

(Aus der Abteilung für physikalische Chemie und Elektrochemie des Staatlichen Instituts für ärztliche Fortbildung in Leningrad [Vorstand: Dozent *Igor Remesow*.])

Zur Morphologie des Lipoidstoffwechsels.

Von

Dr. G. A. Merkulow.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 10. Dezember 1930.)

Die Frage über die Morphologie des Lipoidstoffwechsels wird mit Recht zu den verwickeltesten Problemen der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie zugeschrieben. Die meisten Forscher, welche sich mit derselben beschäftigten, hatten in ihren Versuchen jene Veränderungen untersucht, die gewöhnlich bei Anwendung des molekular-dispersen Cholesterins (Cholesterin. pur. cryst.) eintreten.

Verhältnismäßig erst vor kurzem, und zwar seitdem Cholesterin in seinem besonderen Zustande, als kolloidales Cholesterin (Cholesterinsol) dargestellt wurde, erschien die Erörterung der Lipoidmorphologie in einem ganz neuen Lichte. Hier müssen die entsprechenden Arbeiten von *Karoliny*¹, *Löwenthal*², *Kaufer*³, *Leites-Derman*⁴, *Paul-Windholz*⁵, *Klotz*⁶, *Dewey*⁷, *Deicke*⁸ u. a. angemerkt werden, welche die, nach Einführung des kolloidalen Cholesterins eintretenden morphologischen Veränderungen behandeln. Ohne mich lang bei den, von obengenannten Forschern erhaltenen Ergebnissen aufzuhalten, erlaube ich mir nur darauf hinzuweisen, daß die Erforschungen derselben keinen streng systematischen Charakter trugen, wobei verschiedene Forscher zu den oft widersprechenden Ergebnissen kamen.

Die Untersuchungen von *Remesow* und seiner Schule (*Tavaststyerna*, *Matrossowitsch*, *Sepalowa*), welche einerseits den physikalisch-chemischen Erforschungen des kolloidalen Cholesterins gewidmet waren, andererseits

¹ *Karoliny*: Magyar. orv. Arch. **29**, H. 1, 23 (1928).

² *Löwenthal*: Verh. dtsch. path. Ges. Freiburg 1926.

³ *Kaufer*: Z. exper. Med. **62**, 571 (1928).

⁴ *Leites-Derman*: Virchows Arch. **268** (1928).

⁵ *Paul-Windholz*: Mitt. Grenzgeb. Med. u. Chir. **38**, H. 5 (1925).

⁶ *Klotz*: J. medical. Res. **33** (1915).

⁷ *Dewey*: Arch. int. Med. **17** (1916).

⁸ *Deicke*: Krkh.forschg **3** (1926).

die Probleme des Lipoidstoffwechsels im breitesten Sinne des Wortes berührten, führten zu einer Reihe wesentlicher Ergebnisse und deckten die Bedeutung des Cholesterins als wichtigsten Regler der Lebensvorgänge auf. Durch diese Arbeiten wurde die Fähigkeit des Cholesterins bewiesen, unter bestimmten Bedingungen in Kohlehydrate überzugehen. Dabei soll dieser Übergang sich durch ein besonderes Zwischenprodukt — Glykocholesterid (*Remesow*) — verwirklichen. Diese in biochemischer sowie physikalisch-chemischer Hinsicht festgestellte sehr lehrreiche Tatsache, bot Anlässe auch morphologisch untersucht zu werden. Sollte die erwähnte Umwandlung der Lipoiden bzw. Cholesteriden in Kohlehydrate stattfinden, so müßte dieselbe offenbar auch morphologisch und histochemisch bestimmt werden.

Auf Veranlassung von Herrn Dozenten *Igor Remesow* habe ich die von ihm festgestellte Erscheinung einer experimentell-morphologischen Prüfung unterworfen. In seinen Arbeiten behauptet *Remesow*¹, daß die Umwandlung von Cholesterin in Kohlehydrate hauptsächlich in der Leber vor sich geht.

Alles oben Gesagte berücksichtigend bezweckte die vorliegende Untersuchung mittels rein morphologischen und histochemischen Methoden im direkten Tierversuch im Leben zu beweisen, daß ein derartiger Übergang des Cholesterins in Kohlehydrate bis an das Glykogenstadium tatsächlich stattfindet.

Wendet man sich den speziellen, histochemischen Reaktionen auf Kohlehydrate bzw. Glykogen und Fette zu, so kommt man zur Möglichkeit auf eine wohl einfache und überzeugende, objektive Weise, den vermuteten Vorgang zu beweisen. Es wäre natürlich hier möglich, gleich den Beweiswert von histochemischen Reaktionen auf Lipide im allgemeinen zu erörtern. Ich möchte aber nicht darauf näher eingehen und weise nur darauf hin, daß trotz Behauptungen verschiedener Forscher (vgl. *Seemann*² u. a.) über gewisse Unsicherheit morphologischer Farbenreaktionen für die Unterscheidung von Lipoiden und Fetten es doch scheint, als ob die morphologische Beweiskraft von Sudanfärbung und die Untersuchung im Polarisationslicht nicht zu bezweifeln ist.

In der vorliegenden Mitteilung wurden insgesamt 14 Versuche an gesunden, erwachsenen Kaninchen verschiedenen Gewichtes angestellt.

Den Tieren wurde nach Öffnung der Bauchhöhle in die Pfortader kolloidal-disperses Cholesterin, als Cholesterinsol von *Remesow*, eingeführt. In allen Fällen wurde mit gleicher Kraft gleichmäßig eingespritzt, wobei das Bild der Leber, die im Augenblick der Cholesterineinführung ein milchartiges Aussehen des Parenchyma zeigte, als Maßstab einer richtiggehenden Soleinführung diente.

Nach der Cholesterinsoleinspritzung Schluß der Bauchhöhle, vorläufige Zusammenpressung der Wundränder mit *Peans* Zapfen, und Auflegung einer Wärmeflasche auf den Bauch. Nach Verlauf bestimmter Zeitschnitte Tötung der Versuchstiere durch Aderlaß. Es muß jedoch bemerkt werden, daß bei meinen einigermaßen langdauernden Reihenzeitversuchen die Kaninchen in keinem einzigen Fall länger als eine Stunde nach der Solbelastung am Leben blieben. Gewöhnlich

¹ *Remesow*: Z. exp. Med. 1931 (im Druck).

² *Seemann*: Beitr. path. Anat. 83, 705 (1930).

schon nach 40—50 Minuten trat der Tod unter den Erscheinungen von schwerem Shock mit Krämpfen, ein. Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine völlige Leberschädigung und dadurch bedingten glykämischen Shock, denn die Blutanalysen dieser Tiere ergaben außerordentlich hohe Zahlen für den Blutzuckergehalt (bis 372 mg-%).

Es wurde in allen meinen Versuchen bei 10 Kaninchen 5%iges, nicht ultrafiltriertes kolloidales Cholesterin angewandt. Die übrigen Tiere dienten zum Vergleich. Bei der Operation wurde keine Narkose vorgenommen (Vivisektionsversuche). Der mikroskopischen Untersuchung wurden folgende Organe der Versuchs- und Vergleichstiere unterworfen: Leber, Nieren, Lungen, Dünndarm, Milz, Gallenblase, Nebennieren und Lymphknoten. Fixation im 10%igen Formalin nach *Bang-Sjöval* und kombinierte Fixation auf Fett und Glykogen nach *Zieglwallner*¹. Letztere wurde nur für Kaninchen, die 30—45 Minuten am Leben blieben, auch für einige Vergleichstiere, angewandt. Übrigens diese Fixationsmethode kann ich nicht, als einwandfreie und vorzügliche bezeichnen.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Sudan III; Färbung auf Glykogen nach *Best*; Polarisationsmikroskop. Gefrierschnitte; Celloidineinbettung für *Best*; Celloidinparaffinschnitte für Hämatoxylin-Eosinfärbung.

Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung.

In bezug auf das histologische Bild verweise ich auf die in Tabelle 1 gemachten Angaben.

Tabelle 1.

Versuchs-Nr.	Gewicht des Tieres g	Versuch	Die Menge des eingefüllten Cholesterins	Versuchsdauer	Leber	Lunge	Niere	Milz	Lymph-Knoten	Nebenniere	Dünndarm	Gallenblase	Be- merkungen
1	1900	5%iges Cholesterinsol in Venae portae	10,0	5'	+	—	±	—	++	±	—	—	
2	1400	..	10,0	5'	+	—	—	—	+	+	—	—	
3	1550	..	10,0	5'	++	—	—	—	++	+	—	—	
4	1800	..	10,0	15'	—	—	—	—	—	—	—	—	
5	1200	..	10,5	20'	—	—	—	—	—	—	—	—	
6	1400	..	10,0	20'	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	1900	..	15,0	30'	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	1600	..	10,0	45'	—	—	—	—	—	—	—	—	
9	1400	} Vergleichstiere	10,0	45'	—	—	—	—	—	—	—	—	
10	1450				—	—	—	—	—	—	—	—	

Cholesterin: +++ sehr reichlich; ++ reichlich; + mäßig; ± zweifelhaft; — negativ; G — Glykogenablagerungen.

Sudanfärbung: Zuerst muß man die Versuche mit der Dauer von 5 Minuten betrachten. Das morphologische Bild der Leber wird charakterisiert durch ein mäßigiges, etwas die Norm übersteigendes Vorhandensein von feindispersem Fett in den Leberzellen, und hauptsächlich in dem Zwischengewebe. Die Leberzellen sind stark vacuolisiert. Im Polarisationslichte erwiesen sich die Fettstoffe als doppelbrechend. Auffallend ist eine äußerst feine Dispersität der vorhandenen

¹ *Zieglwallner*: Z. Mikrosk. 30, 72.

Fettstoffe. — Die Lungen, Milz, Dünndarm, Gallenblase zeigen keine Fettanhäufungen (Sudanfärbung, Nilblau, Polarisationslicht). — In Nebennieren, nur das normale Bild von Fetten und Lipoiden. — Nieren zeigen gewisse Blutüberfüllung und eigentümliche Metachromasie der gewundenen Harnkanälchen und der Glomeruli. — Nur die Lymphknoten erweisen eine reiche Fett- bzw. Lipoidinfiltration, wobei ziemlich grobdisperse, mit Sudan gefärbte Teilchen von Fett bzw. Lipoid meistens in der Lymphsinus, teilweise im Reticulum, nachweisbar sind.

Fast dieselben Veränderungen wurden bei, nach 15 Minuten getöteten Kaninchen gefunden. Das morphologische Bild stimmte in seiner Art mit dem obenbeschriebenen genau überein.

Am bemerkenswertesten aber erscheint das histologische Bild für die nach 20, 30, 45 Minuten getöteten Kaninchen. Hier muß man vor allem die Tatsache hervorheben, daß *in der Leber eine völlige Abwesenheit von Fett* (Sudanfärbung, Polarisationslicht) und *anisotropen Stoffen äußerst charakteristisch ist*. In einem Falle war es möglich, geringe Mengen von Fett nachzuweisen, was aber als normal anzusehen ist. Das histologische Bild der Leber wird durch eine ausgesprochene Leberzellen-degeneration (trübe Schwellung, außerordentliche Vakuolisierung) charakterisiert. Die Leberzellenkerne sind schwach gefärbt, und stellenweise regressiv verändert. Die festgestellte vacuoläre Entartung der Leberzellen nebst einer ausgesprochenen trüben Schwellung darf nicht von vornherein als krankhafte Veränderung angesehen werden, denn wie bekannt (*Virchow*), findet man ihr Bild an den Zellen, auch im Zustand einer erhöhten physiologischen Tätigkeit unter dem Einfluß „nutritiver Reizung“, als Folge der besonderen Stoffwechselvorgänge, und Ausdruck kräftiger Umsetzungen im Zelleib. In meinen Versuchen läßt sich zweifellos feststellen, daß diese Vorgänge in der Tat vorliegen; aber die eingetretenen Veränderungen in dem Leberparenchym, welche in späteren Versuchszeiten zustande kamen, gehören jedenfalls schon zu den unausgleichbaren, schweren pathologischen Schädigungen.

Was die übrigen Organe von Tieren dieser Versuchsreihe anbetrifft, so muß man im ganzen dasselbe Bild wie bei den vorhergehenden Tieren feststellen. In Lymphknoten sind die Fettanhäufungen sehr gering und unbedeutend, besonders im Vergleich mit den Kaninchen 1, 2, 3. In Versuchen mit 30 und 45 Minuten Dauer erschienen geringe, aber sichere Spuren von anisotropen Stoffen in den Lungen.

Man kann daher folgendermaßen zusammenfassen: Eine sichere, aber sehr geringe Verfettung nebst Lipoidablagerungen kam nur in Leber und Lymphknoten vor, dabei *nur in den ersten Minuten nach der Soleinführung*, hauptsächlich in Kupfferschen Zellen und Leberzellen; während 20—30 Minuten nach der Einspritzung fast alle Organe — (außer Lungen) — *vollkommen frei von pathologischen oder etwa die Norm übertreffenden Fettablagerungen sind*.

Glykogendarstellung nach Best: Da Glykogen auch normalerweise in

der Leber vorkommt, konnte es sich nur um einen Mengenvergleich handeln. Wie das erhaltene histochemische Bild zeigte, muß man eine bestimmte und zweifellos vorhandene Glykogendegeneration der Leber bei den Tieren 4, 5, 6, 7 und gewissermaßen bei Kaninchen 3, d. h. bei den Kaninchen mit längerer Versuchsdauer (15—20—30—45 Minuten nach Cholesterineinführung), annehmen. Bei Tieren, die 5 Minuten nach der Soleinspritzung getötet wurden, war das Glykogengehalt der Leber im Bereich seiner physiologischen Grenzen.

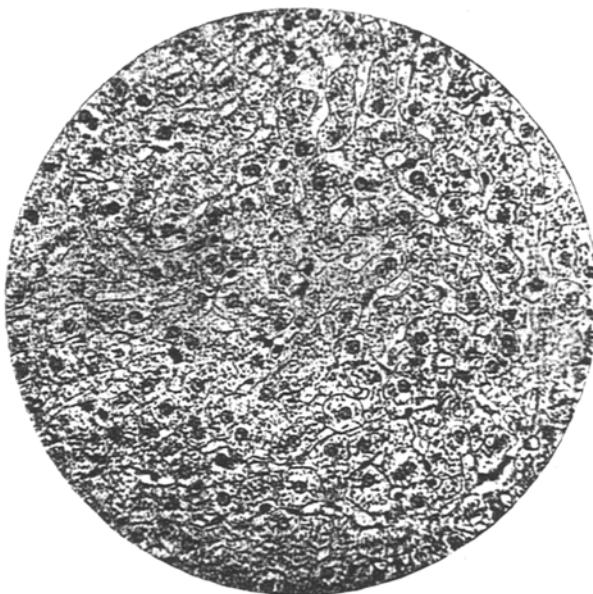


Abb. 1. Kaninchenleber. Gefrierschnitt. Sudanfärbung. Zeiß-Apochr. Obj. 20, Ok. Homal IV.

Aus den Präparaten kann man auch ersehen, daß zwischen Glykogen und Fettablagerungen sehr enge Beziehungen bestehen, so daß beide Stoffe ständig in denselben Zellen liegen, was allerdings schon von *v. Gierke*¹ bemerkt worden war.

Auf Abb. 1 und 2 sind die Mikrophotogramme von solcher Leber (Kaninchen 7, Versuchsdauer 30 Minuten) wiedergegeben. Abb. 1 zeigt Sudanfärbung am Gefrierschnitt, und bietet ein schon obenbeschriebenes Bild der Leber, mit keinen Fett- bzw. Lipoidablagerungen.

Lehrreich ist ein Vergleich dieses Bildes mit der von der gleichen Leber stammenden Abb. 2 nach *Best* gefärbt.

Wie daraus ersehen werden kann, sind alle Leberzellen mit Glykogen vollgestopft. In den *Kupfferschen* Sternzellen kommt es weniger vor.

¹ *Gierke, v.:* Erg. Path. 11, 2 (1907).

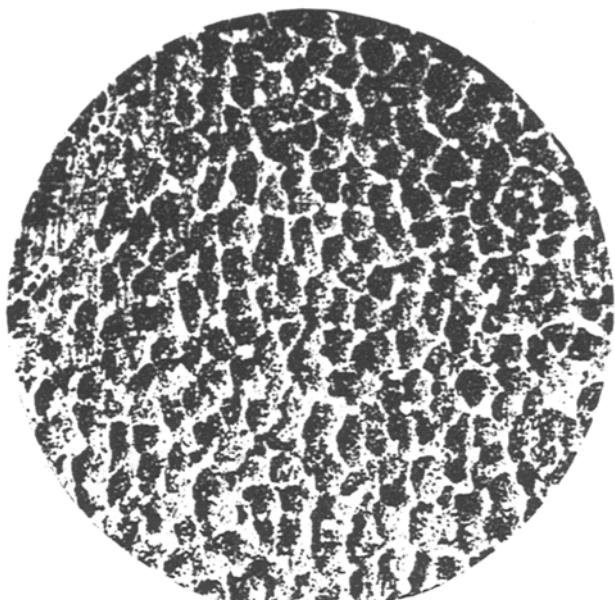


Abb. 2. Kaninchenleber. Versuchsdauer 15 Minuten. Färbung nach *Best.* Zeiß-Apochr. Obj. 20. Ok. Homal IV.

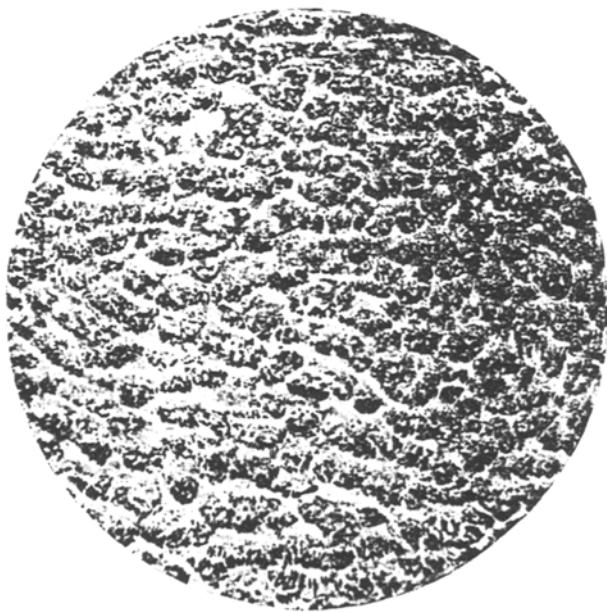


Abb. 3. Kaninchenleber (derselbe Versuch). Sehr starke Glykogenablagerungen in der Leber. Färbung nach *Best.* Zeiß-Apochr. Obj. 20. Ok. Homal IV.

In einer Reihe von Fällen (Tiere 4, 5, 6) erfüllt das Glykogen diffus, als körnige Massen den ganzen Leberzellenleib, während die *Kupfferschen* Sternzellen vergrößert sind. Mitunter liegt das Glykogen auch außerhalb der Zellen, was man auf Ausschwemmung nach dem Tode zurückführen kann. Sicher erscheint aber das *freiliegende* Glykogen in den Lebercapillaren und in den Lumen der Venae centrales, auch oftmals im periportalen Gewebe. In den Gallengängen wird ebenso eine bedeutende Menge freiliegenden Glykogens festgestellt, was auf eine Möglichkeit der Ausscheidung desselben aus den Leberzellen hinweist. Die stärkste Glykogenablagerung wurde bei Tieren mit 15—30 Minuten Versuchsdauer gefunden. Die angeführte Abb. 2 zeigt das ganze Leberparenchym buchstäblich mit körnigem Glykogen durchtränkt und überfüllt.

Auf Abb. 3 ist das Glykogenbild der Leber von Kaninchen mit 15 Minuten Versuchsdauer wiedergegeben. Man sieht fast das gleiche Bild wie im vorhergehenden Fall, vielleicht daß der Glykogengehalt hier etwas spärlicher ist, aber wohl auch normale Verhältnisse übertrifft.

Zum Schluß sei noch auf die mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparate hingewiesen. Diese zeigten Störungen der Kernplasmarelation, Kernverunstaltungen mit unregelmäßiger Färbung, was besonders ausgesprochen bei Tieren mit 30—45 Minuten Versuchsdauer war.

Zusammenfassende Besprechung.

In allen meinen Versuchen erhielt ich eine scharfe Unstimmigkeit zwischen den ungeheuer großen Mengen des eingeführten Cholesterins und der Menge des morphologisch und chemisch nachweisbaren Fettes und Lipoide in der Leber, sowie den übrigen Organen, von denen Lipoid nur, und zwar in sehr geringen Mengen, in Leber und Lymphknoten bei, nach 5—15 Minuten getöteten Kaninchen gefunden wurde, während die übrigen Organe, einschließlich reticuloendothelialem System, vollkommen frei davon waren. In den weiteren langfristigen Versuchen enthielt auch die Leber kein Fett bzw. Lipoid mehr.

Es muß also zu einem raschen Verschwinden des eingeführten Lipoids aus dem Körper gekommen sein. Dabei wissen wir aus den Versuchen von (*Hueck-Wacker*¹, *Anitschkow*², u. a.), daß das Cholesterin aus dem Körper außerordentlich langsam ausgeschieden wird. Das macht unsere Befunde noch auffallender.

Nun gelang es mir aber mit Sicherheit zu beweisen, daß in der Leber der betreffenden Tiere, zur Zeit wann sie fett- und lipoidfrei ist, außerordentliche Mengen von Glykogen erscheinen. Woher diese gewaltige Massen von Glykogen stammen, bleibt zunächst unverständlich; schließt man sich aber der Ansicht *Remesows* über den Übergang des Cholesterins in Kohlehydrate an, so werden sie bis in alle Einzelheiten klar

¹ *Wacker-Hueck*: Beitr. path. Anat. **66** (1920).

² *Anitschkow*: Erg. inn. Med. **28**, 1 (1925).

und verständlich. In der Leber kommt eine Bindung des eingeführten Cholesterins und weitere Umwandlung ins Glykogen vor. Dieser Vorgang verläuft, wie meine Zeitversuchsreihen zeigen, außerordentlich rasch und hauptsächlich in der Leber.

Meine Versuche sprechen also mit voller Augenscheinlichkeit für die von *Remesow* ausgesprochene Möglichkeit des Cholesterinüberganges in Kohlehydrate. Daß einige Organe, in erster Linie Lymphknoten, pathologisch-abgelagertes Fett bzw. Lipoid enthalten, läßt sich dadurch erklären, daß ein Teil des eingeführten Cholesterins in der Leber nicht aufgehalten und gebunden war.

Zum Schluß möchte ich noch auf die Arbeiten von *Kaufer* (a. a. O.) kurz eingehen. In seinen Versuchen mit Cholesterinemulsioneinspritzungen in peripherie Blutadern fand er unter anderem auch eine geringe Fettinfiltration der Leber, und beschrieb eigenartige helle Leberzellen mit etwa vakuolisiertem Protoplasma und chromatinarmem Kern. Diese Zellen, scheint mir auf Grund meiner vorliegenden Ergebnisse, darf man als Glykogen enthaltende Leberzellen betrachten.

Die ausgeführten Versuche konnten, also auch in rein morphologischer Hinsicht, zeigen, daß zwischen Lipoid- und Kohlenstoffwechsel enge Beziehungen bestehen.

Ergebnisse.

1. Kolloidales Cholesterin einmal in die Pfortader eingespritzt, wird fast vollständig in der Leber abfiltriert.
2. Deswegen sind Leber und alle übrigen Organe, trotz der Einführung gewaltiger Lipoidmengen, fast vollständig fett- und lipoidfrei.
3. Zugleich läßt die Leber ungeheure Mengen von chemisch und histochimisch nachweisbarem Glykogen (Färbung nach *Best*) erkennen.
4. Es ist daher wahrscheinlich, daß eine Umwandlung von Cholesterin in Glykogen eingetreten ist, und enge Beziehungen zwischen Lipoid- und Kohlehydratstoffwechsel bestehen (*Remesow*).

Für das angegebene Thema und die ständige Leitung erlaube ich mir hiermit Herrn Dozenten Dr. *Igor Remesow* meinen innigsten Dank auszusprechen.