

(Aus der Pathologisch-anatomischen Abteilung des Instituts für experimentelle Medizin der USSR. [Vorstand: Prof. Dr. *N. Anitschow*], Unterabteilung für pathologische Morphologie des Stoffwechsels [Vorstand: Privatdozent Dr. *W. D. Zinserling*].)

Eiweißlipoidverbindungen in den Zellen unter normalen und pathologischen Bedingungen, und deren Auffassung bei Anwendung verschiedener Färbungsmethoden mit Sudan III.

Von

Dr. J. Goldmann.

Mit 4 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 24. Juli 1933.)

In meiner früher in diesem Archiv veröffentlichten Arbeit habe ich nachweisen können, daß es bei Anwendung der von mir vorgeschlagenen Methode der Sudanfärbung gelingt, einige gewöhnlich nicht nachweisbare Lipoidstrukturen in den Zellen darzustellen. Anscheinend vermögen auch andere, in der letzten Zeit von verschiedenen Untersuchern (*Szantroch* u. a.) angegebene Modifikationen der Sudanfärbungsmethode den Kreis der „darstellbaren Lipide“ noch zu erweitern.

Trotzdem fehlt es auch bis jetzt an Übereinstimmung in den Anschauungen bezüglich des Vorkommens der Lipoidsubstanzen bei manchen im normalen Zustande sich befindenden Zellarten. So treffen wir in den Arbeiten älterer und neuerer Forscher Hinweise darauf, daß in verschiedenartigen Zellen Einschlüsse fettiger Natur entdeckt wurden; dabei wird aber gar nicht erwähnt, daß z. B. in den Leukocyten im normalen Zustande eine Lipoidkörnelung immer vorhanden ist. Nach meinen Beobachtungen ist das Fehlen des Lipoidsubstrates in den Leukocyten nur bei tiefen degenerativen Veränderungen möglich, und selbst in diesem Falle beobachten wir nur ein teilweises Verschwinden des Lipoidstoffes. Nicht genügend gewürdigt und wenig erforscht ist auch die Möglichkeit der Ermittlung des Lipoidsubstrates in verschiedenartigen protoplasmatischen Strukturen, im Chondriom u. a. (z. B. in Nierenepithelien, in den Epithelzellen verschiedener drüsigen Organe usw.), wie sie einer Reihe von Forschern gelungen ist (s. z. B. die Arbeit von *Traina*).

Das Auseinandergehen der Ergebnisse verschiedener Forscher bezüglich des Vorkommens lipoider Zellbestandteile ist zunächst auf die Verschiedenheiten der Methode des Lipoidnachweises mit Hilfe eines und

desselben für Lipoidfärbung am meisten gebräuchlichen Farbstoffs — Sudan III (bzw. Scharlach R) — zurückzuführen.

Bei Anwendung verschiedener Sudanlösungen sollte man sich nicht nur mit dem bloßen Nachweis der Lipide begnügen, sondern auch der Erforschung derjenigen chemischen Komplexe mit denen der Lipoidstoff verbunden ist, nähertreten. Von großer Bedeutung wäre es ferner, aufzuklären, dank welchen strukturellen Veränderungen Lipoidstoffe in einigen Fällen sich nur mit speziellen Färbungsmethoden darstellen lassen, während in anderen die gewöhnlich nicht darstellbaren Lipide bei pathologischen Prozessen dennoch gefärbt werden können.

Für Lipoidfärbung gebrauchte ich die von mir vorgeschlagene (im Zbl. Path. beschriebene) Sudan III- α -Naphthol-Färbungsmethode und vergleichsweise auch die übliche Methode der Sudanfärbung, sowie die Färbung mit vorher gekochten Sudanlösungen.

Wie aus meinen an verschiedenartigen Objekten ausgeführten Untersuchungen zu ersehen ist, wechselten die Ergebnisse der Ermittlung der Lipoidstoffe erheblich, je nachdem, welche Sudanfärbungsmethode angewandt wurde.

Viele Forscher sehen den Grund des verschiedenen Färbungseffektes bei Anwendung von Sudanlösungen in der Konzentration des für Sudanlösung gebrauchten Alkohols, welcher den Lipoidstoff teilweise auflöst. Auf Grund der Angaben *Kaufmanns* und *Lehmanns*, daß verschiedene Fettsubstanzen, wenn sie als Mischungen auftreten, nur mit schwächeren alkoholischen Sudanlösungen färbbar sind, hat *Romeis* seine Methode der Sudanfärbung mit einer Lösung des Farbstoffes in 40° Alkohol vorgeschlagen. Überhaupt sollte man die Ergebnisse der Lipoidfärbung in vitro auf die Darstellung der Fettsubstanzen in den Geweben nicht ohne weiteres übertragen, da die Verhältnisse im letzten Falle doch ganz andere sind.

Entgegen *Romeis* schreiben *Froboese* und *Spröhnle* den kolloiden Eigenschaften verschiedener Sudanlösungen eine große Bedeutung zu. Meines Erachtens wird der verschiedene Färbungseffekt bei Anwendung der üblichen Sudanlösung, des Sudan III- α -Naphthols und der gekochten Sudanlösungen nebst anderen zur Zeit unbekannten Faktoren auch durch den Dispersitätsgrad der Farbstofflösungen bedingt. Meine Versuche mit Dialyse der betreffenden Sudanlösungen zeigten, daß diese mit wechselnder Geschwindigkeit verläuft. Die verschiedene Durchsichtigkeit dieser Lösungen ist schon mit bloßem Auge zu erkennen. Die geringste Durchsichtigkeit und Dialysegeschwindigkeit, d. h. die größte Dispersität und zugleich den besten Färbungseffekt ergibt die von mir vorgeschlagene Sudan- α -Naphthollösung.

Es ist zu vermerken, daß Sudan III (Scharlach R)- α -Naphthol keine neuen, dem Sudan fremden Bestandteile enthält, denn sowohl im Sudan

(Benzol-Azo-benzol-azo- β -Naphthol), wie auch im Scharlach R (Toluol-azotoluol-azo- β -Naphthol) ist die Naphtholgruppe als Bestandteil des Farbstoffes enthalten.

Bei Betrachtung der Bedingungen des Lipoidnachweises mit Sudan III müssen noch einige Faktoren berücksichtigt werden, die nach den Literaturangaben die Färbungsergebnisse beeinflussen. Zu diesen Faktoren gehört die Wirkung des Formalins. *Versé* hat gezeigt, daß das Formalin die Lipide zerstört, so daß eine lange Aufbewahrung der Objekte in Formalin die nachträgliche Lipoidfärbung beeinträchtigt. Dagegen habe ich bei Anwendung meiner Methode der Lipoidfärbung, sogar nach langjährigem Aufbewahren der Objekte im Formalin, keine Verminderung des Färbungseffektes beobachten können. Ich ziehe sogar vor, die Gewebstücke in stärkeren (10—20 %) Formalinlösungen zu fixieren; manchmal halte ich auch die Schnitte bis zur Färbung in solchen Lösungen. Auch *Szuntrock* empfiehlt zur besseren Lipoidfärbung Sudanlösungen mit Formalinzusatz zu gebrauchen.

Ein anderer, die Resultate der Sudanfärbung beeinflussender Faktor, der im Schrifttum erwähnt wird, ist die Nachfärbung der Kerne mit Hämatoxylin. Tatsächlich konnte ich mich davon überzeugen, daß in einigen Fällen, z. B. bei der Darstellung der Fettablagerungen in den Gefäßwandungen sowie in anderen Objekten die Sudanfärbung beim Nachfärben mit Hämatoxylin manchmal teilweise verschwinden kann.

Die Abschwächung bzw. das teilweise Verschwinden der Sudanfärbung ist dabei um so ausgesprochener, je schwächer der bei Sudanfärbung erlangte Effekt war, insbesondere also bei der üblichen Sudanfärbungsmethode.

Die Anwendung verschiedener Lipoidfärbungsmethoden hat über die bloße Ermittlung von Lipoidstoffen hinaus auch die allgemeinen Anschauungen vieler Forscher über die Entstehung der Zellverfettung beeinflusst. Dieser Umstand tritt bei Betrachtung der Ergebnisse besonders deutlich hervor, die von verschiedenen Forschern bei Färbung der Lipide in den Leukocyten erhalten wurden.

Eben für dieses Objekt bestehen die größten Verschiedenheiten in den Angaben der Verfasser über den Lipoidnachweis, und dieser Umstand hat seinerseits auch auf die Deutung der Zellverfettung im allgemeinen einen gewissen Einfluß ausgeübt.

R. Heidenhain, dem es gelungen ist die Körnelung in den Eosinophilen durch Osmierung darzustellen, verhält sich gegen die Anerkennung der fettigen Natur dieser Körnchen skeptisch: „Nicht alles ist Gold, was glänzt“ (zit. nach *M. Heidenhain*). *Arnold* hat in den Eosinophilen der Frösche, denen ölsaures Natron verfüttert war, sudanophile Körnchen gesehen, die den üblichen eosinophilen Granula entsprachen und erklärt das Auftreten dieser Körnchen durch Fettspeicherung. Viele (darunter auch neuere) Forscher, denen es gelungen ist, positive Lipoidfärbung in

den Eosinophilen zu erlangen, deuten diese Zellen als Fettphagocyten und sind der Meinung, daß sie sich am Fettstoffwechsel beteiligen.

Das Vorkommen einer positiven Lipoidfärbung in pathologisch veränderten Leukocyten, z. B. im Eiter, ist nach *Aschoff* dadurch zu erklären, daß diese Zellen mit Fett infiltriert werden. Anderen Entstehungsarten von Fettstoffen in den Leukocyten sowie in anderen Zellen schreibt

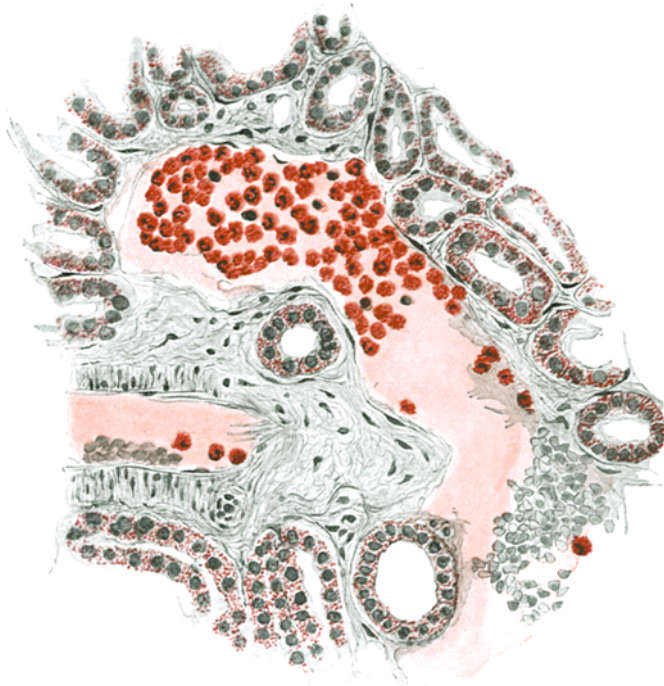


Abb. 1. Rindenschicht der Niere. 37jähriger Mann (Nierenentfernung wegen eines zufälligen Trauma. Erklärung dieser, sowie der übrigen Abbildungen siehe im Text. Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylinfärbung.

Aschoff im allgemeinen eine nur unbedeutende Rolle zu. Seiner Meinung nach „hat die Annahme einer endogenen Fettbildung bzw. die Theorie des sog. Sichtbarwerdens der Fette, keine Stütze erhalten“.

Ebenfalls als Infiltration deutet *Aschoff* das Vorkommen lipoider Einschlüsse in den Leukocyten in anämischen Infarkten der Niere, Milz usw. Auch ich habe verschiedene nekrotische Gewebe (Infarkte, tuberkulöse Herde usw.) speziell untersucht und konnte mich in der Tat davon überzeugen, daß sogar bei Anwendung der üblichen Sudanfärbungsmethode ein Teil der Leukocyten positive Lipoidfärbung ergibt. Diese Untersuchungen führten mich jedoch zu einer anderen Erklärung des Vorkommens von Lipoidgranula in diesen Zellen. Es werden nämlich

in diesen Fällen mit der üblichen Sudanfärbungsmethode solche Lipoidsubstanzen dargestellt, die unter normalen Bedingungen mit dieser Methode nicht nachzuweisen sind und nur bei der Sudan- α -Naphtholfärbung sich leicht darstellen lassen. Weiterhin ist es von Interesse, daß in Gefäßen, die sicherlich lipoidämisches Plasma enthalten, bei Anwendung der üblichen Sudanfärbungsmethode keine positive Lipoidfärbung in normalen Leukocyten auftritt, wogegen meine Methode der Sudanfärbung die in Leukocyten gewöhnlichen Lipoidsubstanzen deutlich hervortreten läßt. In den erwähnten Beispielen also findet keine Lipoidinfiltration der Leukocyten statt, sondern es handelt sich nur um eine Darstellung der diesen Zellen eigenen Lipoidgranula, die sich unter normalen Bedingungen mit der üblichen Sudanmethode nicht nachweisen lassen.

Zur Erläuterung dieser Darlegungen führe ich folgendes Beispiel an:

37jähriger Mann (Chirurgische Abteilung des Hafen-Krankenhauses, 27. 11. 32). Nierenentfernung wegen eines zufälligen Trauma.

Abb. 1. zeigt einen mit *Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylin* gefärbten Schnitt durch die Niere. In der Rindenschicht eine Vene und die sie begleitende Arterie mittelgroßen Kalibers. Plasma in den Gefäßen mit Sudan gefärbt. In der Vene zeigen zahlreiche Leukocyten normale Lipoidkörnelung. In Lumen der Arterie weisen 3 neutrophile Leukocyten ebenfalls lipoid Granula auf. Das Epithel der Nierenkanälchen besitzt kleine lipoid Körnchen.

Abb. 2. Ähnlicher Schnitt, gewöhnliche *Sudan III-Hämatoxylinfärbung*.

Das in den Gefäßen enthaltene Plasma ist ebenfalls sudanophil. Das Plasma in den kleineren Gefäßen läßt sich, im Gegensatz zum obigen Präparate, mit Sudan nicht färben. In der Vene und in sämtlichen anderen Gefäßen sind Lipoidgranula in Leukocyten nicht nachzuweisen. Das Epithel des Nierenkanälchens enthält keine Lipoidkörnelung.

Der Unterschied in der Darstellung der Lipidstoffe mittels der von mir vorgeschlagenen Methode im Vergleich zu der üblichen Sudanmethode bezieht sich nicht allein auf „integrale“ Lipide, sondern auch auf diejenigen Lipoeinschlüsse, die zweifellos infiltrativen Charakters sind. Der Nachweis der Lipidstoffe infiltrativer Herkunft wurde von mir sowohl am pathologisch-anatomischen Material als auch an Versuchs-

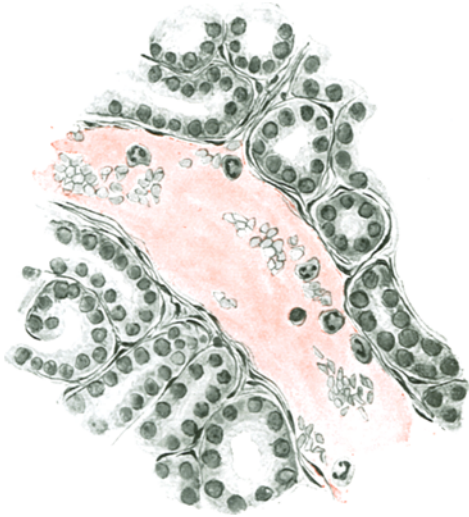


Abb. 2. Derselbe Schnitt, wie auf Abb. 1.
Sudan III-Hämatoxylinfärbung.

tieren ausgeführt, die einer Cholesterinölfütterung unterworfen waren. Der Unterschied in der Lipoiddarstellung wurde für Gefäßlipoidose, Lipidämie des Plasmas, Verfettung hyalinisierter Gewebe (Hyalinose der Nierenknäuel) usw. festgestellt.

Als Beispiele führe ich folgende Beobachtungen an.

1. Hund, 7 Jahre alt. (Versuche von Privatdozent Dr. Zinserling; langdauernde Fütterung mit in Sonnenblumenöl gelöstem Cholesterin.)

Längsschnitte aus dem Bulbus aortae.

Mikroskopische Untersuchung: mit *Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylin* gefärbter Aortenwandschnitt. Ziemlich erhebliche Verfettung der Grundsubstanz aus den tiefen Schichten der Intima, besonders im Bereiche des Aortenostiums. Bedeutende Ausdehnung der Verfettung in der Media.

Mikroskopische Untersuchung: analoger Schnitt; *Sudan III-Hämatoxylinfärbung*. Verfettung in den entsprechenden Teilen der Intima ist kaum zu bemerken. In der Media ist keine Verfettung wahrnehmbar.

2. Schnitt durch die narbig veränderten Teile einer tuberkulösen Niere (Hafen-Krankenhaus, 32jähriger Mann, Sektionsprotokoll Nr. 59, 26. 2. 33).

Am Rande des tuberkulösen Herdes stark hyalinisierte Knäuel.

Bei der Färbung mit *Sudan III- α -Naphthol* sowie mit der üblichen und mit gekochter Sudanlösung wurden verschiedene Grade des Lipoidnachweises erhalten; nämlich: bei *Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylinfärbung* enthalten fast alle hyalinisierten Knäuel große Lipoidmengen. In den Arterien kommen die Lipide stellenweise in Form staubartiger Körnelung in der inneren Schicht vor. Im interstitiellen Gewebe sowie in den Gefäßlumina sind polymorphkernige Leukocyten mit Lipoidgranula enthalten. Bei Färbung mit der üblichen Sudanlösung ist in den hyalinisierten Knäueln und kleinen Gefäßen eine nur ganz geringe Fettablagerung nachweisbar. Im Stroma kommen vereinzelte Makrophagen mit Fetteinschlüssen vor. In den Leukocyten keine Lipoidgranula.

Bei Färbung mit gekochter Sudanlösung ähnliches Bild der Verfettung der hyalinisierten Knäuel, zum Teil auch der Arterien wie bei *Sudan III- α -Naphtholfärbung*. Die Makrophagen im Stroma enthalten ebenfalls Lipoideneinschlüsse. Im Stroma wie auch in den Gefäßen enthalten jedoch die Leukocyten keine Lipoidgranula. Die Differenzierung der leukocyitären Infiltrate ist infolge der fehlenden Lipoidfärbung der Leukocytengranula sehr erschwert.

Ich könnte noch zahlreiche weitere Beispiele anführen, die den Unterschied im Lipoidnachweis bei Anwendung verschiedener Sudanfärbungsmethoden sehr anschaulich hervortreten lassen.

Diese Arbeit bezweckt jedoch nicht nur den praktischen Wert der *Sudan- α -Naphthol-Färbungsmethode* zu zeigen, sondern es soll hier durch parallele Anwendung verschiedener Sudanlösungen eine tiefere Einsicht in die chemischen Verbindungen gewonnen werden, mit denen die Lipoidsubstanz verbunden ist.

Die Schwierigkeit des Nachweises der Lipoidsubstanzen, sowie die ungleichen Färbungsergebnisse bei Anwendung verschiedener Sudanmethoden weisen darauf hin, daß wir es in vielen Fällen nicht mit freien

Lipoiden zu tun haben, sondern mit Lipoiden, die mit bestimmten chemischen Verbindungen gekoppelt sind, d. h. mit Eiweißlipoidkomplexen. Dafür spricht auch das Verhalten der Lipoidsubstanzen in den Zellen einer und derselben Art, z. B. in denjenigen der myeloischen Reihe. Die Lipoidgranula erscheinen im Zelleibe der Stammzellen erst in späteren Reifungsstadien (*Goldmann*) und zeigen in den einzelnen Leukocytenarten (in den Neutrophilen und Eosinophilen) eine verschiedene Resistenz den fettzerstörenden Agenzien (Wärme, chemische Substanzen) gegenüber. Eine andere Resistenz als die Lipoidkörnchen in den Eosinophilen und Neutrophilen zeigen ferner diejenigen in den Monocyten. Die größere Resistenz besitzen dabei die Lipoidgranula der Eosinophilen, die geringste diejenige in den Monocyten. Dasselbe Verhalten wie ich es früher festgestellt habe, zeigen auch die Oxydasekörnchen¹.

Durch Änderung der Wirkungskdauer verschiedener Agenzien ist es mir gelungen, im Präparate die Lipoid- (bzw. Oxydase-) Granula in den Monocyten zu zerstören, während sie zu gleicher Zeit in den Eosinophilen und Neutrophilen erhalten blieben; oder es gelingt eine positive Lipoid- (bzw. Oxydase-) Färbung nur in den Eosinophilen zu erhalten, in welchen auch der Eiweißlipoid- (Oxydase-) Komplex die größte Resistenz aufweist. *Hamperl* hat bei seinen Untersuchungen über Gastritis ebenfalls eine positive Oxydasefärbung (durch Alkalizusatz zum Oxydasereagens) nur in den Eosinophilen erhalten, während in den Neutrophilen die anscheinend weniger resistente Oxydaseverbindung zerstört wurde. Mit dieser Methode konnte *Hamperl* die genaue Differenzierung der Neutrophilen und Eosinophilen durchführen.

Außer der größeren Resistenz zeichnen sich die Lipoidgranula in den Eosinophilen auch dadurch aus, daß sie leichter als in anderen Leukocytenarten bei Sudanfärbung darstellbar sind. Während die Färbung der normalen Lipoidkörnelung der Leukocyten im allgemeinen keine genügende Beachtung gefunden hat, treffen wir im Schrifttum viele Hinweise auf die Sudanophilie eben der eosinophilen Granula.

Die ersten erfolgreichen Versuche, die lipoiden Struktur der Leukocytengranula systematisch darzustellen wurden eben an Eosinophilen ausgeführt. Die Unbeständigkeit des Nachweises der Lipoidkörnelung in den Eosinophilen hat verschiedene Forscher veranlaßt, diesen Zellen unrichtigerweise eine gewisse Rolle im Fettstoffwechsel zuzuschreiben.

Wenn in der Tat die Resultate der Lipoidfärbung von der Natur des Eiweißlipoidkomplexes abhängen, so muß dieser Umstand sich besonders bei den pathologischen Zuständen kundgeben, bei denen die Eiweißlipoidverbindung starke Veränderungen erfahren kann. Wie bekannt,

¹ Wir unterwerfen diese Färbung einer kurzen Betrachtung, weil, wie es aus einer Reihe Untersuchungen erhellt (*Dietrich, Mitzuda, Sehr, Goldmann, Pfuhl* u. a.) die Lipoidstoffe und das Oxydaseferment aufs engste miteinander verknüpft sind.

lassen sich in degenerierten Leukocyten, in den Eiterkörperchen, sudanophile Granula des öfteren bereits bei Anwendung der üblichen Sudanfärbungsmethode nachweisen. Mit der Erforschung der Fettsubstanzen in den Leukocyten bei verschiedenen pathologischen Prozessen befaßte sich eine Anzahl von Autoren. Die ersten Arbeiten auf diesem Gebiete stammen bekanntlich von *Cesaris-Demel*; in der letzten Zeit wurde das Auftreten der Lipoiden in pathologisch veränderten Leukocyten von *Carminati*, *Jonescu* u. a. speziell untersucht.

Die Literaturangaben über Lipoidstoffe in den Leukocyten bei pathologischen Zuständen sind äußerst widersprechend; eben in dieser Frage treten die Unterschiede in den Ergebnissen — je nachdem welche der Sudanfärbungsmethoden angewandt wurde — besonders scharf hervor.

Zur Erläuterung der Bedeutung verschiedener Sudanmethoden bei der Lipoiddarstellung in solchen Fällen führe ich hier folgende Beispiele an:

Mikroskopische Untersuchung. Die Lunge bei croupöser Pneumonie (Hafen-Krankenhaus; Protokoll Nr. 133. 18. 5. 33. 78jährige Frau. Bei *Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylinfärbung*. Die Alveolen enthalten fibrinöses Exsudat mit Leukocyten und einer gewissen Menge Erythrocyten. Sämtliche Leukocyten im Exsudat enthalten Lipoidgranula. Einzelne Makrophagen mit großen Lipoid einschüssen. In den Trabekeln zahlreiche Makrophagen mit Kohlepigment und teilweise mit Lipoid-schollen. Die Leukocyten in den Gefäßen enthalten ebenfalls lipoiden Granula.

Bei Färbung mit *gekochtem Sudan III* ergeben sämtliche Leukocyten in den Alveolen sowie einige Makrophagen positive Lipoidfärbung, wie auch bei Sudan- α -Naphthol. Die in Gefäßen auftretenden Leukocyten erhalten keine Lipoid-granula.

Bei Färbung mit dem üblichen *Sudan III-Hämatoxylin* werden in den Alveolen nur vereinzelte Leukocyten mit positiven Lipoidgranula gefunden. Wir sehen also, daß in pathologisch veränderten Leukocyten (in fibrinösem Exsudat) die Lipoid-körnchen nur bei Sudan- α -Naphtholfärbung oder bei Färbung mit der gekochten alkoholischen Sudanlösung hervortritt, während die übliche (nicht gekochte) Sudanlösung die Körnchen nur in einem Teil der Leukocyten färbt.

In normalen Leukocyten treten die Lipoidgranula bei Färbung mit der üblichen, ja sogar mit gekochter Sudanlösung, gar nicht hervor, bei Sudan- α -Naphtholfärbung lassen sie sich jedoch stets sehr deutlich nachweisen.

Aber auch bei pathologischen Prozessen läßt sich die Lipoidkörnchen in den Leukocyten mit der üblichen Sudanlösung bzw. mit gekochten Sudanlösungen nicht immer darstellen. So habe ich z. B. in einem Falle von akuter Nephritis beim Menschen nach Vergiftung mit Quecksilbercyanid lipoiden Substanzen in den Leukocyten des interstitiellen Nierengewebes nur mit der Sudan III- α -Naphtholmethode darstellen können.

Nierenpräparat. Vergiftung mit Quecksilbercyanid (Hafen-Krankenhaus. Protokoll Nr. 28. 20. 3. 33). 27jährige Frau (Abb. 3). Färbung mit Sudan- α -Naphthol-Hämatoxylin. Arterien und Arteriolen im allgemeinen unverändert; nur kommt zuweilen in den Arteriolen Hyalinose und Verfettung vor, während die Arterien eine schwache Anfärbung der Elastica sowie der Intima mit Sudan aufweisen.

Die Knäuel sind groß, sie füllen den Hohlraum der Kapsel aus. In den Schlingen der Knäuel vereinzelte Leukocyten. Das Stroma ist stark hydropisch, die Capillaren

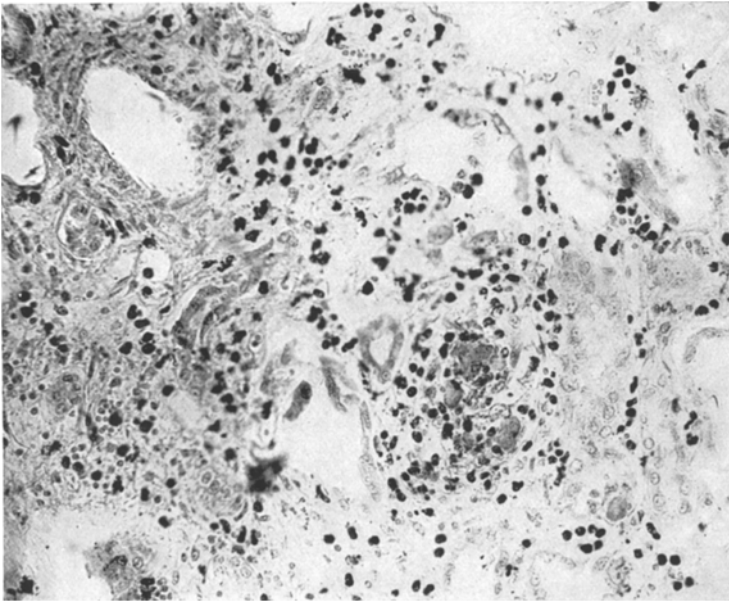


Abb. 3. Schnitt durch die Niere einer 27jährigen Frau nach Quecksilbercyanidvergiftung Sudan III- α -Naphthol-Hämatoxylinfärbung. (Mikrophot).

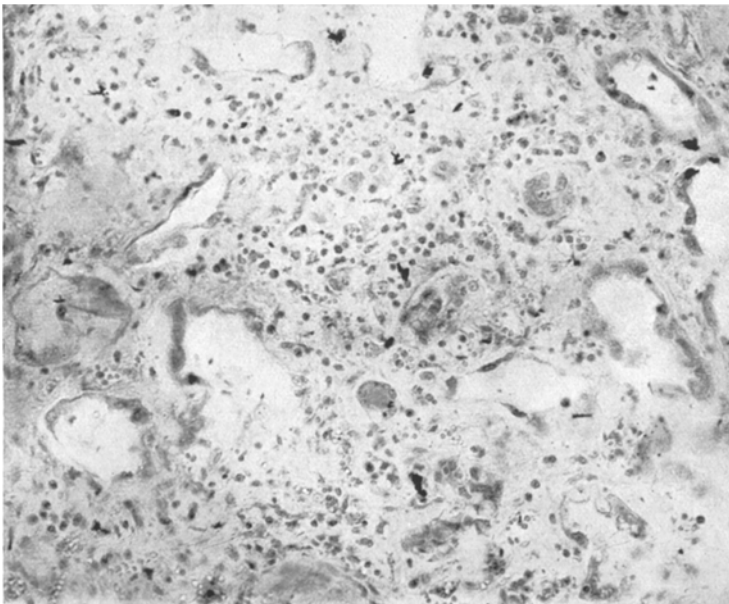


Abb. 4. Schnitt wie auf Abb. 3. Sudan III-Hämatoxylinfärbung (Mikrophot).
Virchows Archiv. Bd. 290.

des Stromas enthalten Erythrocyten in mäßigen Mengen, im Stroma sowie in den Capillaren, zahlreiche Leukocyten die deutliche Lipoidgranula enthalten. Die Kanälchen sind durch das hydropische Stroma auseinandergedrängt und haben erweiterte Lumina. In den Hauptstücken sind einige Kanälchenteile von Epithel entblößt, in anderen sind an der M. propria noch vereinzelte Epithelzellen vorhanden; letztere sind von unregelmäßiger Form mit unebenem Rand, ihre Kerne lassen sich deutlich färben, das Protoplasma ist etwas granuliert, enthält vereinzelt sudanophile Tröpfchen. Außerdem lassen sich in denselben Kanälchen vereinzelte, sehr große der Membrana propria anliegende Epithelzellen sehen. Im absteigenden Abschnitt der Henleschen Schlingen niedriges Epithel, das stellenweise Lipidtropfen enthält. Im aufsteigenden Abschnitte ähnliche Veränderungen wie in den Hauptstücken. Im Lumen des aufsteigenden Schleifenanteiles durch Sudan gefärbte Hyalinzylinder, vereinzelte kugelige Konglomerate aus nekrotischen Massen, Leukocyten (mit sudanophilen Körnchen) und freie Epithelzellen. Das Stroma der Pyramiden ist stark hydropisch, mit Sudan diffus gefärbt, enthält eine Menge Leukocyten mit sudanophilen Granula.

Abb. 4. Analoger Schnitt. Färbung mit Sudan III-Hämatoxylin. Das Stroma der Niere ist stark hydropisch, die hier vorhandenen Leukocyten zeigen keine mit Sudan gefärbten Lipoidgranula. Das Epithel der Nierenkanälchen ist im Vergleich mit dem oben beschriebenen Präparat bedeutend ärmer an Fett.

Die hier angeführten Beobachtungen zeigen, daß nicht bei allen pathologischen Zuständen Änderungen des Eiweißlipoidkomplexes zustande kommen, die sich durch leichte Färbbarkeit der Lipide mit der üblichen Sudanlösung äußern.

In einigen Fällen können bei pathologischen Zuständen die Änderungen der Eiweißlipoidverbindung zum vollständigen Abspalten des Lipoidstoffes von Eiweiß führen mit darauffolgendem Abbau der Lipide, so daß die Sudanfärbung negativ ausfällt (*Goldmann*). v. *Möllendorff*, der die Anschauung der örtlichen Genese der Leukocyten in den Geweben vertritt, weist darauf hin, daß die Leukocyten in Entzündungsherden im Vergleich zur Norm ärmer an spezifischen Granula und Oxydasen sind. Dieser Umstand kann jedoch nicht als Beweis einer örtlichen Genese der Leukocyten dienen, da bei pathologischen Prozessen Veränderungen seitens der Eiweiß- und Oxydase- (bzw. Lipid-) Körnelung stattfinden, die sogar zum völligen Schwinden derselben führen können.

Die Anwendung verschiedener Sudanfärbungen gibt uns gewissermaßen die Möglichkeit über die bei pathologischen Prozessen sich abspielenden Veränderungen des Eiweißlipoidkomplexes zu urteilen. Vor allem lassen die oben angeführten Angaben die Auffassung zu, daß sowohl die „integralen“ als auch anscheinend die infiltrativen Lipide, die durch morphologische Untersuchungen sich in den Geweben nachweisen lassen, nicht in Form freier Fettsubstanzen, sondern als Eiweißlipoidverbindungen auftreten. Hinweise auf das Erscheinen der Lipide infolge einer Abspaltung derselben von den Eiweißsubstanzen finden wir in den Arbeiten von *Albrecht*, *Ciaccio* u. a. (Literatur s. bei *Rössle* und *Gierke*). Aber diese Hinweise beziehen sich hauptsächlich auf die postmortalen autolytischen Veränderungen.

Genauere Untersuchungen über Eiweißlipoidverbindungen, insbesondere was die integralen Lipide betrifft, sind zur Zeit nicht vorhanden. Im Schrifttum sind nur wenige Angaben über physikalisch-chemische Eigenschaften der Gewebe, bzw. deren Strukturelemente zu finden, mit welchen die infiltrativen Lipide in Verbindung stehen, z. B. über das p_H der „Zwischensubstanz“ der Arterien, sowie der Reticuloendothelzellen, die Bedeutung der Azidose bei Fettinfiltration usw. (Schmidtmann, Wacker, Hueck, Rix und Müller).

An meinem Material konnte ich mich davon überzeugen, daß die integralen Lipoidsubstanzen sich in den Strukturen „acidophiler“ Natur besonders deutlich nachweisen lassen. So gelingt unter den Leukocyten die Färbung der Lipoidgranula, wie erwähnt, am leichtesten in den Eosinophilen. Dieser Umstand könnte uns wohl dem Verständnis der Natur des Eiweißlipoidkomplexes näherbringen, doch fehlt es zur Zeit an bestimmten chemischen Daten über das Wesen der Acidophilie.

Nach den modernen Anschauungen ist die Färbung dieser oder jener Strukturelemente z. B. der verschiedenen Leukocytengranula von sehr komplizierten Momenten, nicht einfach von chemischen Eigenschaften abhängig, die seinerzeit von Ehrlich angenommen wurde (Keller). v. Möllendorff hat gezeigt, daß ein und derselbe Farbstoff je nach dem Dispersitätsgrad seiner Lösung sowohl saure als auch basische Stoffe färben kann. Ferner ist von früheren Untersuchern betont worden, daß das Vermögen, Farben aufzunehmen, mit der Dichte der Strukturen verknüpft ist. So hat Pappenheim hervorgehoben, daß das Färbungsvermögen vom „Molekularvolumen“ der Farblösung, sowie von der „Weitporigkeit oder Engporigkeit der Materie“ abhängt. Die Bedeutung der Gewebsdichte für den Färbungseffekt wird zugleich mit anderen Faktoren auch von neueren Forschern angenommen.

Außer der Dichte der Strukturen und der Dispersität der Farbstofflösung sind für die Resultate der Färbung auch Richtung und Größe der elektrischen Ladung, so wie die Umladung der Teilchen von Bedeutung.

Das Verhältnis zwischen Acidophilie und dem Nachweis der Lipoidsubstanz unter normalen Bedingungen läßt sich aus einer Anzahl Beispiele ersehen. So enthalten nach meinen früheren Angaben die basophilen Leukocyten weder nach meiner Methode darstellbare Lipoidsubstanzen noch Oxydase (s. auch die Angaben Epsteins über Oxydase). Diese beiden Einschlüsse sind nur den jungen Basophilen eigen, die, wie bekannt, acidophile Granula enthalten.

Der Umstand, daß die „neutrophile“ Körnelung die Lipoidfärbung aufnimmt, widerspricht dem oben Gesagten nicht.

Aus den Untersuchungen Epsteins (Färbung mit Pikrinsäure und Toluidinblau) läßt sich nämlich ersehen, daß man wohl annehmen darf, daß die Lipoidfärbung auch in den Neutrophilen mit der acidophilen Komponente der Granula verbunden ist. Jedoch enthalten nicht alle acidophile Granula Lipoidsubstanzen, auch geben unter den acidophilen Leukocyten nicht alle die Lipoidfärbung; bei Vögeln und Reptilien z. B. nehmen die Lipoidfärbung nur die runden acidophilen Granula an, während in anderen Acidophilen die Färbung negativ ausfällt.

Meines Erachtens werden wir dem Verständnis der Eiweißstrukturen, mit denen die Lipide verbunden sind, nähertreten, wenn wir das Verhalten dieser Strukturen zur Lipoidfärbung und nicht lediglich die Acido- und Basophilie in Betracht ziehen.

Dieser letzte Umstand wird durch die Tatsache in besonders klarer Weise veranschaulicht, daß wir durch Lipoidfärbung in einigen Fällen die lipoide Körnelung ermitteln können, während das Eiweißkomponent auf tinktoriellern Wege sich nicht nachweisen läßt. So lassen sich z. B. mit meiner Methode die Lipoidgranula im Protoplasma der Neutrophilen des Frosches nachweisen, die gewöhnlich als nichtgranulierte Leukocyten gelten (s. darüber in meiner vorigen Arbeit). Somit gehören diese Zellen zweifellos zu den granulierten Leukocyten, in welchen jedoch die mit Lipiden verbundene Eiweißkörnelung sich mit den üblichen tinktoriellen Methoden nicht aufdecken läßt. Zu den Elementen, die unrichtigerweise als „nichtgranulierte Leukocyten“ betrachtet werden, sind auch die Neutrophilen des Axolots zu rechnen. Am deutlichsten lassen sich die Lipoidgranula in diesen Zellen in der Randzone der Leber nachweisen.

Die enge Beziehung der durch meine Sudanmethode in den Zellen nachweisbaren Lipoidstoffe zu einer bestimmten acidophilen Eiweißstruktur tritt noch deutlicher bei pathologischen Veränderungen der Leukocytenkörnelung hervor. So läßt sich nach meinen Befunden die lipoide Komponente der Granula bei der Umwandlung der neutrophilen Körnelung in eine basophile („toxische“) schon nicht immer nachweisen. *Jonescu* hat die Beziehungen zwischen der toxischen basophilen Körnelung der Leukocyten und den Lipiden untersucht und beobachtete, daß das Auftreten der sudanophilen Granula großen Schwankungen unterliegt. Indessen hat er den Umstand nicht berücksichtigt, daß das Hervortreten der Lipoidgranula von der angewandten Sudanmethode abhängt und daß die Leukocyten auch unter normalen Bedingungen lipoide bzw. sudanophile Granula enthalten.

In dieser Arbeit habe ich die Beziehungen zwischen den Eiweiß- und Lipoidkomponenten hauptsächlich am Beispiele der Leukocytenkörnelung betrachtet, weil die tinktorielle Reaktion dieser Elemente viel besser erforscht ist als die der protoplasmatischen Strukturen anderer Zellarten. Als Bestätigung des Umstandes, daß positive Lipoidfärbung mit Acidophilie auch in anderen Zellarten verknüpft ist, kann die nach meiner Methode ausgeführte Sudanfärbung der Granula in den Belegzellen des Magens dienen. Die Lipoidgranula treten in den Belegzellen des Magens sowohl beim Menschen als auch bei Tieren (Hund, Kaninchen, Maus, Ratte usw.) besonders deutlich hervor.

Die Darstellung der Lipoidsubstanz in anderen protoplasmatischen Strukturen, wie z. B. im Chondriom, gelingt bei weitem nicht in allen Zellen, was anscheinend von etwaigen Verschiedenheiten der chondriomalen Strukturen abhängig ist. Positive Lipoidfärbung mit meiner

Methode wird z. B. in Epithel des Darmes, der Nieren usw. erhalten. Es ist von Interesse, daß *Kon* und *Takeda* bei spezieller Erforschung von tinktoriellen Eigenschaften des Chondrioms eine verschiedene „Fuchsinophilie“ dieses Gebildes in verschiedenartigen Zellen festgestellt haben. Auf die Frage nach den Eigenschaften der protoplasmatischen Strukturen im Zusammenhange mit ihrer Lipoidfärbung komme ich noch in einer nächsten Abhandlung zurück. Weiterhin möchte ich noch die für morphologische Lipoidforschungen wichtige Frage über die Spezifität der Lipoidfärbung mit Sudan III, sowie über die Darstellung der einzelnen Fettarten mit verschiedenen Färbungsmethoden berühren.

Die zahlreichen zur Differenzierung der Fettstoffe vorgeschlagenen Färbungsmethoden (*Albrecht*, *Weigert*, *Smith-Dietrich*, *Eischler*, *Ciaccio* u. a.) wurden in der letzten Zeit völlig diskreditiert (*Kutschera-Aichbergen*, *Kaufmann* und *Lehmann*). Besonders schwere Einwände sind gegen die Spezifität der Methode von *Ciaccio* zum Unterschied der Lecithine von anderen Fettstoffen erhoben worden.

Zwecks Klärung der Frage nach der Resistenz der sich mit Sudan färbenden Lipoidstoffe den Lösungsmitteln gegenüber, versuchte ich nach Formolfixierung die Einbettung der Objekte in Paraffin bzw. Celloidin-Paraffin. Außerdem wurden von mir auch die Gefrierschnitte der Wirkung fettlösender Stoffe (Alkohol, Äther, Xylol, Chloroform u. a.) ausgesetzt. Dabei erwies es sich, daß die Dauer der Extrahierung bis zum völligen Verschwinden der Lipoidstoffe für die einzelnen Gewebselemente verschieden ist. So erfolgt z. B. die Extrahierung der Lipoidstoffe aus den Schnitten der Aortenwand bei Lipoidose nicht gleichmäßig in allen Ablagerungsstellen; während an einigen Stellen schon alle Lipoidstoffe aufgelöst sind, treten sie in anderen Partien noch in größerer Menge auf. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß die verschiedene Löslichkeit der Lipoidstoffe in den Geweben nicht allein durch die Verschiedenartigkeit ihrer chemischen Natur, sondern auch von dem Charakter der Eiweiß-Lipoidverbindung abhängig ist. In dieser Hinsicht kann die Anwendung verschiedener Fixierungsmethoden, unter anderem mit Chromsalzen nach *Ciaccio*, zum richtigeren Verständnis der Beschaffenheit des Eiweiß-Lipoidkomplexes unter normalen wie unter pathologischen Bedingungen beitragen.

Einige Forscher wollen über die Natur der Lipoidstoffe auch auf Grund der Farbentonunterschiede bei Sudanfärbung urteilen. Doch können solche Urteile kaum den richtigen Verhältnissen entsprechen, da bei ein und demselben Tier die Sudanfärbung (*Mitsuhashi*) auch für das neutrale Fett verschiedene Farbtöne ergibt, ja, diese ändern sich sogar, je nach der Größe der Fetttropfen (*Szantroch*). Anscheinend wird der Farbton auch durch die Eiweißkomponente, mit der die Lipoidstoffe verbunden sind, beeinflußt. So ergeben z. B. eosinophile Granula bei Sudanfärbung einen mehr gelblichen Farbenton im Vergleich mit anderen

Leukocytenarten. Die chondriomalen Strukturen des Nierenepithels geben bei der Sudan- α -Naphtholmethode einen gelblichen Farbenton, während die Lipoidkörnelung der Leukocyten orangerot erscheint. Auch die Ungleichartigkeit des käuflichen Sudans kann wohl in einzelnen Fällen einige Unterschiede des Farbentons bei Lipoidfärbung bedingen (*Romeis*).

Zum Schluß möchte ich noch die Frage kurz besprechen ob der positive Effekt der Sudanfärbung, insbesondere der Färbung mit Sudan- α -Naphthol für Lipoide streng spezifisch ist, d. h. ob das Sudan andere Substanzen außer den Lipoiden überhaupt nicht färben kann.

Der erhebliche Unterschied zwischen den Resultaten der Lipoidfärbung mit Sudan- α -Naphthol und den üblichen Sudanlösungen, der für zahlreiche Strukturen, z. B. für die Körnelung in normalen Leukocyten, so deutlich hervortritt, könnte wohl Zweifel erwecken, ob in der Tat die von mir vorgeschlagene Färbungsmethode für Lipoide spezifisch sei. Es ist jedoch gelungen, auch auf chemischem Wege Lipoidstoffe in den Körnchen normaler Leukocyten nachzuweisen, so wurde durch *Neumann* das Vorkommen der Lipoidsubstanz in den eosinophilen Granula beim Pferd bewiesen. Weiterhin gelang es vielen Forschern mittels der üblichen Sudanfärbungsmethode die Lipoidkörnelung in verschiedenen Leukocyten in Blutaussstrichen (Schrifttum bei *Goldmann*) darzustellen; demnach ist die Annahme vollständig berechtigt, daß die Lipoidsubstanzen auch für die Körnelung der in Geweben auftretenden Leukocyten typisch sind.

Die Lipoidnatur der Leukocytenkörnelung läßt sich auch durch den positiven Ausfall der Oxydasefärbung bestätigen (von der Beziehung zwischen Oxydase und Lipoiden war schon oben die Rede). Nun hat sich aber die Oxydasemethode zum Nachweise der Leukocyten in dem Gewebe in der histologischen Technik bereits eingebürgert, während die noch viel leichtere und bessere Resultate ergebende Leukocytenfärbung auf Lipoide bis jetzt noch wenig gebraucht wird.

Die Sudan- α -Naphtholmethode, welche in vielen Fällen die mit üblichem Sudan nicht darstellbare Strukturen hervortreten läßt, vermag jedoch die Granula nicht in jeder Leukocytenart zu färben; so läßt sich die azurophile Körnelung in den Lymphocyten mit der Sudan- α -Naphtholmethode nie darstellen. Dieser Umstand weist neben anderen oben angeführten Gründen darauf hin, daß die Substanz der Leukocyten, welche die Sudan- α -Naphtholfärbung aufnimmt, in der Tat zu den Lipoiden gehört.

In den anderen Strukturelementen, in welchen die Lipoidstoffe mittels der Sudan- α -Naphtholmethode, nicht aber mit der üblichen Sudanmethode sich darstellen lassen, werden die Lipoide an den Stellen nachgewiesen, wo sie überhaupt am öftesten vorkommen, z. B. in den

Wandungen der Aorta, in den hyalinen Nierenknäueln, in amyloiden Ablagerungen usw. (s. oben).

Der Umstand, daß mit der Sudan- α -Naphtholmethode die lipoide Körnelung in normalen Strukturen dargestellt wird, während sie mit der üblichen Sudanfärbung nur bei pathologischen Veränderungen sich färben läßt, spricht, wie mir scheint, ebenfalls für die Spezifität der von mir vorgeschlagenen Methode der Lipoidfärbung, und zwar im Sinne der hier gegebenen Deutung der Änderung des Eiweißlipoidkomplexes. Der wichtigste Beweis der Spezifität dieser Methode besteht endlich darin, daß nach verschieden langer Bearbeitung der Objekte mit lipoidlöslichen Stoffen die positive Lipoidfärbung weder mit dem üblichen Sudan, noch mit Sudan- α -Naphthol mehr zu erzielen ist.

Die Frage, ob nicht nur Lipoide, sondern auch noch andere Stoffe sich mit Sudan färben lassen, ist besonders bei der Erythrocytenfärbung von Wichtigkeit, denn die Sudanophilie dieser Elemente ist an den einzelnen Stellen der Präparate verschieden. Die Schwankungen der Erythrocytenfärbbarkeit treten jedoch auch bei der Färbung auf Oxydase hervor, die nach einiger Anschauung für das „Oxydaseferment“ überhaupt nicht spezifisch ist (*Drury, Lilie, Menten*) (Schrifttum siehe bei *Needham* und *Needham*). Somit bedarf die Frage nach der Spezifität der Lipoiddarstellung in den Erythrocyten mit der Sudanmethode, sowie vielleicht auch in einigen anderen Strukturen einer weiteren Prüfung.

Jedoch hängt augenscheinlich die von mir bis jetzt mit Sudan- α -Naphthol an den verschiedenartigen obenerwähnten, sowie auch noch an anderen Objekten erhaltene positive Lipoidfärbung tatsächlich von der Anwesenheit der Lipoide ab. Ich habe oben darauf hingewiesen, wie stark die Ergebnisse des Lipoidnachweises je nach der Anwendung dieser oder jener Sudanmethode variieren. Durch den Gebrauch verschiedener Sudanfärbungsmethoden hat sich nicht nur der Kreis der „darstellbaren Lipoide“ bedeutend erweitert, sondern wir haben dadurch einen gewissen Ausgangspunkt zur Erforschung bzw. zum Verständnis der Eiweißlipoidverbindungen und deren Änderungen bei pathologischen Prozessen gewonnen. Meines Erachtens ist in allen Fragen des Lipoidstoffwechsels in den Zellen mit der Möglichkeit zu rechnen, daß Lipoidstoffe in solchen Strukturen aufgedeckt werden können, in denen sie früher morphologisch nicht nachweisbar waren. Um vergleichbare und genauere Ergebnisse zu bekommen, möchte ich vorschlagen, die positive Färbung der Körnelung in den normalen Leukocyten als Zeichen einer vollständigen Lipoiddarstellung zu betrachten, da mit diesen Zellen jeder Forscher in der normalen und pathologischen Histologie stets zu tun hat.

Zusammenfassung.

1. Bei der Anwendung verschiedener Färbungsmethoden mit Sudan (übliche Lösung von Sudan III, gekochte Sudanlösung und Sudan- α -Naphthol) beziehen sich die Unterschiede bei der Darstellung der Lipoiden nicht lediglich auf „integrale Lipoiden“ (lipoiden Granula der Leukocyten, im Chondriom u. a.), sondern auch auf Lipoiden von infiltrativem Charakter (Ablagerung von Lipoiden in den Gefäßen, sudanophiles Plasma, Ablagerungen der Lipoiden in hyalinisierten Geweben usw.).

2. Die Unterschiede der Ergebnisse bei verschiedenen Färbungsmethoden mit Sudan hängen zum Teil davon ab, daß die Lipoiden nicht frei, sondern an Eiweiß gebunden vorkommen.

3. Auf Grund der verschiedenen Färbungsmethoden mit Sudan kann man den Verständnis der Eiweißstrukturen, mit welchen die lipoiden Substanzen verbunden sind, nähertreten. Bei Anwendung verschiedener Sudanlösungen ist man imstande, aus dem Grad und der Art der Lipoidfärbung auf die Veränderungen des Eiweißlipoidkomplexes bei pathologischen Zuständen zu schließen.

4. Bei der histologischen Untersuchung kann als Zeichen einer vollständigen Lipoidfärbung die positive Färbung der lipoiden Körnelung in den Leukocyten der myeloischen Reihe dienen.

Schrifttum.

Arnold: Über Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. 1914. — *Aschoff*: Beitr. path. Anat. **47** (1910). — Vorträge über Pathologie 1925. — *Carminati*: Haematologica (Palermo) **1930**, Nr 5. Ref. Zbl. Path. **51** (1931). — *Cesaris-Demel*: Virchows Arch. **195** (1909). — *Ciaccio*: Zbl. Path. **20** (1909); — *Dietrich*: Zbl. Path. **19** (1908). — *Ehrlich*: Farbanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. 1891. — *Epstein*: Zbl. Bakter., Abt. 1, **88** (1927); **103** (1927). *Frobese* u. *Spöhlle*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **14** (1928). — *Gierke*: Pathologische Anatomie von Aschoff. 1928. — *Goldmann*: Zbl. Bakter. Abt. I, **112** (1929). — Zbl. Path. **46** (1929); **58** (1933). Z. mikrosk.-anat. Forsch. **18** (1929). — *Hamperl*: Beitr. path. Anat. **90** (1932). — *Heidenhain*: Plasma und Zelle 1907. — *Jonescu*: Fol. haemat. (Lpz.) **47** (1932). — *Kaufmann* u. *Lehmann*: Virchows Arch. **270** (1928). — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16** (1929). — *Keller*: Die Elektrizität in der Zelle. 1925. — Protoplasma (Berl.) **1** (1927). — *Kon* u. *Takeda*: Trans. jap. path. Soc. **71** (1931). — *Mitsuhashi*: Virchows Arch. **261** (1926). — *Mituda*: Virchows Arch. **245** (1923). — *v. Möllendorff*: Münch. med. Wschr. **1926—29**. — Arch. mikrosk. Anat. **97** (1923). — Ensykl. der mikroskopischen Technik. *Krause*, **1927**, S. 697. — *Needham* and *Needham*: Protoplasma (Berl.) **1** (1927). — *Neumann*: Fol. Haemat. (Lpz.) **32** (1926). — *Pischinger*: Z. Zellforsch. **3** (1926); **5** (1927). — *Pfuhl*: Z. Anat. **99** (1933). — *Rix* u. *Müller*: Z. exper. Med. **78** (1931). — *Rohde*: Pflügers Arch. **158** (1917). — *Romeis*: Virchows Arch. **261** (1926); **264** (1927). — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16** (1929). — *Rössle*: Pathologische Anatomie von Aschoff 1928. — *Sehr*: Histologie und Chemie der Lipoiden der weißen Blutzellen. 1927. — *Schmidtman*: Z. exper. Med. **45** (1925). — *Szantroch*: Virchows Arch. **286** (1932). — Arch. Zellforsch. **13** (1933). — *Traina*: Beitr. path. Anat. **47** (1910). — *Versé*: Verh. dtsch. path. Ges. 21. Tag. **1925**.