

(Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Staatsuniversität Aserbaidjan zu Baku. — Direktor Prof. *J. Schirokogoroff*.)

Über experimentelle Lebercirrhose.

Von

Dr. med. **G. Leitmann.**

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1926.)

Die Cirrhose der Leber ist seit Zeiten Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Diese Frage wurde auf klinische, pathologisch-anatomische und experimentelle Art studiert. Besonders wertvoll ist die letzte Methode, denn durch sie will man die Ätiologie des Prozesses feststellen.

Die Stoffe, welche als ätiologisches Moment der Lebercirrhose in den Experimenten herangezogen wurden, waren ganz verschieden, hauptsächlich handelte es sich aber um: Alkohol, toxische Substanzen des Darmes, Cholesterin, Bakterien und deren Toxine, Chloroform, Äther, Phosphor, Arsenik, Hydrazin, Phenylhydrazin und andere. Unsere Versuche mittels Erdölteeren, die in Toluol gelöst waren, ergänzen dieses Arsenal noch um ein Mittel.

Das Thema meiner Arbeit verdanke ich Herrn Professor *J. Schirokogoroff* (Dezember 1923).

Im Oktober 1922 stellte *Schirokogoroff* Versuche an, um bei Kaninchen experimentellen Hautkrebs hervorzurufen (nach *Yamagiva* und *Ishikawa*) und bestrich die Ohrmuscheln mit einer Lösung von Erdölteeren in Toluol. Die Ergebnisse waren aber ganz unerwartet, denn nicht an der Haut, wo der Versuch negativ ausfiel, sondern in der Leber konnten Veränderungen nachgewiesen werden. Eine Mitteilung darüber, welche *Schirokogoroff* auf der Ersten Allrussischen Pathologentagung machte, erschien auch in den Verhandlungen dieser Tagung (Moskau 1924).

In unseren Versuchen wurde eine Lösung der Erdölteere in Toluol im Verhältnis von 2 : 1 verwendet. Die Lösung hatte eine Sirupkonsistenz. Über den Chemismus der Erdölteere ist uns nur bekannt, daß sie hochmolekuläre ungesättigte Sauerstoff- und Schwefelverbindungen darstellen, deren Siedepunkt 300° beträgt. Mit solch einer Lösung wurde jeden 2. Tag die innere Oberfläche der Ohrmuscheln bestrichen. Nach wiederholter Bestreichung ließ sich folgendes feststellen: die Ohrmuscheln

wurden pergamentartig, sehr empfindlich gegen Betastung, die Epidermis häutete sich ab, die Haare fielen aus. Nachdem 2—3 Wochen vom Anfange des Versuches verlaufen waren, stellte sich auch Gewichtsverlust ein.

Zum Versuch wurden junge, wie auch erwachsene Kaninchen herangezogen. Ein Teil der Tiere wurde mittels Luftembolie getötet, die anderen gingen selbst zugrunde. Den Versuchen wurden 10 Tiere unterworfen. Je nach der Dauer des Experimentes lassen sich die Ergebnisse in 2 Gruppen teilen. An den Tieren der 1. Gruppe wurde 1—2 Monate, an denen der 2. 3—4 Monate experimentiert. Allen Tieren gemeinsam war ein bedeutender Verlust an Gewicht, Verlust an der Zahl der Erythrocyten und Hämoglobin. Nach den Versuchen der 1. Gruppe (7 Tiere) war die Leber stets verkleinert (ausgenommen Fall 1, wo die Leber vergrößert war). Die Oberfläche der Leber erwies sich als kleingranulär, das Gewebe selbst fest und beim Schneiden knirschend. Der Leberrand war immer sehr dünn. Auf der Schnittfläche waren buntrote Abschnitte in Mischung mit solchen, die gelb gefärbt waren, vertreten. Das histologische Bild zeigte stets stark ausgeprägte degenerative Veränderungen der Leberzellen und eine gleichzeitige Wucherung des Bindegewebes.

Bei einer allgemeinen Durchmusterung der Leberpräparate (Zeiß Obj. B. Okular 3) fällt die Bindegewebswucherung schon ins Auge. Stellenweise ist jede Leberzelle oder kleine Gruppen derselben von Bindegewebe umflochten. Besonders stark ist die Wucherung des interlobulären Bindegewebes. Die Kapsel ist stellenweise verdickt und strangartig in das Leberparenchym hereingewachsen; in den Knoten dieser Stränge liegen die stark veränderten Leberzellen. Die Lagerung der Zellen in den Lobuli hat ihren normalen Charakter eingebüßt. Die Zahl der Zentralvenen ist verringert und deren exzentrische Lage springt ganz besonders ins Auge. Die Leberzellen offenbaren eine Veränderung ihrer normalen Größe: Bald hat man es mit deren Vergrößerung zu tun, bald mit deren Verkleinerung. Gleichzeitig sind die Leberzellen nie gleichmäßig gefärbt: einige stärker, die anderen schwächer. Die Zellgrenzen können dermaßen verwischt sein, daß das Bild eines Syncytiums vorgetäuscht wird. Stark treten Vakuolen verschiedener Größe hervor, die dem Lebergewebe ein netzartiges Bild verleihen.

Bei stärkerer Vergrößerung (Zeiss Obj. D, Okular 3) sieht man im Bindegewebe Zellen mit einem ovalen Kern und kollagene Fasern, die sich nach *van Gieson* stark rot färben. Interlobulär sind stark gedehnte dünnwandige Gefäße vertreten, die mit normalen Erythrocyten und einer homogenen Masse gefüllt sind. Die Wandung der Zentralvenen ist verdickt. Die Gallengänge sind stellenweise erweitert und ihre Wandung ausgebuchtet, oder sie sind zusammengedrückt und von Gallenpföpfen geschlossen. An den Stellen der stärksten Bindegewebswucherung kann man eine Vermehrung der Gallengänge feststellen. An einigen Orten erkennt man auch eine Wucherung des Endothels der Capillaren. Das Protoplasma der meisten Leberzellen befindet sich im Zustande einer eigenartigen Homogenisation. In einigen Zellen erscheint das Protoplasma mit einer feinen Netzstruktur. In Abhängigkeit von der Größe der Netzmaschen ist das Protoplasma mehr oder weniger durchsichtig. Die Vakuolen werden von den Leberzellen selbst gebildet, von deren Protoplasma entweder nur eine dünne periphere Schicht

zurückgeblieben ist, oder nur dünne Lamellen zwischen kleineren Vakuolen. Man sieht im Protoplasma homogene Massen in Tropfenform von verschiedener Größe, die sich stärker färben als das übrige Protoplasma; es sind entweder mehrere kleine Tröpfchen vorhanden, oder nur ein einziger großer, der ein Drittel des Zellenvolumens einnehmen kann.

An verschiedenen Stellen des Präparates lassen sich folgende Veränderungen dieser homogenen Tropfen wahrnehmen: Die periphere Zone der Tropfen erscheint klarer, oder ausgefressen, wiederum können im Inneren der Tropfen Vakuolen auftreten, so daß von der Tropfensubstanz nur dünne Lamellen zwischen diesen zurückbleiben; oft scheint der Vakuolenbildung eine schwächere Färbbarkeit der zentralen Tropfenteile voranzuschreiten. In den Leberzellen sind oft Körnchen eines gelbbraunen Pigments zu beobachten, dessen ballförmige Anhäufungen an Stellen der stärksten Bindegewebswucherung anzutreffen sind. Viele Zellen besitzen 2—3 Kerne, in den 1—3 stark färbbare Nucleolen sein können. Die Zellen können einzeln und gruppenweise ihren Kern im Karyolysenzustande vorweisen. Auch findet man pyknotische Kerne vor, neben welchen auch kernlose Zellen vorzufinden sind. In vielen Kernen sind mehrere Vakuolen vorhanden, die den Nucleolus an die Kernperipherie rücken und dem Kern ein ringförmiges Aussehen verleihen (Abb. 1).

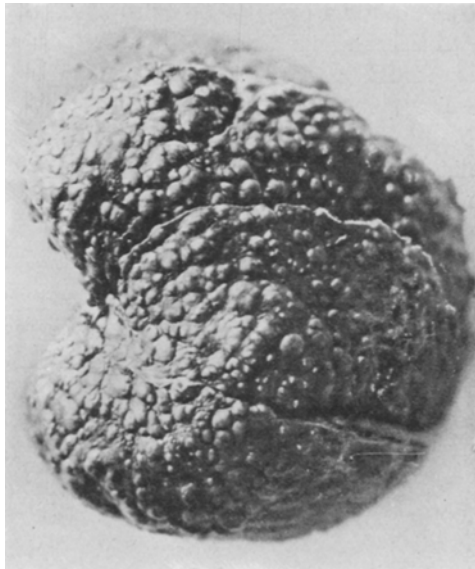


Abb. 1.

Gefrierschnitte, die mit Scharlach behandelt sind, zeigen die Leberzellen, wie in den zentralen, so auch in den peripheren Teilen des Präparates stark gefärbt, wobei die ganze Zelle oder nur ein Teil derselben gefärbt ist. Bei stärkerer Vergrößerung erweist sich die rot gefärbte Masse aus kleinsten Körnchen bestehend, welche bald die ganze Zelle einnehmen können oder nur in einem Abschnitte derselben anzutreffen sind, wobei sie sich hauptsächlich um den Zellkern gruppieren. Die Zellen mit Vakuolen lassen keine Reaktion auf Fett erkennen. Fett findet sich ab und zu im Protoplasma an der Peripherie der Vakuolen vor. In polarisiertem Licht untersucht, erweisen sich die oben erwähnten Körnchen nicht als doppelbrechend. Präparate, die nach *Altmanns* Plasmosomenmethode zubereitet sind, lassen folgende Schlüsse ziehen. In unveränderten Leberzellen sind die Plasmosomen von gleicher Größe durch das ganze Protoplasma zerstreut, sich hauptsächlich um den Kern konzentrierend. In den vergrößerten Zellen mit homogenisiertem Protoplasma sind die Plasmosomen von ganz verschiedener Größe, und ihre Verteilung ist keine gleichmäßige. In den stark vakuolisierten Zellen sind keine Plasmosomen vorhanden. Ebenfalls werden letztere in den oben beschriebenen homogenen Tropfen vermißt. In wenigen stark vakuolisierten Zellen lassen sich Plasmosomen in dem die Vakuolen umgebenden Protoplasma und in den Zwischenwänden zwischen

den Vakuolen antreffen. Nach Anwendung des Perls'schen Verfahrens läßt sich Eisen in Form einer diffusen Färbung einiger Leberzellen mit homogenisiertem Protoplasma oder als kleine Körnchen darstellen.

Die Veränderungen in anderen Organen sind folgende: Die Milz ist in allen Fällen (mit Ausnahme des Falles 1) stark vergrößert, besonders im Fall 8. Mikroskopisch lassen sich eine Verdickung der Kapsel und Trabekel, Hyperplasie des retikulo-endothelialen Apparates, Hypoplasie der Follikel und Hyperämie nachweisen. Eisen findet sich in den endothelialen Zellen und den Histiocyten, welche letztere sich in erweiterten venösen Sinus bald sehr spärlich, bald in großer Zahl antreffen lassen. In der Milz des Falles 1 war kein Eisen vorhanden. In den Nieren liegt trübe Schwellung und Hyperämie vor. Im Knochenmark ließen sich Spuren von Eisen in den endothelialen Zellen nachweisen. Im Falle 7 handelte es sich um Ascites.

Die Versuche der 2. Gruppe (Behandlung im Laufe von 3—4 Monaten) ließen folgendes feststellen: Im Fall 2 war die Leber verkleinert, in den Fällen 9 u. 10 vergrößert. In allen diesen 3 Fällen war die Leberoberfläche höckerig (Abb. 1). Der Leberrand ist dünn. Auf der Oberfläche lassen sich Knoten wahrnehmen, welche sich oft, besonders in der Nähe des Randes abschnüren und mit der übrigen Masse der Leber nur mittels dünner Füßchen verbunden bleiben. Außerdem sind an der Leberoberfläche narbenartige Einschnürungen zu beobachten. Beim Schneiden knirscht das Lebergewebe. An der Schnittoberfläche sieht man graue Knoten verschiedener Größe, die durch weiße Ringe abgegrenzt sind.

Die *histologische* Untersuchung weist neben den degenerativen Veränderungen der Leberzellen und Wucherung des Bindegewebes eine klar auftretende Regeneration des Lebergewebes auf, was eine starke Veränderung der Leberstruktur verursacht. Der lobuläre Bau wie auch die zentralen Venen sind gar nicht nachzuweisen (Zeiß, Obj. B, Okular 3). Dort, wo die zentralen Venen noch vorhanden sind, liegen sie exzentrisch, und ihre Wandung ist verdickt. Das Präparat besteht aus Pseudolobuli, die voneinander durch Bindegewebsringe abgegrenzt sind (Abb. 2). Die Färbbarkeit dieser Pseudolobuli ist verschieden: Einige von ihnen sind schwächer, die anderen stärker gefärbt. In den Bindegewebssträngen, die diese Lobuli umschließen, liegen gruppenweise Zellen, die sich von denen der Pseudolobuli durch ihre Größe und homogenisiertes Protoplasma unterscheiden. Stellenweise dringt das Bindegewebe in die Pseudolobuli selbst ein. In den stärksten Wucherungsherden des Bindegewebes ist eine bedeutende Vermehrung der Gallengänge zu beobachten. Im Fall 10 sind unbedeutende nekrotische Abschnitte im peripherischen Teile des Präparates zu sehen.

Bei stärkerer Vergrößerung (Zeiß, Obj. D, Okular 3) sieht man, daß die Zellen der Pseudolobuli eine vieleckige Form haben und von verschiedener Größe sind, die einen von normaler, die anderen von verkleinerter. Ihr Protoplasma ist feinkörnig. In der Mehrzahl der Zellen sind 2 helle Kerne vorhanden, in denen 1 bis 2 Nucleolen liegen. Im Protoplasma einiger Zellen treten homogene Tropfen von verschiedener Größe, wie sie oben beschrieben sind, scharf hervor. In den Pseudolobuli, die sich stärker färben, sind die Zellen bedeutend kleiner, und ihre Ober-

fläche ist uneben. In deren Protoplasma sind verschieden große Vakuolen zu beobachten. Viele Zellen sind der Karyolysis verfallen. An der Peripherie mancher Pseudolobuli entdeckt man hellere Zellen mit einem feinkörnigen Protoplasma. Außerdem treten begrenzte Bezirke hervor, die aus „großen runden hellen Zellen“ mit grobkörnigem Protoplasma bestehen. Die Grenzen zwischen diesen Zellen sind scharf ausgeprägt. Solchen Zellen begegnet man auch an der Peripherie der Pseudolobuli. Diese erwähnten Zellen entsprechen den „großen runden hellen Zellen“ *Adlers*. An mit Scharlach gefärbten Präparaten sieht man, daß Fett in den Pseudolobuli und in den „großen runden hellen Zellen“ fehlt. In den Zellen

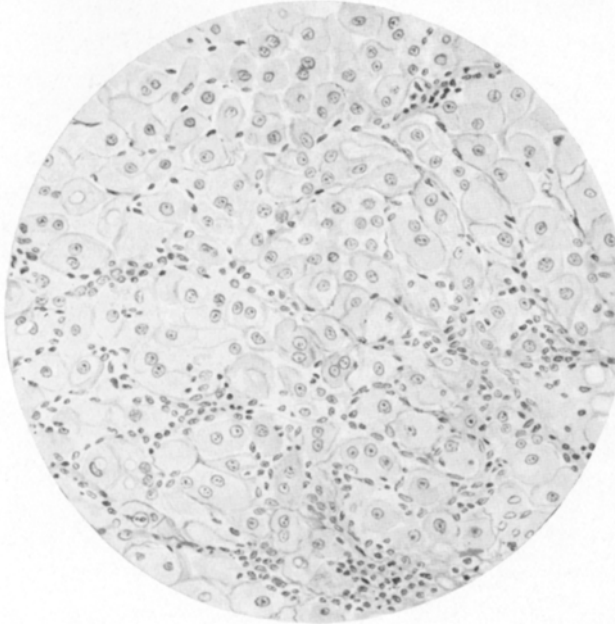


Abb. 2. Leberzellen oder kleine Gruppen derselben von Bindegewebe umflochten. Die Zellen des letzten sind hauptsächlich Endothelzellen. van Gieson. Zeiss. Oc. 3, Obj. D.

mit homogenisiertem Protoplasma treten kleine durch Scharlach rotgefärbte Körnchen hervor (Abb. 3). Die Plasmosomen sind in den Zellen der Pseudolobuli groß und erfüllen die ganze Zelle, sich hauptsächlich um den Kern herum konzentrierend. In den Zellen mit vergrößertem Volumen und homogenisiertem Protoplasma sind die Plasmosomen klein, ungleichmäßig, oft staubartig im Protoplasma verteilt. In den homogenen Tropfen fehlen die Plasmosomen ganz. In den „großen runden hellen Zellen“ sind die Plasmosomen klein und gleichmäßig im Protoplasma verteilt (Abb. 4). In den Zellen mit homogenisiertem Protoplasma muß man die Anwesenheit von viel Eisen anmerken, das bald diffus, bald feinkörnig im Protoplasma verteilt ist (Abb. 5).

Was die Veränderung anderer Organe in der 2. Reihe unserer Versuche anlangt, so läßt sich darüber folgendes mitteilen. Ascites in allen 3 Fällen (bis 75 ccm); die Milz im Fall 2 verkleinert, im Fall 9 und 10 stark vergrößert, deren Kapseln und Trabekel verdickt, die

Follikel verringert, Hyperplasie des retikulo-endothelialen Apparates und Hyperämie. In den Pulpazellen, endothelialen Zellen und Histio-cyten läßt sich ein gelbbraunes eisenhaltiges Pigment beobachten. In den Nieren trübe Schwellung und Hyperämie. In den Fällen 2 und 9 ließ sich im aufsteigenden Teile der Aorta die Anwesenheit kleiner sklerotischer Plättchen feststellen.

Im Knochenmark ist das Bild einer Hyperämie vorhanden. Eisen ist in bedeutender Menge in Körnchenform in den endothelialen Zellen

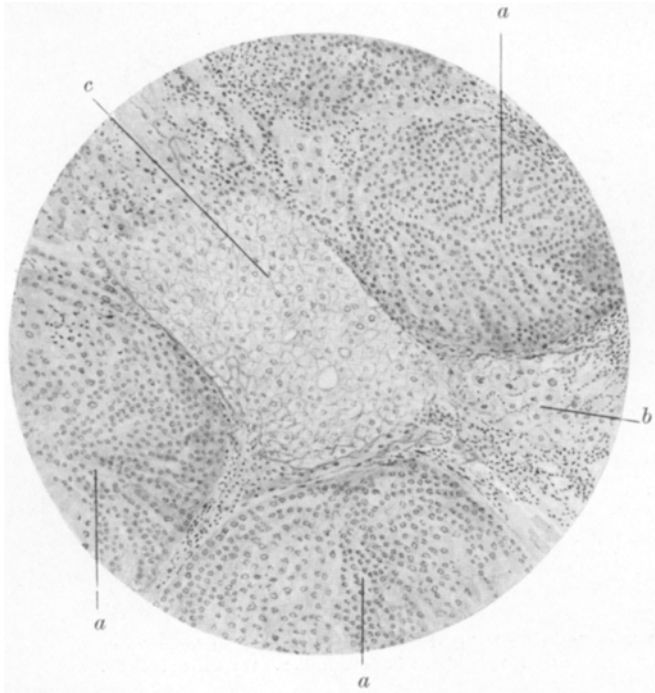


Abb. 3. *a* = Pseudolobuli, die voneinander durch Bindegewebsringe abgegrenzt sind; *b* = Gruppen von Leberzellen, die sich von denen der Pseudolobuli durch ihre Größe und homogenisiertes Protoplasma unterscheiden; *c* = eine Gruppe von großen runden hellen Leberzellen.
van Gieson. Zeiss. Obj. B, Oc. 8.

und extracellulär vorhanden. Nur selten begegnet man unbedeutenden Rundzellenansammlungen. Das Lumen der Blutgefäße und der Lymphspalten ist stark erweitert.

Am Anwendungsorte der Erdölteere war keine atypische Wucherung des Epithels festzustellen. Nur stellenweise konnte man eine geringe Rundzellenansammlung und Erweiterung der Blutgefäße und Lymphspalten beobachten.

Die Ergebnisse der 1. und 2. Serie zusammenstellend, sieht man, daß man je nach der Dauer des Versuches zu verschiedenen Resultaten

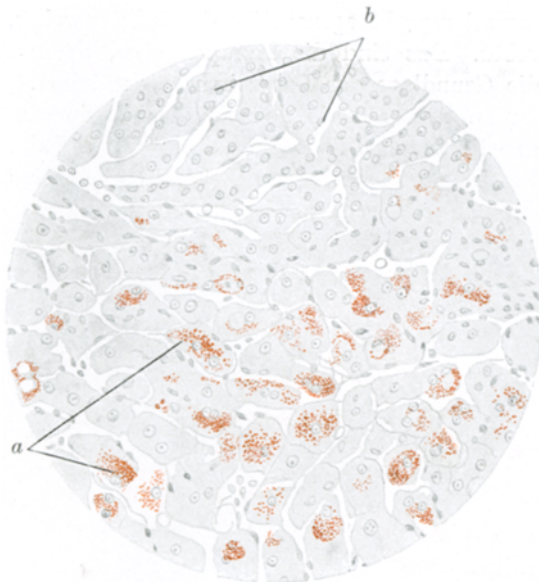


Abb. 4. *a* = Fett in den Leberzellen mit homogenisiertem Protoplasma; *b* = in den Zellen der Pseudolobuli ist kein Fett vorhanden. Scharlach-Hämatoxylin. Zeiss. Obj. D, Oc. 3.

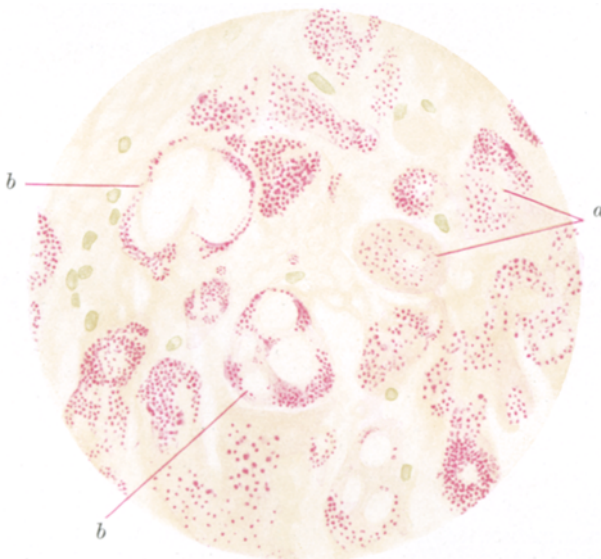


Abb. 5. *a* = Plasmosomen in Leberzellen mit homogenisiertem Protoplasma; *b* = Plasmosomen in den vakuolisierten Leberzellen. Färbung nach Altmann. Zeiss. Obj. $\frac{1}{12}$, Oc. 3.

gelangt: Degeneration und Regeneration des Lebergewebes, Wucherung des Bindegewebes. Das sind die Komponenten, deren Anwesenheit nach *Koretz* die Grundlage der Lebercirrhose darstellen.

Vergleicht man unsere Befunde mit denen, die die atrophische Lebercirrhose bestimmen, so liegt die Vermutung auf der Hand, daß die von uns erzielte experimentelle Lebercirrhose der atrophischen Cirrhose des Menschen nahestehe. Die Vergrößerung der Leber in Fällen 9 und 10 bei stark ausgedrückter höckeriger Oberfläche läßt sich durch eintretende erhöhte Regeneration des Leberparenchyms erklären.

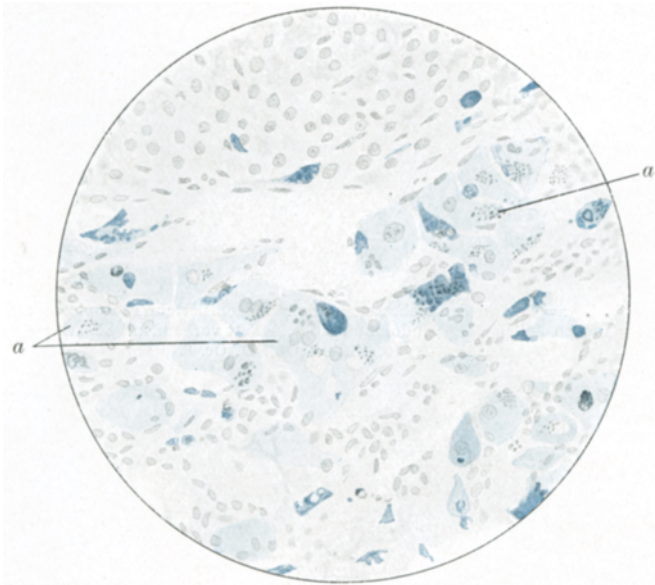


Abb. 6. *a* = Eisen in den Leberzellen mit homogenisiertem Protoplasma.
Berliner Blaureaktion. Zeiss. Obj. D, Oc. 3.

Da zum Versuch eine Mischung von Toluol und Erdölteeren verwendet wurde, so ist es klar, daß sich die Frage über die Bedeutung dieser Komponente, allein gebraucht, aufrollt. Deshalb wurden Vergleichsversuche mit Toluol angestellt. Nach Benetzung der Haut der Ohrmuschel mit Toluol im Laufe eines Monats wurden keine Veränderungen in der Leber registriert, nach 2 monatiger Behandlung kann man eine geringe interlobulöse Bindegewebswucherung und kleine Herde rundzelliger Infiltration wahrnehmen. Das Protoplasma einiger Leberzellen war homogenisiert, und in anderen waren Vakuolen vorhanden. Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem durch eine Mischung von Toluol mit Erdölteeren erhaltenen, so kommt man zu dem Ergebnis, daß das histologische Bild in beiden Fällen ganz verschieden

ist. Besondere Untersuchungen über die Wirkung des Toluols auf die Leber werden fortgeführt.

Zusammenfassung.

1. Bei lokaler Anwendung von in Toluol gelösten Erdölteeren, in Form einer Hautbestreichung, lassen sich grundgreifende Veränderungen in der Leber erzielen.
2. Eine atypische Wucherung des Epithels am Anwendungsorte der in Toluol gelösten Erdölteere ist nie beobachtet worden.
3. Das Alter der Tiere spielt für die Ergebnisse des Experiments keine Rolle.
4. Die mikroskopischen Veränderungen in der Leber bei experimenteller Cirrhose sind: Degeneration der Leberzellen, Wucherung des Bindegewebes und Regeneration des Leberparenchyms.
5. Der Schwerpunkt des cirrhotischen Prozesses liegt in der Strukturveränderung der Leber.
6. Die jüngsten Zellen in den Regenerationsknoten (Pseudolobuli) sind *Adlers* „große runde helle“ Zellen.
7. Eine der Grundursachen des Ascites bei Lebercirrhose, ist die Veränderung des Capillarnetzes in den Pseudolobuli.
8. Eisen ist nur in den kranken Leberzellen enthalten.
9. Das Plasmosomenbild läßt Urteile über die Veränderungen im Protoplasma ziehen.
10. Die Wucherung der Gallengänge findet bei der Lebercirrhose an den Stellen der stärksten Bindegewebswucherung statt.
11. Die von uns experimentell, durch Anwendung von in Toluol gelösten Erdölteeren, erzielte Lebercirrhose steht der atrophischen Cirrhose der Leber des Menschen nahe.
12. Die Veränderungen in anderen Organen sind: Hyperplasie der Milz, trübe Schwellung des Epithels der Nierenkanälchen und ein arteriosklerotischer Prozeß im aufsteigenden Teile der Aorta.

Am Schlusse dieser Mitteilung ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor *J. Schirokogoroff*, dem ich das Thema verdanke und der mit Rat und Tat bei der Ausführung dieser Arbeit mir zur Seite stand, meinen besten Dank auszusprechen.
