

(Aus dem Institut „Robert Koch“, Berlin.)

## Zur experimentellen Lipoidspeicherung<sup>1</sup>.

I. Mitteilung.

Von

Dr. I. Magat.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Oktober 1927.)

Prophylaktische und therapeutische Versuche an tuberkulösen Meer-schweinchen mit Helpin — einer von *Magat* hergestellten Lecithin-emulsion — gaben Veranlassung, der Speicherung dieses Phosphatides in den Organen der Versuchstiere nachzugehen und das Verhalten der infizierten Tiere gegenüber gesunden zu prüfen.

Zum Nachweis des gespeicherten Lecithins im histologischen Schnittpräparat wurde die Ciaccio-Methode gewählt. Bekanntlich ist zur Zeit die Erörterung über die Brauchbarkeit der histochemischen Methoden für die Fettstoffe sehr lebhaft; so wird sie u. a. von *Kaufmann* und *Lehmann* weitgehend bestritten, während andere, z. B. *Wolff* und *Frankenthal* sowie *Hoffheinz*, unter bestimmten Voraussetzungen an ihr festhalten. Unsere Versuche haben den Vorteil, daß chemisch bekannte Stoffe zugeführt und nach ihrer Speicherung in den Zellen aufgesucht werden. Ergeben sich nach der Speicherung im Schnittpräparat die gleichen histochemischen Reaktionen, wie sie dem Stoff an sich zukommen — hat demnach durch die Aufnahme in die Zellen keine wesentliche Veränderung stattgefunden —, so scheint damit die Verwendbarkeit der Methode erwiesen. Dies war in unseren Versuchen tatsächlich der Fall; wie aus den gleich zu schildernden Versuchen hervorgeht, gelang ausschließlich mit der Ciaccio-Methode die Auffindung des einverleibten Lecithins, während die anderen Methoden keine Lipoide zur Darstellung brachten. Daß es sich auch tatsächlich um die einverleibten Fettstoffe handelt, geht aus dem Vergleich mit Kontrolltieren einwandfrei hervor.

Das von uns zu diesem Zwecke benutzte Helpin ist auf Grund folgender Erwägungen aufgebaut: Eine aus Eigelb hergestellte Lecithin-Glycerinemulsion in

---

<sup>1</sup> Vortrag in der Berliner Gesellschaft für pathologische Anatomie und vergleichende Anatomie, den 31. März 1927.

genau bestimmter Dosierung mit durch Zugabe eines Elektrolytensystems aus  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in kleinsten äquilibrierten Mengen bestimmter stabiler Oberflächenspannung und Dispersität.

Meerschweinchen vertragen subcutan (= sc) und intraperitoneal (= ip) auch mehrfach eingespritzte Mengen bis zu 5 g Helpin auf die Einspritzung ohne Auftreten örtlicher Reizungserscheinungen oder irgendwelcher Allgemeinschädigungen. Wie die folgenden Tabellen zeigen, gelang es durch 1—2 Monate hindurch ein um den anderen Tag erfolgende Einspritzungen, den Tieren bis zu 11 g Lecithin zu verabfolgen.

#### Die Versuche.

Eine Reihe gesunder Meerschweinchen erhielt jeden 2. Tag 3 g Helpin ip. Eine gleiche Zahl von Tieren gleichen Gewichtes und gleicher Rasse wurde zum Vergleich eingestellt. Nach 3 Wochen wurde mit der Tötung der Tiere begonnen — gestorbene Tiere wurden nicht verwendet —, und zwar wurde stets ein Helpin-Tier zusammen mit einem Vergleichstier getötet. Eine 2. Reihe von Meerschweinchen wurde mit Tuberkelbacillen infiziert ( $\frac{1}{1000000}$  mg Rindertuberkelbacillen, Stamm G. A.) und ein Teil von ihnen prophylaktisch und therapeutisch mit Helpin behandelt. Die Tötung dieser Tiere geschah in gleicher Weise wie oben. Auch bei den Bearbeitungen der Schnitte wurden immer die Organe eines Helpin-Tieres zusammen mit denen eines Vergleichstieres gefärbt.

Tabelle 1. *Lecithin-(Helpin-)Speicherung in der Milz.*

Nr. der Meerschw.		Zahl der Helpin-injektionen	Verabfolgte Lecithin-menge in g	Sektionsbefund	Histochemischer Befund				
					Smith-Dietrich	Fischer	Scharlach	Claccio	
813	Nicht infiziert	Vergleichstiere	.	.	—	—	—	—	.
814	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
815	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
816	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
817	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
819	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
820	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
821	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
822	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
803	desgl.	9 × 3 g ip.	2,7	Ohne Befund	—	—	—	+++	.
804	desgl.	10 × 3 g ip.	3,0	desgl.	—	—	—	++++	.
805	desgl.	12 × 3 g ip.	3,6	desgl.	—	—	—	++++	.
806	desgl.	14 × 3 g ip.	4,2	desgl.	—	—	—	+++	.
807	desgl.	11 × 3 g ip.	3,3	desgl.	—	—	—	++++	.
808	desgl.	7 × 3 g ip.	2,1	desgl.	—	—	—	+++	.
809	desgl.	20 × 3 g ip.	6,0	desgl.	—	—	—	++++	.
810	desgl.	16 × 3 g ip.	4,8	desgl.	—	—	—	+++	.
812	desgl.	20 × 3 g ip.	6,0	desgl.	—	—	—	+++	.
1546	Infiziert mit $\frac{1}{1000000}$ mg bovine Tuberkelbacillen	10 × 3; 8 × 1; 8 × 5 g ip.	7,8	Milz geschwoll.	—	—	—	++++	Lymphknot. Tuberkulose
1522		13 × 0,4; 18 × 1,5 g ip.	3,2	Milz 4 × N tub. Herde	—	—	—	+	
1553		11 × 3; 15 × 5 g ip.	10,8	1 $\frac{1}{2}$ × N geschw.	—	—	—	+	

— negativ; (+) mit Ölimmersion nachweisbar; + wenig; ++ mäßig; +++ viel; ++++ sehr viel.

Histologisch verarbeitet wurden Milz, Leber, Lunge und Nebennieren, die den getöteten Tieren sofort entnommen wurden, um das Auftreten einer Autolyse zu vermeiden. Die Färbungen wurden nach den Methoden von *Ciaccio*, *Fischler*, *Smith-Dietrich* sowie mit Nilblau und Scharlach-Hämalaun vorgenommen.

Von den untersuchten Organen zeigten nun eine wesentliche Lecithinspeicherung Milz, Lunge und Leber, und zwar in beiden Versuchsreihen. Der Lecithingehalt der Nebennieren war sowohl bei den Versuchstieren als auch bei Helpin- und Tuberkulose-Tieren individuell so schwankend, daß wir diese Organe außer Betracht ließen.

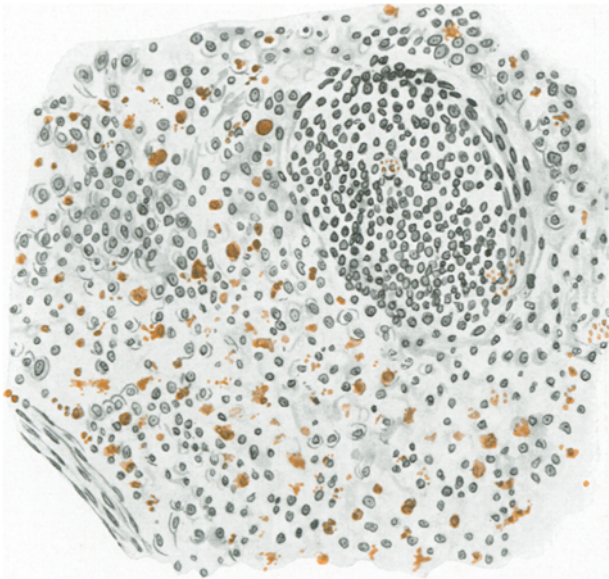


Abb. 1. Milz; Meerschweinchen Nr. 808; 9×3 ip. Helpin = 2,7 Lecithin.

Tab. 1 zeigt, daß in der *Milz* sämtlicher Versuchstiere keine Stoffe vorhanden sind, die nach *Smith-Dietrich*, *Fischler* oder *Scharlach* darstellbar sind. Dagegen weisen die *Ciaccio*-Präparate sowohl der nicht infizierten wie auch der infizierten Helpin-Tiere eine deutliche Speicherung orangerot gefärbter, verschieden großer, teils kugelförmig, teils etwas unregelmäßig gestalteter Stoffe in den Reticulumzellen der Pulpa, vereinzelt auch in denen der Malpighischen Körperchen auf. Von den Tuberkulosetieren besitzt eines (Nr. 1222) einige miliare Milztuberkel, die anderen zeigen lediglich eine Blutüberfüllung. Die nicht mit Helpin gespritzten und nicht infizierten Tiere besitzen keine *Ciaccio*-positiven Stoffe in der Milz, während die Tuberkulosetiere ohne Helpinbehandlung vereinzelt *Ciaccio*-positive Lipide in Reticulumzellen aufweisen können (auf der Platte nicht vermerkt).

Tabelle 2. *Lecithin-(Helpin-)Speicherung in der Lunge.*

Nr. der Meerschw.		Zahl der Helpin-injektionen	Verabfolgte Lecithinmenge in g	Sektionsbefund	Histochemischer Befund				
					Smith-Dietrich	Fischer	Scharlach	Ciaccio	
813	Nicht infiziert	Vergleichstiere	.	.	—	—	—		.
814	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
815	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
816	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
817	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
819	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
820	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
821	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
822	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—		.
803	desgl.	9×3 g ip.	2,7	Ohne Befund	—	—	—	(—)	.
804	desgl.	10×3 g ip.	3,0	desgl.	—	—	—	(+)	.
805	desgl.	12×3 g ip.	3,6	desgl.	—	—	—	(+)	.
806	desgl.	14×3 g ip.	4,2	desgl.	—	—	—	(+)	.
807	desgl.	11×3 g ip.	3,3	desgl.	—	—	—	(+)	.
808	desgl.	7×3 g ip.	2,1	desgl.	—	—	—	(+)	.
809*	desgl.	20×3 g ip.	6,0	desgl.	—	—	—	(+)	.
810	desgl.	16×3 g ip.	4,8	desgl.	—	—	—	(+)	.
812	desgl.	20×3 g ip.	6,0	desgl.	—	—	—	(+)	.
1546	Infiziert mit $\frac{1}{1000000}$ mg bovine Tuberkelbacillen	10×3; 8×1; 8×5 g ip.	7,8	Pneumon. Herde	—	—	—	+++	Lymphknoten-tuberkulose
1543		8×1; 10×5; 15×5 g ip.	11,3	Tuberkul. Herde	—	—	—	+	
1553		8×1; 10×3; 15×5 g ip.	11,3	Pneumon. Herde	—	—	—	+	
1222		13×0,4; 18×1,5 g ip.	3,2	Viele tuberkul. Herde	—	—	—	+++	
1540		11×3; 15×5 g ip.	10,8	Ohne Befund	—	—	—	+++	
1560		Kontrollen	.	Tuberkulose und pneum. Herde	—	—	+	+	
1561		desgl.	.	Pneumon. Herde	.	.	++	+	

\* Fibrinöse Pleuritis.

In der *Lunge* zeigen die gesunden, mit Helpin behandelten Tiere nur in einigen Fällen mit Hilfe der Ölimmersion im Protoplasma von Alveolarepithelien, zum Teil auch in Bindegewebszellen, nachweisbare feine Ciaccio-positive Tröpfchen.

Die nicht mit Helpin behandelten, schwer tuberkulösen Meerschweinchen besitzen deutlich mehr und größere Ciaccio-positive Tröpfchen als die gesunden Helpin-Tiere, *besonders um tuberkulöse Herde* herum.

Bei den mit Helpin behandelten, mit tuberkulösen, vielfach verkästen Lungenherden versehenen Meerschweinchen ist die Speicherung sehr stark ausgeprägt und übertrifft bei weitem die der nicht mit Helpin behandelten Tuberkulose-tiere.

Die Lecithintröpfchen lagern sich in der tuberkulösen Meerschweinchenlunge, wie schon *Pagel* beschrieb, besonders um die Tuberkulose-

herde ab und befinden sich in den Exsudatzellen in seßhaften Alveolar-epithelien, weniger in Bindegewebszellen und *stets* in Knorpelzellen.

Wahrscheinlich ist die um die Tuberkuloseherde herum ausgeprägte Lecithinablagerung ein Ausdruck der Schädigung der betreffenden Zellen durch eine Giftwirkung der Tuberkelbacillen.

Tab. 3 zeigt die Verhältnisse in der *Leber*. Im allgemeinen ist hier die Lecithinspeicherung geringer als in der Milz. Die nicht infizierten Helpin-Tiere weisen in Leberzellen und Sternzellen nur unbedeutende Mengen orangeroter Tröpfchen auf. Eines von ihnen (Nr. 809) besitzt reichlich mit *Scharlach* darstellbare Tröpfchen, etwas weniger reichlich nach *Smith-Dietrich* färbbare Stoffe und wie die anderen zugehörigen Tiere nur wenig Ciaccio-positive Lipide.

Die Vergleichstiere besitzen keine mit Hilfe dieser genannten Methoden sichtbar zu machenden Stoffe.

Reichlicher als bei den nicht infizierten Tieren ist die Lecithinspeicherung in den bei unseren Tieren histologisch nicht veränderten Lebern der mit Tuberkulose infizierten Meerschweinchen. Auch wenn

Tabelle 3. *Lecithin-(Helpin-)Speicherung in der Leber.*

Nr. des Meerschw.		Zahl der Helpin-injektionen	Verabfolgte Lecithinmenge in g	Sektionsbefund	Histochemischer Befund				
					Smith-Dietrich	Fischer	Scharlach	Ciaccio	
813	Nicht infiziert	Vergleichstiere	.	.	—	—	—	—	.
814	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
815	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
816	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
817	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
819	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
820	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
821	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
822	desgl.	desgl.	.	.	—	—	—	—	.
803	desgl.	9×3 g ip.	2,7	Ohne Befund	—	—	—	+	.
804	desgl.	10×3 g ip.	3,0	desgl.	—	—	—	+	.
805	desgl.	12×3 g ip.	3,6	desgl.	—	—	—	+	.
806	desgl.	14×3 g ip.	4,2	desgl.	—	—	—	+	.
807	desgl.	11×3 g ip.	3,3	desgl.	—	—	—	+	.
808	desgl.	7×3 g ip.	2,1	desgl.	—	—	—	+	.
809	desgl.	20×3 g ip.	6,0	desgl.	++	—	+++	+	.
810	desgl.	16×3 g ip.	4,8	desgl.	—	—	—	+	.
812	desgl.	20×3 g ip.	6,0	desgl.	—	—	—	+	.
1546	Infiziert mit $\frac{1}{10000000}$ mg bovine Tuberkelbacillen	8×1; 10×3; 8×5 g ip.	7,8	desgl.	—	—	—	++	Lymphknoten-tuberkulose
1540		13×3; 15×5 g ip.	10,8	desgl.	—	—	+	++	
1543		8×1; 10×3; 15×5 g ip.	11,3	desgl.	+++	—	++	++	
1553		8×1; 10×3; 15×5 g ip.	11,3	desgl.	—	—	—	++	
1222		13×0,4; 18×1,5 g ip.	3,2	desgl.	—	—	—	++	
1560		Kontrollen	.	.	+	—	++	+	
1561		desgl.	.	.	+++	—	+++	—	

nur geringe Helpinmengen gespritzt werden, stellt sich in Leberzellen und Sternzellen eine beträchtliche Ablagerung ein, die um so stärker ist, je schwerer die allgemeine Tuberkulose des Tieres verläuft.

Unter den Tieren mit schwerer Tuberkulose und reichlich Ciaccio-positiven Lipoiden enthält Nr. 1543 außerdem noch durch Smith-Dietrich und mit Scharlach nachweisbare Lipoiden, Nr. 1540 daneben nur mit Scharlach darstellbare Substanzen.

Dieser Befund hängt sicher nicht mit der eingeführten Helpinmenge (10 und 11 g Lecithin) zusammen, sondern mit der Schwere der Tuberkulose, da die entsprechenden tuberkulösen, nicht mit Helpin behandelten Tiere in der Leber ebenfalls Smith-Dietrich- und Scharlach-positive Substanzen, aber kein Ciaccio-positives Lecithin enthalten.

Wie *Hoffheinz* an menschlichem Material, so konnten wir bei unseren Tieren sehen, daß sich Ciaccio-positive Lipoiden in Zellen finden können, die keinerlei Degenerationsmerkmale aufweisen.

#### *Zusammenfassung.*

1. Durch parenterale Zufuhr von Lecithin in Form des Helpins wurde bei Meerschweinchen eine Lecithinspeicherung hervorgerufen, die am stärksten in der Milz und danach in Lunge und Leber auftritt.

2. Die Lecithinspeicherung ist im allgemeinen bei den tuberkulösen Tieren stärker als bei den normalen, und zwar nicht nur in der Umgebung des tuberkulösen Gewebes, das auch ohne Helpinzufuhr Ciaccio-positve Lipoiden speichern kann, sondern auch in tuberkulosefreien Organen, wie z. B. in der Leber.

3. Der Nachweis von Lecithinen ist mit Hilfe der Ciaccio-Methode möglich.

#### **Literaturverzeichnis.**

- <sup>1</sup> *Ciaccio*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **20**, S. 385 und 771. 1909. — <sup>2</sup> *Hoffheinz*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **260**, S. 493. 1926. — <sup>3</sup> *Kauffmann* und *Lehmann*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **37**, 4. S. 145. — <sup>4</sup> *Magat, I.*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **47**, H. 1/2. 1925. — <sup>5</sup> *Pagel, W.*, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. **61**. 1925. — *Wolff* und *Frankenthal*, Verhandl. d. dtsch. Pathol. Ges. in Freiburg. 1926.