

(Aus dem Staatsinstitut für ärztliche Fortbildung. Abteilung der pathologischen Anatomie [Vorstand: Prof. Th. J. Tschistowitsch] und Abteilung der physikalischen Chemie und Elektrochemie [Vorstand: Prof. J. A. Remesow].)

Über einige Veränderungen im Lungengewebe bei Cholesterinsoleinführung in Blutadern.

Von

Dr. G. A. Merkulow.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 27. Mai 1932.)

Das Schicksal des in den Organismus eingeführten Cholesterins und der dabei sich in den Organen abspielenden Veränderungen hängt von der Einführungsart ab. Während das Schicksal des Cholesterins und das morphologische Bild einer Reihe von Organen und Geweben bei Cholesterineinführung in die Haut, Bauchfell und Darm mehr oder weniger ausführlich erforscht sind (*Anitschkow* und seine Schule, *Aschoff*, *Versé*, *Chalatow*, *Moissejew*, *Basten*, *Garschin*, *Ssaltykow*), läßt sich dasselbe von der Beibringung des kolloid-dispersen Cholesterins durch Einspritzung in Blutadern nicht sagen. Es sind an dieser Stelle hauptsächlich die Arbeiten von *Seemann*, *Klotz*, *Deicke* und *Kaufer* zu erwähnen. *Seemann* war eigentlich der erste, der auf die spezifischen Besonderheiten der Cholesterinablagerung in den Lungen bei Einführung in Blutadern hingewiesen hat. Unter den Arbeiten anderer Forscher ist die von *Kaufer* zu betonen. *Kaufer* führte ins Blut Cholesterinsole ein, die den in der vorliegenden Arbeit angewandten entsprechen. Doch fand er bei dauernden Beobachtungen in den Lungen keine der von *Seemann* beschriebenen Veränderungen. Die Frage über die in den Organen, im einzelnen in den Lungen, stattfindenden Veränderungen ist also noch nicht endgültig klargelegt worden. In der vorliegenden Arbeit möchte ich einige Besonderheiten der morphologischen Lungenveränderungen bei Einführung ins Blut des auf verschiedenen Dispersionsmitteln bereiteten kolloidalen Cholesterins beschreiben. Als Material dienen die von *Remesow* und seinen Mitarbeitern (*Matrossowitsch*, *Tavaststyerna*, *Sepalowa*) angestellten Versuche. Die ausführliche Zergliederung aller dabei seitens der anderen Organe festgestellten Veränderungen, auch im Zusammenhange mit dem von *Remesow* untersuchten Hauptproblem, wird den Gegenstand einer nachfolgenden Arbeit bilden.

Die Fähigkeit der Lungen aus dem Blute eine Reihe von Kolloidsubstanzen, die Fettstoffe inbegriffen, in sich aufzuhalten, ist ausführlich erforscht worden und das sich auf diese Frage beziehende Schrifttum ist erschöpfend in der vor kurzem erschienenen Monographie von *Seemann* angeführt worden. Hinsichtlich des Cholesterins sind von den Untersuchern, wie schon oben erwähnt, entweder keine Veränderungen festgestellt worden (*Kaufer*), oder dieselben bezogen sich auf die späteren Stadien, der Bildung der Intimagranulome (*Seemann*). Die Angaben der Versuche von *Remesow* gewährten mir die Möglichkeit nicht nur diese Spätstadien auch die Frühstadien zu verfolgen, die in manchen Fällen einen eigentümlichen Charakter haben und in den Lungen bei Einführung des Cholesterinsols in Blutadern stattfinden. Im Unterschied zu den Versuchen von *Seemann* wird

Tabelle 1.

Versuchsnummer	Versuchstier	Gewicht in g	Die Zahl der Sol-einspritzungen	Die Menge des Cholesterinsols bei einmaliger Einführung	Dispersionsmittel	Versuchsdauer
1	Kaninchen	1850	I	32 ccm 5%igen Cholesterinsols	1% Lävulose	20 Min.
2	„	1700	I	13 ccm 15%igen „	„	1 Std., 15 Min.
3	„	1600	I	10 ccm 5%igen „	2% Glucose	3 Std.
4	„	1650	I	10 ccm 15%igen „	1% Lävulose	2 Tage
5	„	2200	I	10 ccm 15%igen „	„	5 „
6	„	1700	I	13 ccm 15%igen „	„	11 „
7	„	2200	I	20 ccm 15%igen „	„	25 „

Tabelle 2.

Versuchsnummer	Versuchstier	Gewicht in g	Die Zahl der Sol-einspritzungen	Die Menge des Cholesterinsols bei einmaliger Einführung	Dispersionsmittel	Versuchsdauer
35	Kaninchen	2100	I	10 ccm 3%igen Cholesterinsols	1% Lävulose	2 Std.
32	„	1600	I	10 ccm 3%igen „	„	3 „
15	„	3100	I	10 ccm 5%igen „	reines Cholesterinsol	5 „
16	„	2900	I	10 ccm 5%igen „	reines Cholesterinsol	5 „
4	Hund	18000	I	20 ccm 20%igen „	10% Lävulose	16 „
3	„	9000	I	20 ccm 20%igen „	„	20 „
2	„	7500	II	20 ccm 20%igen „	10% Glucose	24 „
1	„	12000	II	20 ccm 20%igen „	„	20 „
24	Kaninchen	2000	X	5 ccm 3%igen „	1% Lävulose	10 Tage
25	„	2200	X	5 ccm 5%igen „	1% Glucose	10 „
40	„	„	XV	5 ccm 3%igen „	1% Lävulose	15 „
41	„	2900	XXX	10 ccm 3%igen „	1% Glucose	30 „
42	„	2100	LVIII	5 ccm 3%igen „	1% Lävulose	58 „
44	„	1900	LX	5 ccm 3%igen „	2% Glucose	60 „

¹ Nach 5 Min. wurden 100 Int.-Einheiten des Insulins (Leo) unter die Haut eingeführt.

² Tägliche einmalige Injektionen.

das Cholesterinsol nicht in Wasser-, sondern in Glucose- und Levuloselösungen eingeführt. Alle Versuche wurden in 2 Reihen eingeteilt. Die 1. Reihe (Tabelle 1) bildeten die an 7 Kaninchen angestellten Versuche mit einer einmaligen Einführung des kolloidalen Cholesterins ins Blut. Die Tiere wurden in verschiedenen Zeitfristen von 20 Minuten bis 25 Tagen getötet. Die 2. Versuchsreihe (Tabelle 2) betrifft die an 10 Kaninchen und 4 Hunden angestellten Versuche mit einer teils ein-, teils mehrmaligen Cholesterineinführung ins Blut und auch mit verschiedener Lebensdauer der Versuchstiere.

Es wurde das nach *Remesow* hergestellte Cholesterinsol und in einer Reihe von Fällen die Präparate der Firma Heyden angewandt. Als Dispersionsmittel für das Cholesterin diente immer die Wasserlösung der Glucose oder der Lävulose. Das Cholesterinsol wurde den Kaninchen in die Ohr-, den Hunden in die Schenkelvene eingeführt.

Alle Kaninchen wurden durch einen Schlag auf das Genick getötet. Die Organe wurden in 15%igen Formalin fixiert. Die Lungen wurden an Gefrierschnitten (manchmal nach Einbettung in Gelatine) in polarisiertem Lichte untersucht. Außerdem wurden die Schnitte mit Sudan und Hämatoxylin gefärbt. Oxydase-reaktion nach *Schulz*. Zwecks ausführlichen Studiums Einbettung in Celloidin-, Paraffin und Hämatoxylin-Eosinfärbung, sowie nach *van Gieson*.

Mikroskopischer Teil.

1. Reihe. Bei Untersuchung der Präparate in polarisiertem Lichte ist ersichtlich, daß sofort (20 Minuten) nach der Einführung des Cholesterins ins Blut das letztere im Lungengewebe in Form von kleinen Krystallteilchen ausfällt, die die ganze Lunge regelmäßig und reichlich besäen. Dieser Cholesterinausfall scheint sich eine Zeitlang fortzusetzen, da nach 24 Stunden die Dispersität der doppeltlichtbrechenden Teilchen bedeutend gröber wird und es entstehen später (2—5 Tage) neben den kleinen auch größere Krystallgebilde, die sich im Lumen der größeren Gefäße lokalisieren. Im 25tägigen Versuche fehlt das fein disperse Cholesterin fast gänzlich, es bleiben nur die doppeltbrechenden Krystalle in den Gefäßlichtungen übrig. Vom 5tägigen Versuche an läßt sich deutlich die Anhäufung von Sphärokrystallen um den großen Krystallgebilden herum beobachten. Es werden auch vereinzelte Sphärokrystalle angetroffen.

Die Untersuchung der auf die Oxydasereaktion bearbeiteten Präparate zeigt, daß *die Einführung des Cholesterins ins Blut von einem beträchtlichen Leukocytenzufluß ins Lungengewebe begleitet wird; dabei werden viele kleinkalibrige Gefäße durch die Leukocyten vollständig verstopft.* Der Leukocytenzufluß hält bis 24 Stunden an und ist in den ersten Stunden besonders hoch. In den chronischen Versuchen ist in 2 und 5 Tagen kein allgemeiner Leukocytenzufluß vorhanden, *es läßt sich aber eine sehr bedeutende Anhäufung derselben in der Adventitia der großen Äste der Lungenschlagader beobachten.* Diese Anhäufungen umringen vollständig das Gefäß und bilden eine Art Mantel. Das Lumen einiger dieser von Leukocyten umgebenen Gefäße sind von groben Krystallmassen ausgefüllt.

In den Präparaten der 2. *Reihe* finden die der ersten entsprechenden Veränderungen und außerdem noch einige andere durch die wiederholten Cholesterineinspritzungen bedingten Besonderheiten Platz. Im polarisierten Lichte ist, in Versuchen beliebiger Zeitdauer, eine reichliche Menge von doppeltbrechenden Stoffen äußerst verschiedener Dispersität zu sehen. In dem 2monatigen Versuch erreichen die doppeltbrechenden, in den Intimagranulomen eingeschlossenen Massen einen besonders mächtigen Umfang (*Seemann*). Nach Erwärmung und nachfolgender Abkühlung der Gefrierschnitte der akuten¹ Versuche (bis 24 Stunden) lassen sich im polarisierten Lichte vereinzelte und zerstreute Sphärokrystalle beobachten. In den chronischen¹ Versuchen (in dieser Serie vom 10. Tage an) ist eine reichliche Sphärokrystallmenge vorhanden; die Sphärokrystalle, manchmal in einer großen Anzahl, konzentrieren sich um die massiven Krystallgebilde herum; außerdem liegen sie auch zerstreut da. Die Sudanfärbung (in chronischen Versuchen) zeigt eine bedeutende Anhäufung von reichlich fettbeladenen Histiocyten um den großen doppeltbrechenden Gebilden herum; oft liegen diese fettbeladenen Histiocyten in einigen Reihen. Unter dem Einflusse des ausfallenden Cholesterins schwillt das Endothel der kleinen Gefäße sehr früh, etwa am 2. Tage, und verstopft, sich vermehrend, oft das Gefäßlumen. In den Spätstadien entwickelt sich das Intimagranulom mit oder ohne Riesenzellen.

Diese Spätreaktion der Lunge auf das Cholesterin ist seinerzeit sehr ausführlich von *Seemann* beschrieben worden. Hier sei nur hinzugefügt, daß unter den das Intimagranulom bildenden Histiocyten sich eine große Zahl von Leukocyten befindet (Oxydasereaktion). Der allgemeine Leukocytenzufluß in die Lungen und besonders ihre Anhäufung in den feinen Gefäßen (Capillaren und Präcapillaren) sind, ihrem Grade nach, von denen der 1. Versuchsreihe höchst verschieden. Zwischen den das Gefäßlumen verstopfenden Leukocyten lassen sich im polarisierten Lichte ziemlich große Krystalle entdecken. Die in den Verzweigungen der Lungenschlagader steckengebliebenen großen Krystallgebilde sind auch von Leukocyten bedeckt. Die Leukocytenmäntel sind sowohl dem Verlaufe der kleinen, als auch der großen Gefäße entlang zu sehen. Die Leukocytenmäntel in den chronischen Versuchen der 2. Reihe übertreffen bedeutend diejenigen der 1. Reihe. Außer diesen im allgemeinen auch der 1. Reihe eigenen Veränderungen sind sowohl in den akuten, als auch chronischen Versuchen der 2. Reihe Veränderungen ganz anderen Charakters festgestellt worden. Es fiel schon bei Durchsicht der nur mit Hämatoxylin gefärbten Gefrierschnitte auf, daß in manchen Versuchen viele Capillaren und Präcapillaren stark erweitert sind, indem sie von einer leicht körnigen

¹ Unter „akuten“ Versuchen sind die bis 24 Stunden dauernden Versuche und unter „chronischen“ die darüber fortgesetzten zu verstehen.

Masse mit Beimengung verschieden großer (gewöhnlich aber geringer) Leukocytenzahl überfüllt sind. Bei Hämatoxylin-Eosinfärbung der Celloidin-Paraffinschnitte färbten sich diese körnigen Massen bzw. die Gerinnsel (Abb. 3) schwach rosa. Außer den Leukocyten wurden im peripheren Teile der geronnenen Massen oft vereinzelte rote Blutzellen angetroffen. *Fast in allen Fällen der von uns festgestellten Thrombosen der Gefäße*

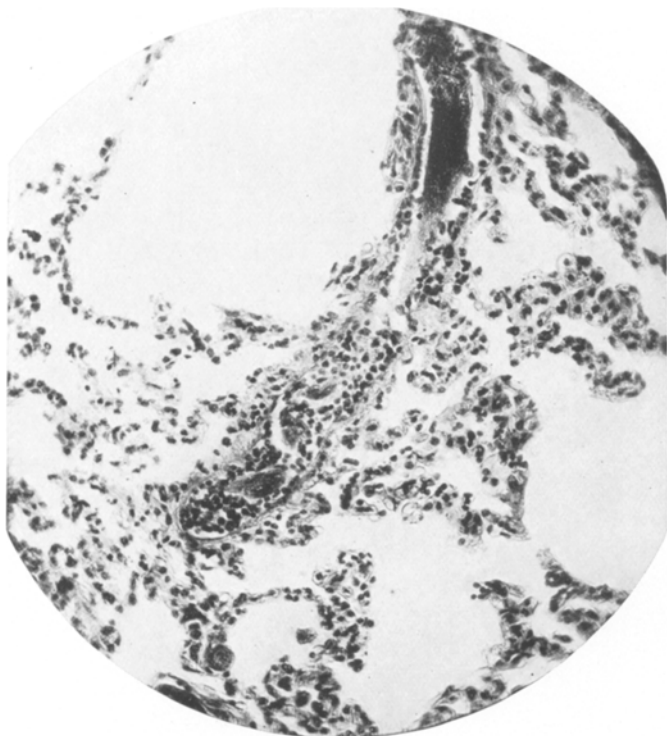


Abb. 1. Der Versuch mit chronischem Cholesterinsol mit Lävuloseeinspritzung (Nr. 40). Die fibrinösen Thromben eines Capillargefäßes. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Zeiß Apoehr. Obj. 8 mm, Comp. Okul. 4.

waren derartige Thrombenmassen vorhanden und nur in einem Falle des 15tägigen Versuchs (Nr. 40) sind Thromben verschiedenen Bestandes, sowohl fibrinöse, als auch körnige und gemischte, festgestellt worden. Im letzteren Falle waren dabei nicht nur die Capillargefäße (Abb. 1), sondern auch die kleinen Schlagadern (Abb. 2) von der Thrombose betroffen. Diese Erscheinung einer mehr oder weniger verbreiteten Thrombose der Lungengefäße wurde bei Kaninchen beobachtet, denen das Cholesterinsol in 1%iger Lävuloselösung eingeführt wurde (Nr. 15, 32, 35, 24, 40, 42) und in einem Falle bei Verwendung des Cholesterinsols

in 1%iger Glucoselösung (Nr. 44). Schließlich ist noch, als eine unbegreifliche Tatsache, die in einem unbekannten Zusammenhange mit den Versuchen steht, die anisotrope Verfettung des Fettgewebes um kleine Bronchien herum zu erwähnen, welche bei den Kaninchen Nr. 16 und 35 festgestellt wurde (Abb. 1, 2 u. 3).

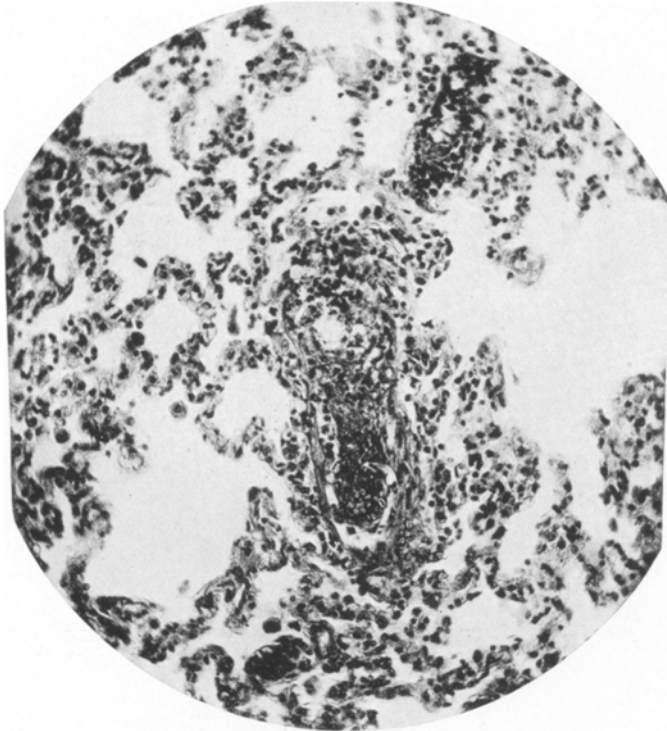


Abb. 2. Derselbe Versuch (Nr. 40). Fibrinöse Thromben eines Astes der Lungenschlagader. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Zeiß Apochr. Obj. 8 mm, Comp. Okul. 4.

Fassen wir die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung der 1. und 2. Reihe zusammen, so kann man eine folgende Vorstellung über das Schicksal des ins Blut eingeführten Cholesterinsols und den von ihm hervorgerufenen Veränderungen des Lungengewebes bekommen. Sofort nach Einführung ins Blut beginnt die Ausscheidung des Cholesterins in den Lungen in Form von fein dispersen doppeltbrechenden Teilchen. Die Cholesterinausscheidung scheint sich einige Zeit lang fortzusetzen, da später die Dispersität der doppeltbrechenden Teilchen bedeutend gröber wird und es bilden sich umfangreiche Krystallgebilde. Ungefähr gegen den 5. Tag findet die Ätherifikation des Cholesterins in den Lungen statt, was sich in der schon am 5. Tage (1. Reihe) deutlich

zu beobachtenden Konzentrierung der Sphärokrystalle um die großen Krystallablagerungen herum kundgibt. Späterhin, mit der Entwicklung der Aufsaugungsvorgänge, nimmt diese Konzentrierung der Sphärokrystalle um die Ablagerungen des krystallinen Cholesterins herum, allmählich zu.

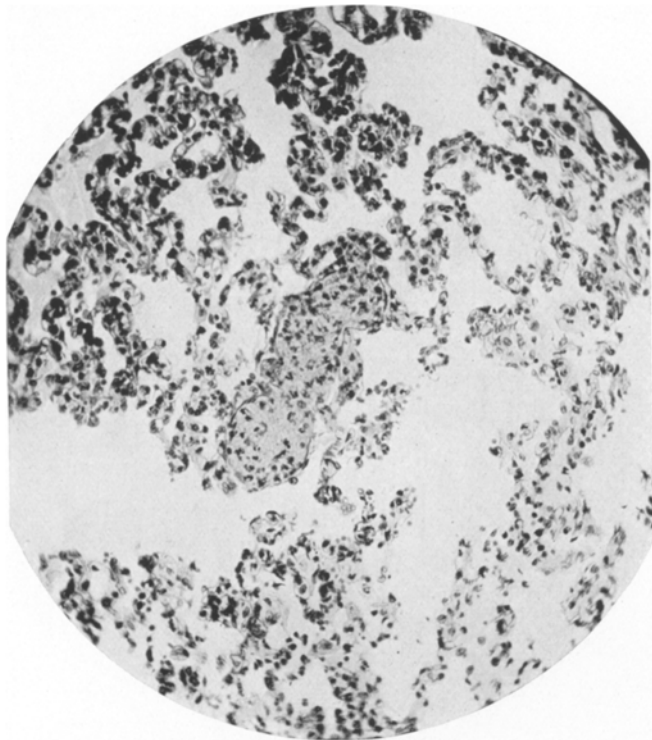


Abb. 3. Chronischer Versuch (Nr. 24). Körnige Thromben (Gerinnungen) in einem Capillargefäß. Hämatoxylin-Eosin; Zeiß Apochr. Obj. 8 mm, Okul. 4.

Die Ätherifikation im Lungengewebe beginnt also ungefähr zu derselben Zeit, wie es auch in manchen anderen Geweben, z. B. im Unterhautfettgewebe (Versuche von *Garschin* mit Cholesterineinführung in das Unterhautfettgewebe des Kaninchens), der Fall ist.

Die von uns erwähnten Sphärokrystalle in den akuten Versuchen der 2. Reihe (24 Stunden) sind kaum als Produkte der Cholesterin-ätherifikation in den Zellen zu betrachten, da die Beobachtungen von *Garschin* gezeigt haben¹, daß die, sich in den phagocytierenden Zellen bildenden Sphärokrystalle verhältnismäßig spät auftreten. Vielleicht

¹ Übrigens muß man berücksichtigen, daß die Versuche von *Garschin* andere Gewebe, auch die Einführung des molekular-dispersen Cholesterins betreffen.

ist möglich anzunehmen, daß das frühe Auftreten der Sphärokrystalle im Lungengewebe sich auf die Cholesterinätherifikationsvorgänge schon im Blutstrom bezieht. Neben der Ausscheidung und der nachfolgenden Aufsaugung des Cholesterins entwickelt sich im Lungengewebe auch eine ganze Reihe weiterer Veränderungen. Als eine beständige, die Einführung des Cholesterins ins Blut begleitende Erscheinung ist *der starke allgemeine Zustrom der Leukocyten ins Lungengewebe anzusehen, der in den nachfolgenden Tagen durch die Ansammlung von Leukocyten mit Mantelbildung dem Laufe entlang der Lungenarterienäste ersetzt wird*. Das Gefäßendothel quillt in den ersten Tagen unter Einfluß der Cholesterinausscheidung auf. In den chronischen Fällen und bei mehrmaligen Einspritzungen entwickelt sich das Intimagranulom. Als eine nicht ständige Erscheinung wird die Thrombose der Lungencapillaren beobachtet.

Aus dem oben Geschilderten ist zu ersehen, daß das Lungengewebe auf die Einspritzung von Cholesterinsol in Blutadern stets in diesem oder jenem Grade reagiert. Der Charakter der stattfindenden Veränderungen hängt von der Versuchsdauer ab. In einigen Fällen sind die im Lungengewebe auftretenden Veränderungen so beträchtlich, daß sie im Vergleich mit denjenigen in anderen Organen, unter denen in erster Linie die Leber zu nennen ist, auf den Vordergrund treten. Deshalb sind die Versuche von *Kaufer* unverständlich, welcher trotz mehrmaliger Einspritzungen des Cholesterinsols ins Blut, welche in einigen Fällen 1 Jahr andauerten, keine Veränderungen in den Lungen gefunden hatte. Die Lunge ist in den Versuchen von *Kaufer* vollständig unversehrt. Dieser Umstand ist desto unbegreiflicher, als die von ihm in bezug auf die anderen untersuchten Organe (Milz, Leber) erhaltenen Angaben den von mir gewonnenen im allgemeinen ähnlich sind. Die Arbeit von *Seemann* widerspricht auch vollständig den Schlußfolgerungen von *Kaufer* und nicht nur hinsichtlich der Lungen, sondern auch in bezug auf die anderen Organe, z. B. die Nebennieren. Die von mir angeführten Untersuchungen geben einen festen Boden, die Grundlagen von *Seemann* über eine besondere den Lungen eigene Filterrolle in bezug auf das Cholesterin nochmals bestätigen zu dürfen. Den Lungen gebührt die hervorragende Rolle eines das Cholesterin aufhaltenden, filtrierenden Organs, das dabei eine ganze Reihe von eigentümlichen morphologischen Veränderungen zeigt.

Schlußfolgerungen.

1. Das in Blutadern eingeführte Cholesterinsol fällt sofort nach der Einführung in der Lunge in Form von doppeltbrechenden Teilchen von feiner Dispersität aus.

2. Der Ausfall des Cholesterins dauert einige Zeit fort, und die Dispersität der ausfallenden Teilchen wird allmählich größer.

3. Die mehrmalige Cholesterineinführung ruft die Bildung von beträchtlichen Krystallanhäufungen in der Gefäßlichtung hervor.

4. Die Ätherifikation des ausgeschiedenen Cholesterins erfolgt etwa am 5. Tage.

5. Das ausfallende Cholesterin ruft eine Reaktion des Gefäßendothels hervor und führt in den chronischen Versuchen bei mehrmaligen Einspritzungen zur Bildung von Intimagranulomen.

6. Die Einführung des aus Kohlehydraten (Lävulose, Glucose) hergestellten Cholesterinsols ruft in der Lunge *stets einen reichlichen Leukocytenzufluß hervor, welcher Bildung von umfangreichen Leukocytenansammlungen in den Capillaren und Präcapillaren zur Folge hat.*

7. Jede Cholesterininjektion wird von einer allgemeinen leukocytären Reaktion begleitet, welche ungefähr 24 Stunden anhält und in den nachfolgenden Tagen durch die Bildung von Leukocytenmänteln längs der großen Lungenschlagader, sowie der kleinen Gefäße, ersetzt wird. Diese Leukocytenmäntel treten besonders reichlich in den chronischen Versuchen hervor, nach mehrmaligen Cholesterininjektionen.

8. Nach Einführung des aus Lävulose hergestellten Cholesterinsols ist manchmal bei Kaninchen das Bild *einer diffusen Thrombose der kleinen Lungengefäße* zu beobachten.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. J. A. Remesow für die Überreichung des Themas meiner Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen.

Schrifttum.

Anitschkow, N.: Verh. dtsch. path. Ges. **1928**, 473. — Aschoff: Z. exper. Med. **50**, 52 (1926). — Basten: Virchows Arch. **220**, 176 (1915). — Chalatoz: Zbl. Path. **23** (1913). — Deicke: Krkh.forsch. **3** (1926). — Garschin: Verh. allruss. path. Kongr. **1923**. — Kaufer: Z. exper. Med. **62**, 571 (1928). — Klotz: J. med. Res. **33**, 157 (1910). — Moissejew: Verh. d. Festsitzg d. russ. Pathol. zur Feier des 100jährigen Geburtstages von Virchow, 1921, S. 329. — Remesow u. Mitarbeiter: Z. exper. Med. **76**, 420—462; **77**, 67—119 (1931). — Saltykow: Beitr. path. Anat. **1908**, 43. — Seemann: Beitr. path. Ant. **83**, 705 (1930). — Versé: Verh. dtsch. path. Ges. **1925**, 67. — Zinserling: Beitr. path. Anat **71**, 292 (1923).