen

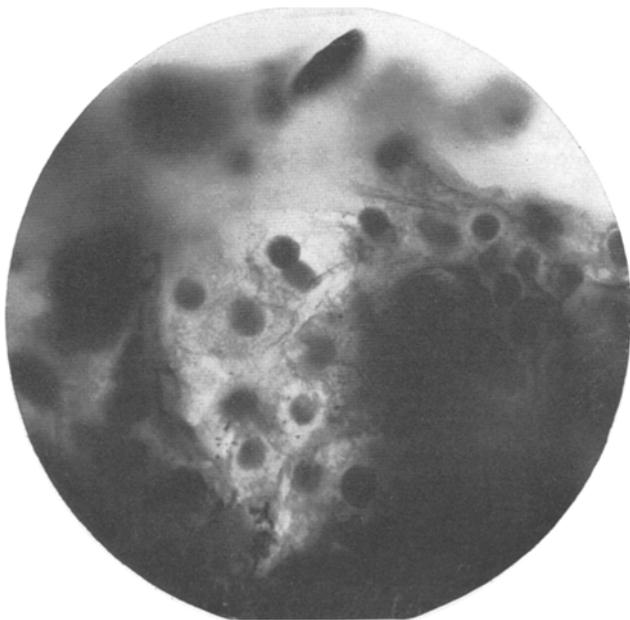


Abb. 6. Zeiss. Objektiv A. 2. Okular Homal I: Totalpräparat. 2 Wochen gezüchtet. Färbung scharlachrot. Nachfärbung Hämalaun. Einschluß in Glycerin. Nährmedium: 5 Teile Plasma und 2 Teile Embryonalextrakt. Reinkultur von Epithelzellen der Untermuschelschleimhaut von Kaninchenfeten. Wenig Phosphatide in den Zellen. Das Totalpräparat in Glycerin eingeschlossen ist zu dick, deshalb vgl. Abb. 7.

ohne vorherige Konservierung verdünnte Nilblausulfatlösung und läßt über Nacht im Brutofen stehen, so färben sich die Fetttröpfchen immer blau. Bei vorheriger Konservierung in 10 proz. Formalinlösung für 24 Stunden und Färbung mit Sudan oder Scharlachrot färben sich die Fetttröpfchen immer rot. Smith-Dietrich und Fischler geben Schwarzfärbung, Ciaccio gelblichrote.

Es handelt sich also ebenso wie bei den Drüsenepithezellen der Nase und der Luftwegeskleimhaut um P-haltige Fettkörper, „Phosphatide“.

Die Menge der Phosphatide wechselt in den einzelnen Präparaten sehr, ebenso tritt die Oxydasereaktion unregelmäßig auf, während die Eisenreaktion stets negativ ist.

#### Bindegewebszellenwachstum und die Verfettung der Bindegewebszellen.

*Spezielle Technik.* Bindegewebszellen zu züchten erweist sich leichter als die Züchtung von Epithelzellen. Alle 3 obenerwähnten Medien sind hierfür brauchbar. Am empfehlenswertesten scheint mir reines Plasma. Ich bediente mich bei der Züchtung der Methode des hängenden Tropfens und der Kammermethode. Die Bindegewebszellen wurden nach Ansetzen im hängenden Tropfen mit kleinen Gewebsstückchen

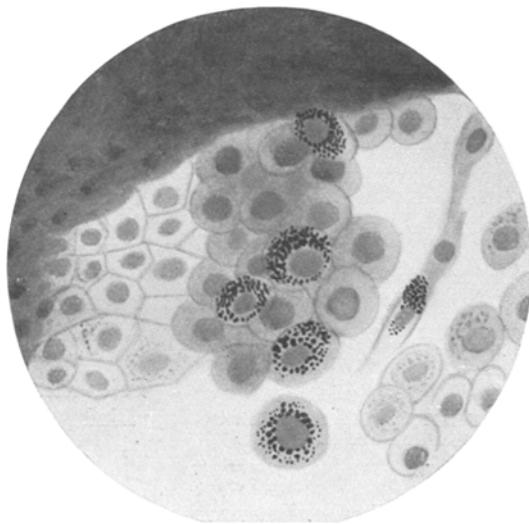


Abb. 7. Photographierte Zeichnung, 8 Tage gezüchtet. 3 mal umgesetzt. Nährmedium reines Plasma. Fast Reinkultur. Nur 3 Zellen sehen Bindegewebszellen ähnlich. Gefärbt mit Sudan III, nachgefärbt mit Hämalaun. Die schwarzen Körnchen sehen unter dem Mikroskop rot aus. Die Photographie zeigt nur einen Teil der Körnchen. Gezeichnet wurde unter Drehen der Mikrometer-schraube und dann photographiert. Die Körnchen, die in der Umgebung des Kerns liegen, sind Phosphatide. Man sieht sie in 5 Epithelzellen und einer Bindegewebszelle. In letzterer liegen sie an den Polen des Zellkerns. Die anderen Gebilde in den Epithelzellen sind sog. Zellvakuolen.

zusammen beim ersten Umsetzen abgeschnitten und dann in Kammern umgesetzt. Das weitere Umsetzen geschah unter Anwendung der Methode des hängenden Tropfens alle 3 Tage. 4 oder 5 Tage nach dem Ansetzen sieht man manchmal eine klare Flüssigkeit an der Grenze von Gewebestück und Plasmahof. Diese Flüssigkeit hemmt das Zellwachstum. Deshalb ist jetzt das Umsetzen nötig. Vielleicht entspricht diese Flüssigkeit der „Archusia“ Burrows. Bei Anwendung der Kammermethode tritt die Flüssigkeit nicht vor einer Woche auf.

### **Wachstumserscheinungen der Bindegewebszellen.**

In günstigen Fällen sieht man 12 Stunden nach dem Ansetzen meistenteils ovale oder rundlich-blasige kernhaltige Zellen in mehreren Reihen. Ihr Zellinhalt ist schwach lichtbrechend. Im Protoplasma sind von vornherein hellbräunliche, punktartige Vakuolen enthalten, und zwischen diesen Zellen findet man oft noch etwas größere ovale Zellen, die vielleicht Basalzellen sind. 24 Stunden nach dem Ansetzen wächst erstere Zellart schon mit spitzen Ausläufern und reich verzweigt aus,

während sich die anderen Zellen der weiteren Beobachtung entziehen.

3 Tage nach dem Ansetzen sieht man gutes Wachstum der Bindegewebszellen. Ich schnitt sie jetzt mit einem Gewebsstück zusammen von den anderen Zellen ab, setzte sie in Kammern um und beobachtete jeden Tag und setzte weiter alle Woche einmal um. Ich konnte so die Bindegewebszellen über 6 Wochen lang züchten.

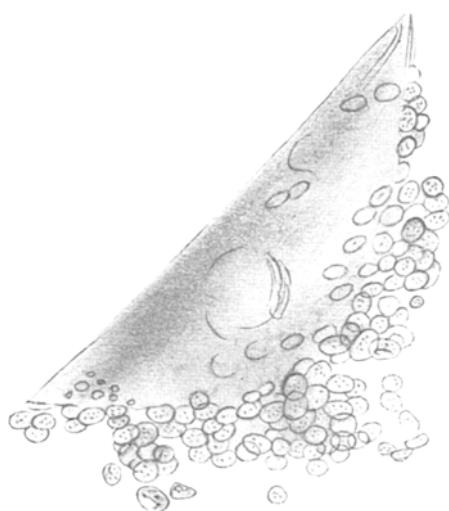


Abb. 8. Zeichnung nach dem Leben. 24 Stunden nach dem Ansetzen. Bindegewebszellen der Schleimhaut der Trachea.

teils an den Polen der Zellkerne. In erwachsenen Bindegewebszellen erfüllen sie fast den ganzen Zellleib. Ich habe besonders die 6 Wochen lang gezüchteten Präparate untersucht und sie ungehärtet mit Fettfarbstoffen gefärbt. Andererseits gab ich 10 proz. Formalinlösung in die Kammer, konservierte 2 Tage lang, nahm das Formalin ab und gab destilliertes Wasser zu und wiederholte dies 4—5 mal. Das Gewebestück wurde dann mit dem Nährmedium zusammen in Gelatine eingebettet und mit dem Gefriermikrotom in Serienschnitte zerlegt. Die Schnitte wurden einerseits mit einer Fettfärbung, andererseits mit Hämalaun-Eosin und Weigert-van Gieson gefärbt. Es wurde die Oxydasereaktion und die Eisenreaktion wie beim Menschenmaterial angestellt. Bei Fettfärbung unseres Materials bekamen wir bei den jüngsten Präparaten die gleichen Ergebnisse wie bei den über einen Monat lang gezüchteten. Sie decken sich mit den Befunden an Epithelzellen. Die Oxydasereaktion ist fast ausnahmslos positiv, während sie beim Epithel stark schwankt, die Eisenreaktion ist negativ.

### **Fettnachweis in den Bindegewebszellen.**

Die Fettsubstanzen der jungen Zellen sitzen meistens

### **Wachstumserscheinungen der Muskelzellen und Fettbildung in ihnen.**

*Spezielle Technik.* Die Methode des hängenden Tropfens war ebenso brauchbar wie die Kammermethode. Wir untersuchten das Muskelzellenwachstum gelegentlich an Gewebskulturen der Untermuschelschleimhaut oder der Luftwegeorgane. Noch besser ist das Zwischengebebe der Ringknorpel der Trachea zur Untersuchung geeignet, weil dort glatte Muskelzellen fast rein vorkommen. Die Muskelzellen der 3 verschiedenen Stellen der Schleimhaut zeigen keine Unterschiede in bezug auf ihr Verhalten in vitro und ihren histologischen Bau. Wenn

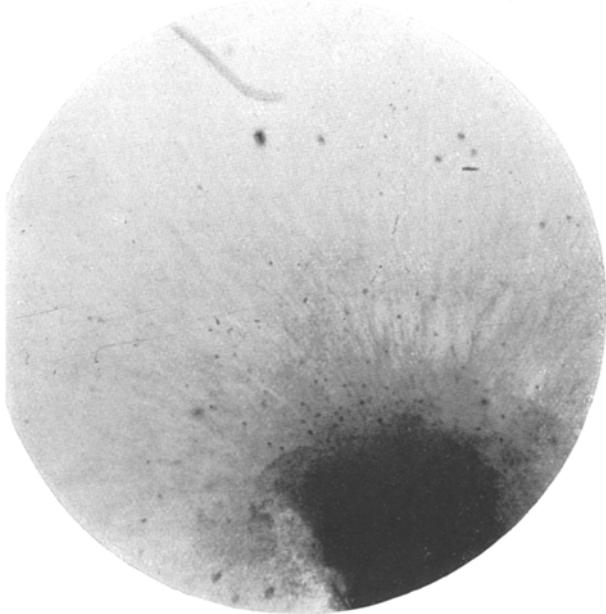


Abb. 9. Photo, Zeiss. Objektiv D. Okular Homa. I: 1 mal abgeschnitten und umgesetzt eine Woche nach dem Ansetzen. Vitalfärbung in stark verdünnter Nilblausulfatlösung. Totalpräparat. Einschluß in Glycerin.

man möglichst gutes Wachstum der Muskelzellen erhalten will, so nimmt man am besten den ganzen Kehlkopf oder die Trachea heraus, schneidet quer ab, so daß man einen der obersten Trachealringe vor sich hat. Diesen Ring schneidet man längs auf und bekommt 2 Halbringe. Diese werden in Kammern gezüchtet. Nach meinen Erfahrungen hat man schon nach einem Tage gute Zellauswanderung von der Konvexseite des halbringförmigen Stückes her, während von der Schleimhautfläche aus das Wachstum spärlich ist, manchmal zusammen mit anderen Zellen. Die ausgewanderten Zellen der Konvexseite des Halbringes sind fast reine Muskelzellen, die abgeschnitten und umgesetzt werden.

Kurze Zeit nach dem Ansetzen sehen die Muskelzellen rundlich oder oval aus. Sie liegen in Form von schmalen Streifen eine hinter der anderen in der Richtung der Auswanderung im Medium. 3 Tage nach dem Ansetzen sah man bandartige, langgestreckte Muskelfasern. Ein Teil der Muskelfasern trennte sich von dem Gewebe ab und wuchs gekrümmt für sich allein weiter. Das Wachstum der Muskelzellen war im allgemeinen besser als das der Epithel- und der Bindegewebeszellen. Die Fettbildung in den Muskelzellen soll zusammen mit der der Bindegewebeszellen besprochen werden.

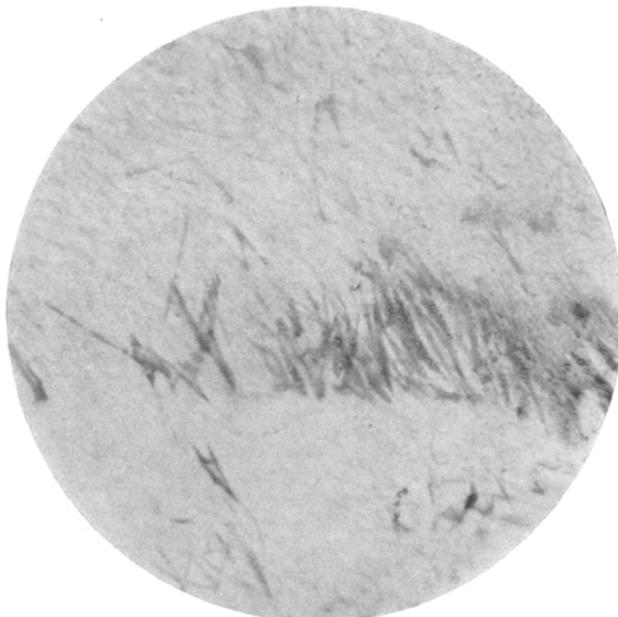


Abb. 10. Photo. Zeiss. Objektiv D. Okular Homal I: 4 Wochen lang gezüchtet nach der Kammermethode. Härtung in 10 proz. Formalinlösung. Einbettung in Gelatine. Serienschnitt. Färbung nach Ciaccio. Die schwarzen Körnchen sehen im Präparat gelblichrot aus.

#### **Zur Frage der Unterscheidung von Fibroblasten und Myocytes in vitro.**

Zum Vergleich diente Material (Untermuschelschleimhaut), das unter gleichen Bedingungen gezüchtet und über einen Monat lang beobachtet wurde.

##### *A. Unregelmäßig auftretende Unterscheidungsmerkmale.*

a) Die Muskelzellen wachsen schneller und reichlicher als die Bindegewebeszellen und besitzen langgestreckte Ausläufer, während die Bindegewebeszellen mehr verzweigte Ausläufer haben. Während des Wachstums der Bindegewebeszellen wird das Medium etwas schneller als sonst flüssig. Im Verlauf der Zellauswanderung — etwa einen Tag nach dem

Ansetzen — findet man bei den Myocyten manchmal einen Schleier, der fibrinähnlich aussieht, keine Doppelbrechung hat, aber im Dunkelfeld etwas heller als das übrige Medium erscheint und der der Zellauswanderung vorausgeht und die ausgewanderten Zellen umgibt.

b) Der Zellquerschnitt der Myocyten ist breiter und mehr gezackt als der der Fibroblasten.

c) Der Protoplasmainhalt der Muskelzellen sieht etwas dunkler aus als der der anderen Zellen. Wahrscheinlich enthalten die ersteren mehr Vakuolen. Die Unterschiede unter a und b sind oft nur schwer zu konstatieren. Dagegen scheint mir c zur Unterscheidung wichtig zu sein.

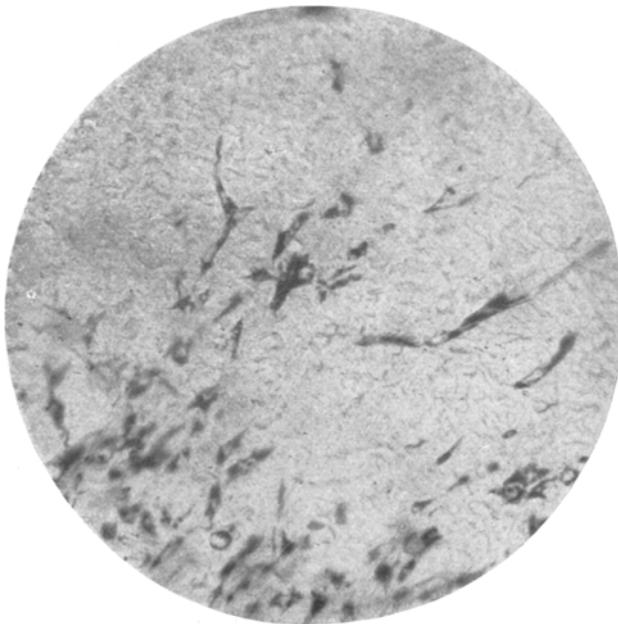


Abb. 11. Photo. Zeiss. Objektiv D. Okular Homal I: 4 Wochen lang in Kammern gezüchtet. Härtung in 10 proz. Formalin, Einbettung in Gelatine, Färbung mit Nilblausulfat, Serienschnitt.

#### *B. Sichere Unterscheidungsmerkmale.*

Material und Nährmedium sind das gleiche wie oben, 4 Wochen lang Züchtung in Kammern. Gelatineeinbettung. Gefrierserienschnitte, Färbung.

d) Die Querschnitte der Muskelzellen zeigen immer sternförmige Bilder. In Längsschnitten sieht man mehrere Fasern in einer Zelle. Die Bindegewebszellen sehen auf ihren Querschnitten oval, auf den Längsschnitten spindelförmig aus.

e) Nach *Weigert-van Gieson* färben sich beide Zellarten ähnlich wie beim Menschenmaterial, nur färben sich die Muskelzellen immer gelblicher als die Fibroblasten.

f) Die Phosphatide sind in den Muskelzellen reichlicher als in den Bindegewebszellen. Die Fette, die mehr in der Nähe des Zellkerns sitzen, sind doppelt so reichlich wie bei den Fibroblasten. Ebenso tritt die Oxydasereaktion in den Muskelzellen stärker auf als bei den Fibroblasten, d, e, f bilden sichere Unterscheidungsmerkmale.

Ich komme nun zur Fettbildung in den Zellen. Die Fettbildung in den Muskelzellen ist ganz die gleiche wie in den Epithelien. Von Anfang an findet man Fettröpfchen, die manchmal an beiden Polen des Zellkerns liegen. In gut ausgebreiteten Zellen sieht man manchmal den

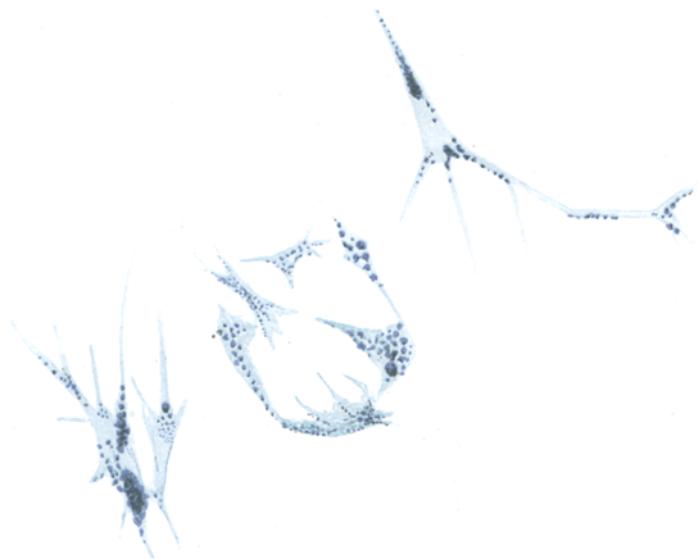


Abb. 12. Zeichnung nach Photo (11). Mitte: Querschnitte der Muskelzellen, zu beiden Seiten Längsschnitte.

ganzen Zelleib von Fett erfüllt. Die Form der Fetteilchen wechselt. Die Fettröpfchen, die nahe am Zellkern liegen, sind immer größer als die anderen. Das färberische Verhalten der Muskelzellen gegen Fettfarbstoffe ist genau dasselbe wie das der Bindegewebszellen. Es handelt sich danach um Phosphatide. Ich hatte ursprünglich gehofft, *in vitro* auch das Auftreten von Abnutzungspigmenten beobachten zu können. Es ist mir aber nie gelungen, dergleichen zu bemerken. Daß unter natürlichen Bedingungen die Fettbildungsvorgänge viel verwickelter vor sich gehen, als sich *in vitro* beobachten läßt, ist selbstverständlich. Ich glaube aber, daß auch *in vivo* Autolyse und Stoffwechsel eine besondere Rolle bei der Fettbildung in den Zellen spielen.

### Literatur zur Lipoidfrage in vitro.

Es liegt nur wenig Literatur vor, die auf die vorliegende Untersuchung Bezug hat. *Nasu* und *Midsuda*, beide Schüler *Lubarschs*, haben sich mit der Frage der Fettbildung in Gewebskulturen beschäftigt. Sie untersuchten Herzkappen und Speicheldrüsen erwachsener Tiere und stellten fest, daß die im Bindegewebe und im Epithel auftretenden lipoiden Stoffe weder Neutralfette noch Cholesterin sind. *Nasu* versuchte aus dem Plasma alle lipoiden Stoffe vor dem Ansetzen der Kulturen zu entfernen, was ihm hinsichtlich der Neutral- und Cholesterinfette, aber nicht bei den Phosphatiden gelang. Da die in den Gewebskulturen auftretenden Fettstoffe hierzu gehören und in keimfrei im Reagensglas im Eisschrank bis zu 250 Tagen aufbewahrten Speicheldrüsenstückchen keine Lipoide auftreten, so schließen die genannten Forscher, daß das in den Gewebskulturen auftretende Fett nicht endogenes, sondern infiltrativ oder resorptiv durch Diffusion aus dem Plasma entstehendes Lipoid ist. *Krontowski* und *Poleff*<sup>44)</sup> konnten neben einer fettigen Metamorphose auch Lipoide feststellen. Ein Entstehen von Fett aus dem Eiweiß der Zellen halten sie für unmöglich. Die Fette müssen nach ihnen aus der Umgebung stammen, wo sie sich infolge mangelnder Verbrennung ablagern. An Gewebskulturen haben besonders eingehende Studien *Lambert* und *Hanes*<sup>45)</sup> gemacht. Sie konnten an den wachsenden Zellen von Rattenbindegewebe Fettkügelchen auftreten sehen, die isotrop waren und mit Sudan sich gelb färbten. *Lambert* und *Hanes* nehmen ebenfalls eine Fettentstehung durch die Granula aus den Stoffen des umgebenden Plasmas an.

### Zusammenfassung.

I. In der Nasen-, Kehlkopf- und Trachealschleimhaut von Totgeburten und Säuglingen ohne Erkrankungen findet man schon unter physiologischen Bedingungen Fettgewebe, mit Ausnahme der Nase, die Neutralfett, Cholesterinester und wenige Lipoide im engeren Sinne enthalten. In einzelnen Gewebszellen fehlen die Fettsubstanzen und fettähnlichen Pigmente.

II. Die Untersuchungen an Kindern und Erwachsenen ohne Erkrankungen zeigen Fettsubstanzen im Schleimdrüseneipithel der Nasen-Luftröhrenschleimhaut. Es sind P-haltige Fettsubstanzen, „Phosphatide“. Die Phosphatide nehmen mit dem Alter zu.

Bei Erwachsenen findet man Abnutzungspigmente in den Muskelzellen der Schleimhäute, die ebenfalls im Alter vermehrt sind. Die Pigmente treten unabhängig vom Fettgehalt der Gewebe auf.

III. Die Phosphatide der Drüseneipithelzellen vermehren sich bei den chronischen Stoffwechselkrankheiten, ebenso bei der Carcinomkachexie, progressiven Paralyse, schweren Syphilis. Bei Lungentuber-

kulose ohne Erschöpfungszustände sind sie nicht vermehrt. Bei den lokalen Entzündungen der Gewebe enthalten die auftretenden Makrophagen anisotrope Fetttröpfchen und etwas P-haltige Fettsubstanzen. Die Abnutzungspigmente der Muskelzellen der Schleimhaut vermehren sich wahrscheinlich auch bei den chronischen Stoffwechselkrankheiten und bei Carcinomkachexie, doch geht ihr Auftreten nicht dem der Phosphatide parallel. Das Verhalten der Pigmente bei Entzündungen ist noch nicht geklärt.

IV. Die Fettsubstanzen der Epithel-, Bindegewebs- und Muskelzellen, der Nasen-, Kehlkopf-, Trachealschleimhäute von Kaninchenfeten sind „Phosphatide“ (nach Beobachtungen *in vitro*) und wahrscheinlich ganz die gleichen wie beim Menschen. Die Zellfettbildung *in vitro* hängt von der Zusammensetzung des Mediums ab. Das Auftreten von Abnutzungspigmenten *in vitro* konnte nicht beobachtet werden.

Herrn Geheimrat Lubarsch möchte ich für seine Unterstützung meinen besten Dank aussprechen.

---

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1)</sup> Akamatsu, N., Über Gewebskulturen von Lebergewebe. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **240**. 1922. — <sup>2)</sup> Adachi, Über das Vorkommen doppelt-brechender Lipoide im tierischen Ovarium und Uterus. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. **76**. 1912. — <sup>3)</sup> Akutsu, Beiträge zur Histologie der Samenblase, nebst Bemerkungen über Lipochrom. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **186**. 1902. — <sup>4)</sup> Arnold, T., Über Plasmaprozesse und ihre funktionelle Bedeutung. Jena: Fischer 1914. (Hier umfassende Literatur.) — <sup>5)</sup> Aschheim, Zur Histologie der Uterusschleimhaut. Jena 1909. — <sup>6)</sup> Aschoff, L., Ein Beitrag zur Lehre von den Makrophagen. Verhandl. d. Dtsch. Pathol. Ges. 1913. — <sup>7)</sup> Beumer, H., Über Lecithinausscheidung bei Tabes und Paralyse und ihre Bedeutung. Verhandl. d. Dtsch. Pathol. Ges., München 1909. — <sup>8)</sup> Bahn und Schmidtmann, Pigmentstudien. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **227**. 1920. — <sup>9)</sup> Burrows, T. M., A note on the mechanism of heart muscle contraction. Amerie. journ. of physiol. **45**. 1917. — <sup>10)</sup> Burrows, T. M., Die Bewegung des Epithels der Haut. Arch. f. exp. Zellforsch. **1**. 1925. — <sup>11)</sup> Burrows, T. M., Relation of oxygen to the growth of tissue cells. Journ. of the Americ. med. assoc. 1924. — <sup>12)</sup> Busse, O., Auftreten und Bedeutung der Rundzellen bei Gewebskulturen. — <sup>13)</sup> Busse, O., Bedeutung der Plasmakulturen für die wissenschaftliche Medizin. Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **36**. 1923. — <sup>14)</sup> Carrel, A., Growth plomating function of leukocyten. Journ. of exp. med. **36**. 1922. — <sup>15)</sup> Carrel and A. H. Ebeling, Age and multiplication of fibroblasts. Journ. of exp. med. **34**. 1921. — <sup>16)</sup> Chlopin, Über „*in vitro*“-Kulturen von Geweben der Säugetiere, mit besonderer Berücksichtigung des Epithels. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **243**. 1923. — <sup>17)</sup> Ciaccio, Untersuchungen über die Autooxydation der Lipoidstoffe und Beitrag zur Kenntnis einiger Pigmente (Chromolipoide) und Pigmentkomplexe. Biochem. Zeitschr. **69**. 1915. — <sup>18)</sup> Ciaccio, Über die Anwesenheit von lipoiden Substanzen in Mastzellen. Zeitschr. f. allg. Pathol. **24**. 1913. — <sup>19)</sup> Dietrich und T. Kleeberg, Die Störungen des cellulären Fettstoffwechsels. Ergebni. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat., herausg. von Lubarsch-Ostertag. 1924. (Hier umfassende Literatur.) — <sup>20)</sup> Dohn, Über Fettgewebsentwicklung an und in der Lunge. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u.

- Physiol. **206**. 1911. — <sup>21)</sup> *Ebeling, A. H.*, Mixed cultures of pure strains of fibroblasts and epithelial eeds. Journ. of exp. med. **36**. 1922. — <sup>22)</sup> *Endo*, Über die Fettflecke der Magenschleimhaut. Zeitschr. f. d. Med. Ges. zu Tokio. — <sup>23)</sup> *Erdmann, Rhoda*, Prakticum der Gewebepplege oder Explantation besonders der Gewebezüchtung. 1922. — <sup>24)</sup> *Erdmann, Rhoda*, Explantation und Verwandtschaft. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre **30**. 1923. — <sup>25)</sup> *Erdmann, Rhoda*, Einige Gedanken über Zellwucherungen der in vitro-Kulturen. Med. Klinik 1923, Nr. 30. — <sup>26)</sup> *Erdmann, Rhoda*, Die Eigenschaften des Grundgewebes nach seinem Verhalten in der in vitro-Kultur. Naturwissenschaften **12**, 627—652. 1924. — <sup>27)</sup> *Erdmann, Rhoda*, Die Bedeutung der Gewebezüchtung für die Biologie. Dtsch. med. Wochenschr. 1920. — <sup>28)</sup> *Fischer, Albert*, Growth of fibroblasts and hydrogen ion concentration of the medium. Journ. of exp. med. **34**. 1921. — <sup>29)</sup> *Fischer, Albert*, Beitrag zur Biologie der Gewebezellen, eine vergleichende Studie der normalen und malignen Gewebezellen in vitro. Zeitschr. f. wiss. Biol. Abt. D: Wilh. Roux' Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organisma. **104**. 1925. — <sup>30)</sup> *Froot*, Über das Wachstum von Knochenmark in vitro. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **53**. 1912. — <sup>31)</sup> *Haga*, Über das Auftreten von Fett und Mychin in Geschwülsten. Berl. klin. Wochenschr. **49**. 1912. — <sup>32)</sup> *Hattori, T.*, Über die interstitielle Verfettung. Zeitschr. f. Med. Hokkaiyetsu **32**. 1921. — <sup>33)</sup> *Hattori, T.*, Über das Pigment im Zentralnervensystem. Zeitschr. f. Med. Mitt. Fakultät Nippon. — <sup>34)</sup> *Holthusen*, Über den histologischen Nachweis verschiedener Fettarten mit Rücksicht auf das Verhalten des Fettes in den Lymphknoten. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **34**. 1912. — <sup>35)</sup> *Hueck*, Pigmentstudien. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **54**. 1912. — <sup>36)</sup> *Ishihara, M.*, Über das Lipoidpigment der Prostatadrüsen. Folia Urolog. **9**. 1915. — <sup>37)</sup> *Katsuma, H.*, Über den Einfluß des Thymus resp. dessen Extrakt auf das Knochenwachstum, untersucht mit Hilfe von Gewebekulturen und Exstirpationsversuch. Mitt. d. med. Fakultät Tokio 1921, Nr. 29—30. — <sup>38)</sup> *Kawamura, R.*, Cholesterinverfettung. Jena 1911. — <sup>39)</sup> *Kawamura, R.*, Über Lipoid beim Menschen und Tiere. (Morphologische und mikrochemische Untersuchungen.) Zeitschr. f. Med. Nippon. — <sup>40)</sup> *Kyiono*, Über die Veränderungen der Muskel von Extremitäten bei Kakkekrankheit. Zeitschr. f. Med. Tokio. — <sup>41)</sup> *Kleeberg*, Untersuchungen über den Fettstoffwechsel der Zelle. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **244**. 1923. — <sup>42)</sup> *Kinoshita, M.*, Die Lipoide der Prostata. Zeitschr. f. Urol. **14**. 1920. — <sup>43)</sup> *Kronpecher*, Vergleichende biologisch-morphologische Zellstudien betreffend die Fibroblasten und Makrophagen des menschlichen Granulationsgewebes. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **56**. 1913. — <sup>44)</sup> *Krontowski, A.* und *L. Poleff*, Über das Auftreten von lipoiden Substanzen in den Gewebekulturen und bei der Autolyse der entsprechenden Gewebe. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **217**. 1921. — <sup>45)</sup> *Lambert* und *Hanes*, Beobachtungen an Gewebekulturen in vitro. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **211**. 1913. — <sup>46)</sup> *Lange, F.*, Untersuchungen über das Epithel der Lungenalveolen. Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **170**. 1909. — <sup>47)</sup> *Lewis, W. H.* und *M. R. Lewis*, Behavior of cells in tissue cultures. Sektion III General Cytologie 1924. — <sup>48)</sup> *Lubarsch*, Zur Kenntnis der im Gehirngang vorkommenden Farbstoffablagerungen. Berl. klin. Wochenschr. **10**. 1917. — <sup>49)</sup> *Lubarsch*, Zur Kenntnis der Makrophagen. (Retikuloendotheliensystems). Berichte d. Dtsch. Pathol. Ges. 1921. — <sup>50)</sup> *Lubarsch*, Über Phagocytose und Phagocyten. Klin. Wochenschr. 1925. — <sup>51)</sup> *Lubarsch*, Über das sogenannte Lipofuscin. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **239**. 1923. — <sup>52)</sup> *Marschand*, Über eigentümliche Pigmentkristalle in der Lunge. Verhandl. d. Dtsch. Ges. f. Pathol. **129**. 1909. — <sup>53)</sup> *Matsumoto, A.*, Contribution of the study of epithelial movement. Univ. Imp. in Kioto 1922. — <sup>54)</sup> *Michler, J. W.*, Rückbildung des

Corpus luteum. Arch. f. Gynäkol. **91**. 1910. — <sup>55)</sup> *Mitsuda, T.*, Über die Beziehungen zwischen Epithel und Bindegewebe bei Transplantation und Explantation. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **242**. 1923. — <sup>56)</sup> *Nakanoin*, Künstliche Cholesteantanase und ihre Vitalfärbung bei den Tieren. Mitt. med. Zeitschr. Tokio **17**. 1917. — <sup>57)</sup> *Nasù*, Beiträge zur Frage der Überlebensfähigkeit der Gewebe. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **243**. 1923. — <sup>58)</sup> *Namba, K.*, Zur Frage über die elastischen Fasern und das Pigment in den Samenblasen des Menschen. Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **8**. 1911. — <sup>59)</sup> *Oberdorfer*, Die pathologischen Pigmente. Lubarsch-Ostertag, Ergebni. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1921. — <sup>60)</sup> *Oswiski, H. E.*, Über aktive Zellbewegungen im Explantat von Wirbeltierembryonen. Zeitschr. f. wiss. Biol., Abt. D: Wilh. Roux' Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organisma. **38**. 1914. — <sup>61)</sup> *Posner, H. L.*, Prostatalipoide und ihre Pigmente. Zeitschr. f. Urol. **5**. 1911. — <sup>62)</sup> *Quincke*, Über die periodische Ausbreitung von Flüssigkeitsoberflächen und dadurch hervorgerufene Bewegungserscheinungen. Sitzungsber. d. Kgl. preuß. Akad. d. Wiss. 1888. — <sup>63)</sup> *Rabe*, Experimentelle Untersuchungen über den Gehalt des Knorpels an Fett und Glykogen. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **48**. 1916. — <sup>64)</sup> *Sehrt, E.*, Über das Vorkommen einer doppeltlichtbrechenden Substanz als normaler Bestandteil der Prostataepithelzellen des Menschen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **214**. 1913. — <sup>65)</sup> *Smith, D. T.*, Melaninpigment in the pigment epithelien of the Retina of the embryo chick eye studied in vitro and in vivo. Proc. of the nat. acad. of sciences (U.S.A.) **18**. 1920. — <sup>66)</sup> *Schmorl*, Untersuchungsmethode. 1924. — <sup>67)</sup> *Schultze, W. H.*, Über das Vorkommen von Myelin im gesunden und kranken Organismus. Lubarsch-Ostertag, Ergebni. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **13**, 11. — <sup>68)</sup> *Suchaneck, H.*, Beiträge zur feineren normalen Anatomie des Menschengeruchsorgans. Arch. f. mikroskop. Anat. **36**. 1890. — <sup>69)</sup> *Tawara*, Über die Arteriosklerose. Zeitschr. f. Med. Tokio **21**. 1917. — <sup>70)</sup> *Wacker und Hueck*, Chemische und morphologische Untersuchungen über die Bedeutung des Cholesterinorganismus. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **74**. 1913.

---