

(Aus dem Institut für vergleichende Anatomie der k. Universität Pavia  
(Vorstand: Prof. Dr. M. Vialli).)

## Über die Erzeugung von Gallensteinen durch Vitamin A-Mangel beim Meerschweinchen.

Von

Dr. Vittorio Erspamer.

Mit 7 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 4. Mai 1938.)

### I. Vorwort.

Bevor ich die wenigen in der Literatur über die experimentell durch Avitaminose A erzeugte Cholelithiasis vorhandenen Angaben erwähne, glaube ich, es sei notwendig, ganz kurz an einige andere Erscheinungen zu erinnern, die ebenfalls zum Bilde der Physiopathologie der Avitaminose A gehören. Besonders will ich etwas über das Verhalten der Epithelien, über den Fettstoffwechsel und über das Vorkommen von Steinen in den Harnwegen sagen.

Das Vitamin A scheint eine wichtige Rolle bei der Erhaltung der anatomischen und funktionellen Vollständigkeit der Epithelien zu spielen. Während der Avitaminose A kann man sowohl eine schlechte Ernährung der Haut wie auch deutliche Veränderungen der Struktur der Schleimhäute wahrnehmen. Hier sei nur auf die Untersuchungen von *Wolbach* und *Howe* hingewiesen, die eine manchmal sehr ausgeprägte Keratinisierung und Verhornung in den Luftwegen, in den Speicheldrüsen und in den verschiedenen Abschnitten des *Tractus genito-urinarius* beobachten konnten. Die Keratinisierung kann auch mit atrophischen, degenerativen und entzündlichen Erscheinungen zusammengehen. Manchmal kommt man, z. B. im Magen, sogar bis zur Bildung von tiefen Geschwüren (*Arons* und *van der Rijst*).

Die von mehreren Verfassern während der Avitaminose A beschriebene verminderte Resistenz Infektionen gegenüber scheint nicht nur mit einer Abschwächung der humoralen Verteidigungskräfte in Zusammenhang zu stehen, sondern auch mit den nun erwähnten Veränderungen des epithelialen Gewebes.

Die Untersuchungen über den Fettstoffwechsel haben oft widersprechende Ergebnisse geliefert: doch haben verschiedene Verfasser übereinstimmend ein während der Avitaminose frühzeitig vorkommendes Verschwinden des Reservefettes festgestellt. Es scheinen nicht nur die neutralen Fette, sondern auch die Cholesteride und die Lipine vermindert zu sein. Nicht übereinstimmend sind dagegen die Angaben

über die Cholesterinämie: für manche Verfasser würde diese normal, für andere höher gegenüber der Norm sein.

Eine häufige Erscheinung im Laufe der Avitaminose A ist die Bildung von Harnsteinen.

*Osborn* und *Mendel* (1916) äußerten die Meinung, daß die bei avitaminotisch gefütterten Ratten beobachteten aus Phosphaten zusammengesetzten Steine dem Mangel in der Verabreichung der fettlöslichen Vitamine zuzuschreiben wären. Vielen anderen Verfassern (*Fujimaki, McCarrison, Perlmann und Weber, van Leersum, Langen, Gasparyan und Outschinikow, Blisse und Licermore, Watchorn, Higgins, Oppenheimer und Pollack*) gelang es, mittels verschiedener Kostformen experimentelle Bildung von Harnsteinen beim Hunde, beim Kaninchen und besonders bei der Ratte hervorzurufen.

Die Erklärung des Mechanismus der Steinogenese ist eine verschiedene. Einige Forscher beschuldigen nur den Vitamin A-Mangel, andere den Vitamin A- und D-Mangel, für andere endlich sollte ein allgemeiner mit einem absoluten oder relativen Übermaß des Calciums im Vergleiche zu dem Phosphor begleiteter Diätmangel die wichtigste Rolle spielen. Alle Verfasser sind der übereinstimmenden Meinung, daß keine Steinbildung bei einer Vitamin A- und D-reichen und an mineralen Bestandteilen gut bilanzierten Diät vorkommen kann.

Vor kurzem hat sich in Amerika der „Council on Pharmacy and Chemistry“ mit dem Thema „Vitamin A und Bildung von Harnsteinen“ beschäftigt. Die Ratsversammlung ist zum Schlusse gekommen, es sei bisher nicht möglich, anzuschließen, daß der Vitamin A-Mangel bei der Ratte eine bestimmte Rolle bei der Harusteinbildung spielt, man könne jedoch auch nicht ohne weiteres als bewiesen annehmen, daß allein der Vitamin A-Mangel eine genügende Ursache für die Steinbildung darstellt.

Die ersten Verfasser, die über einen möglichen Zusammenhang zwischen Vitamin A-Mangel und Cholelithiasis berichteten, waren wiederum *Osborn* und *Mendel*.

Das Thema wurde von *Fujimaki* wieder aufgenommen und erweitert. *Fujimaki* konnte beweisen, daß, bei den mit einer Vitamin A-armen Diät ernährten Ratten, regelmäßige Steine nicht nur in der Harnblase, sondern auch in den Nieren und in der Gallenblase auftreten. Die Steine der Harnblase beginnen erst nach einer 12wöchigen Behandlung hart zu werden; die Nierensteine, und noch mehr die Gallensteine, brauchen noch längere Zeit (mindestens 4 Monate). *Fujimaki* fand, daß die Gallensteine im allgemeinen aus Cholesterin und Pigmenten zusammengesetzt waren; nur bei einer Gruppe von Tieren, die mit einer nicht nur Vitamin A-freien, sondern auch calcium- und phosphorfreien Diät behandelt worden waren, erwiesen sich die Steine hauptsächlich aus Calciumsalzen zusammengesetzt.

Die Ergebnisse von *Fujimaki* konnte auch *de Langen* bestätigen, indem er, immer bei der Ratte, Harn- und Gallensteine auffinden konnte. Die Harnsteine waren aus Calcium- und Magnesiumphosphaten zusammengesetzt, die Gallensteine hauptsächlich aus Bilirubin und dann aus einer kleinen Menge Cholesterin.

*Emiliani* und *Bazzocchi* bemühten sich, um die Untersuchungen von *Fujimaki* beim Meerschweinchen zu wiederholen und in der Tat gelang es ihnen, durch eine Vitamin A-arme Diät die Bildung von Fremdkörpern in den Gallenwegen des Meerschweinchens zu erzeugen. *Emiliani* und *Bazzocchi* haben ihre Untersuchungen bei mehreren Gruppen von Versuchstieren durchgeführt, indem sie die verschiedenen Gruppen mit verschiedenen Kostformen behandelten, nämlich mit Vitamin A-freier Kost, mit Vitamin A-freier Kost und gleichzeitiger Verabreichung von Cholesterin, mit Vitamin B-freier Kost, mit Vitamin B-freier Kost und gleichzeitiger Verabreichung von Cholesterin.

Hier interessiert besonders die erste Gruppe: Avitaminose A ohne Cholesterinverabreichung. Ich gebe die Ergebnisse von *Emiliani* und *Bazzocchi* zerteilt wieder: „7 von den 12 mit jener Diät behandelten Tieren starben spontan; 5 wurden bei verschiedenen Zeitabständen getötet. Bis zum 28. Tage konnten wir keinen Stein beobachten. Vom 28. bis zum 40. Tage, in welchem das letzte Meerschweinchen starb, wiesen 9 der 10 untersuchten Tiere, und immer in den Gallenwegen, Steine auf. Insgesamt haben wir ein 75%iges Vorhandensein von Steinen festgestellt. Bei den nach dem 28. Tage sektionierten Tieren steigt der Prozentsatz bis zu 90%. Bei der Sektion wurden die Nebennieren fast immer umfangsreicher gegenüber der Norm aufgefunden.“

Ohne irgendeinen Beweis für ihre Behauptungen zu erbringen, betrachten die Verfasser die Steine als Cholesterinsteine und schreiben ihre Genese einer, wahrscheinlich vom Vitamin A-Mangel verursachten, Hypercholesterinämie zu.

*Bazzocchi* und *Galli* haben ähnliche Untersuchungen auch beim Kaninchen durchgeführt und auch hier konnten sie, obwohl seltener als beim Meerschweinchen, Cholesterinsteine (?) zur Entstehung bringen.

## II. Versuchstiere und ihre Haltung.

Für meine Versuche habe ich eine Gruppe von 29 Meerschweinchen beiden Geschlechts, mit einem Gewicht von 120—680 g, benutzt. Die den Tieren verabreichte Kost war aus einer Mischung von Hafer und Weizenkleie (ad libitum) zusammengestellt. Dazu noch Wasser ad libitum. Das Vitamin C wurde bei den ersten 12 Tieren mittels Orangensaft (5--7 ccm pro die) zugeführt; den anderen Tieren wurde reine Askorbinsäure (Cantan *Bayer* — Ascorbina *Erba*) in Mengen von 1 bis 1,5 mg (20—30 I.E.) pro die verabreicht.

Die Kost ist nicht ganz A-frei, enthält aber ungenügende Vitaminmengen. Sie entspricht völlig der von *Emiliani* und *Bazzocchi* benutzten Diät.

## III. Makroskopische Sektionsergebnisse.

Alle Meerschweinchen, mit Ausnahme von 2 kurz nach dem Beginn der Untersuchungen spontan gestorbenen Tieren, sind von mir selbst getötet worden. Das Untersuchungsmaterial wurde sofort noch lebensfrisch in die Fixierungsflüssigkeit gebracht, um damit etwaige postmortale degenerative Erscheinungen mit Sicherheit vermeiden zu können. Oft wartete ich, bevor ich das Tier tötete, bis dasselbe so schlecht aussah, daß man den Tod ganz nahe halten mußte.

Die Untersuchungen haben, wie aus der Tabelle hervorgeht, 3 bis 78 Tage gedauert. Bei allen Tieren, mit Ausnahme von 3, habe ich einen verschieden großen, am höchsten 40%igen Gewichtsabfall beobachtet. Ich habe keinerlei Beziehungen zwischen dem, seinerseits mit dem Tieralter zusammenhängenden, Anfangsgewicht und der prozentigen Gewichtsabnahme feststellen können.

Das Herannahen des Todes ließ sich besonders durch die im allgemeinen höher als 20%ige Gewichtsabnahme, durch den Appetitmangel und den Verlust der gewöhnlichen Munterkeit erkennen.

Die morgens tot gefundenen Meerschweinchen 12 und 16 wurden bei der histologischen und histochemischen Untersuchung der Leber und der Gallenwege nicht verwertet. Doch muß ich sagen, daß bei diesen beiden Tieren die Gallenblase und die Gallenwege mit einem Brei ausgefüllt waren, der ganz ähnlich so in der mikroskopischen Struktur wie auch in der Zusammensetzung aussah als die Bildungen, die ich weiter als „Gallensteine“ und „Gallensand“ beschreiben werde. Auf jeden Fall habe ich bei der Darstellung der Tabelle und bei der Rechnung der Prozentsätze das Vorhandensein von solchen Gewebstrümmern nicht aufgemerkt, da es sich, mindestens zum Teile, um sicher postmortale Veränderungen handelte.

Tabelle.

Meerschweinchen	Dauer der Versuche (Tage)	%ige Gewichtsabnahme bzw. -zunahme	Vorkommen von Steinen in den Gallenwegen	Vorkommen von Lipiden in den Gallenwegen	Vorkommen von Lipiden in der Leber	Bemerkungen
1	21	— 13	—	—	—	
2	55	— 22	—	—	+	
3	63	— 6	—	—	+	
4	51	— 10	+	++	+	
5	63	— 2	—	—	+	
6	54	— 17	+	—	—	
7	33	— 10	—	—	—	
8	43	— 7	—	+	+	
9	43	— 1,5	—	—	+	
10	50	— 7	++	+	—	
11	63	— 6	—	—	—	
12	5					Unbrauchbares Tier
13	78	— 0	—	—	—	
14	5	— 11	+	++	+	Geschwür der Gallenblase
15	58	— 30	+	—	—	
16	3					Unbrauchbares Tier
17	48	— 23	+	+	+	
18	78	— 10	+	—	+	
19	78	— 3	—	—	+	
20	78	— 17	+	++	++	
21	30	— 25	+	—	+	
22	36	— 27	+	+	+	Geschwür des Coecums
23	41	— 9	+	+	+	Geschwür des Coecums und der Gallenblase
24	78	— 16	+	—	+	
25	78	— 12	—	—	++	
26	11	— 40	++	++	++	
27	50	— 36	+	+	+	Geschwür der Gallenblase
28	47	— 34	+	+	+	
29	40	— 38	—	++	+	

Bei der Sektion meiner 27 Tiere konnte ich in 10 Fällen die Anwesenheit von Steinen (die ich weiter eingehend beschreiben werde) in der Gallenblase und im Cysticus feststellen. In 5 weiteren Fällen war so in der Gallenblase wie auch im Cysticus und im Choledochus eine mäßige Menge von gelblichen, sehr beweglichen Flöckchen vorhanden, die ein ganz den obenerwähnten Steinen ähnliches Aussehen und eine ähnliche Struktur darboten. Wenn ich auch, wie *Emiliani* und *Bazzocchi*, für die gelblichen Flöckchen die Bedeutung von „Gallensand“

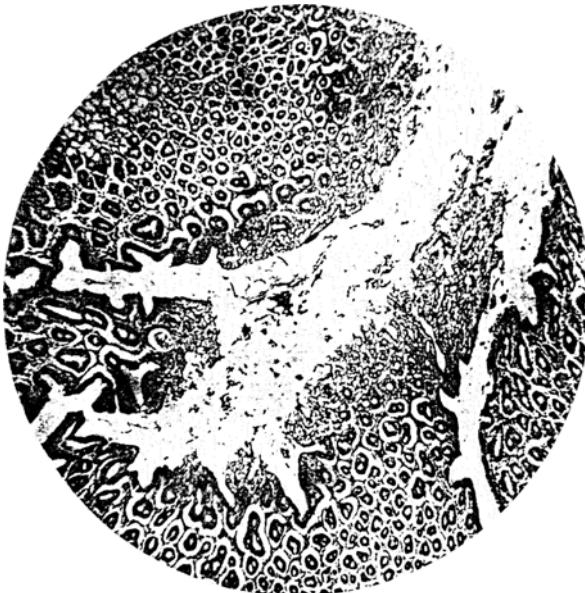


Abb. 1. Hochgradige Nekrose der Zottenspitzen im Duodenum des Meerschweinchens (Nr. 23).

zugeben will, so darf ich sagen, daß bei 15 der 27 untersuchten Tiere, d. h. bei mehr als der Hälfte der Tiere, eine Lithiasis vorhanden war. Wie man sich überzeugen kann, ist mein Prozentsatz, obwohl meine Untersuchungen länger gedauert haben, erheblich niedriger als der von *Emiliani* und *Bazzocchi*.

Die ersten Steine sind von mir schon nach 5 und 11 Tagen gefunden worden.

In einigen Fällen verriet die Leber, schon makroskopisch, durch ihre gelbliche Farbe einen reichlicheren Lipidengehalt.

Bezüglich des Darmkanals bemerke ich, daß ich im Blinddarm des 22. und des 23. Meerschweinchens einige breite Geschwüre beobachtet habe. Im Duodenum des 23. Meerschweinchens war auch eine hochgradige Nekrose mehrerer Zottenspitzen vorhanden (Abb. 1): ein solcher

Befund steht übrigens in voller Übereinstimmung mit den von *Cramer* (1923) im Darmkanal von A-avitaminotischen Ratten beschriebenen und abgebildeten Erscheinungen. Die Untersuchung der Harnwege ist fast immer erfolglos gewesen: nur beim 4. Meerschweinchen war die Harnblase mit einem erbsengroßen Stein und mit einer kleinen Menge trüben Harnes gefüllt.

Mikroskopisch erwies sich der Stein aus Keratinanhäufungen zusammengesetzt. Das Epithel der Harnblase war überall stark keratinisiert. Oft konnte ich auch Streifen keratinisierter Zellen treffen, die sich vom Epithel abzulösen schienen.

Niemals gelang es mir, in den Harnwegen aus Calcium- oder Magnesiumsalzen zusammengesetzte Steine zu beobachten.

#### IV. Struktur der „Steine“ und des „Gallensandes“.

Die Gallensteine haben das Aussehen von rundlichen, gelblichen oder bräunlichen, höchstens wie ein Nadelkopf dicken Körperchen. Im allgemeinen sind sie beweglich, manchmal aber haften sie an der Gallenblasewand: sie sind immer weich und bei grober Untersuchung scheinen sie aus Fäden und aus gelb-bräunlichen Klümpchen zusammengesetzt zu sein. Niemals habe ich innerhalb der Steine harte Teilchen gefunden.

Wenn man einen Stein unter dem Mikroskop durchmustert, nachdem man ihn zwischen dem Objektträger und dem Deckglase zerquetscht hat, so kann man sehen, daß die Fäden und die Klümpchen aus Schnürchen von abgefallenen mehr oder weniger degenerierten Epithelzellen, aus Schleimflocken und aus Anhäufungen gestaltloser Zellenabfälle zusammengesetzt sind. Alles ist stark durch Gallenpigmente gelblich oder grünlich gefärbt.

Die Untersuchung der Gallensteine im polarisierten Licht fällt immer negativ aus. Wenn man die Gallensteine mit Scharlachrot behandelt, so beobachtet man, daß die Lipide außerordentlich spärlich sind und



Abb. 2. Degenerierte Epithelzellenketten im Lumen eines großen intrahepatischen Ganges (Meerschweinchen Nr. 14).

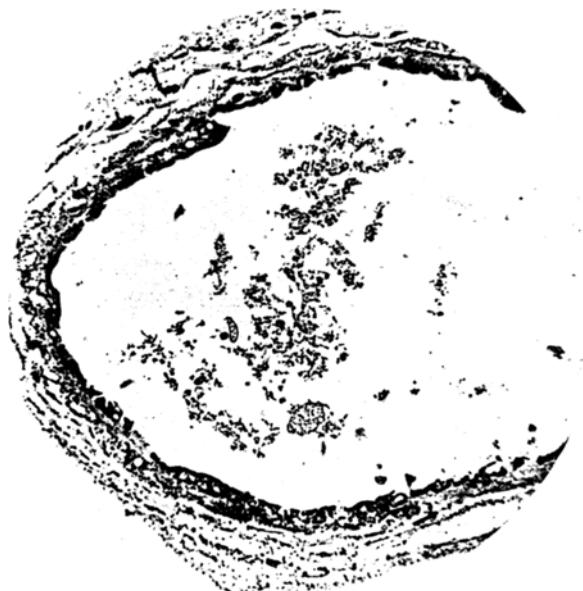


Abb. 3. Schnitt eines „Steines“ des Choledochus. Der Stein ist aus Zelltrümmern und Schleimflöckchen zusammengesetzt (Meerschweinchen Nr. 14).



Abb. 4. Schnitt eines „Steines“ der Gallenblase. Degenerierte Zellenketten, Zelltrümmer, Schleimflöckchen (Meerschweinchen Nr. 26).

daß solche Lipide nur durch feine zerstreute Tröpfchen vertreten sind. Die Reaktion nach *Liebermann-Burchardt* zum Nachweis der Cholesteride

fällt ebenfalls stets negativ aus. Dieser Befund bringt, zusammen mit den Ergebnissen der Untersuchung im polarisierten Lichte den Beweis, daß die Gallensteine vollkommen cholesterinfrei sind.

Die Durchmusterung von Schnitten einiger in Paraffin eingebetteter Gallensteine erlaubte mir wiederum festzustellen, daß die Gallensteine aus sich lebhaft mit Mucicarmin färbenden Fäden, aus sehr feinen Zelltrümmern und aus vereinzelten oder kettenweise verbundenen abgefallenen Epithelzellen zusammengesetzt sind (Abb. 2, 3, 4).

Die vereinzelten Zellen und die Zellenketten weisen verschiedene Veränderungen in der Färbbarkeit des Protoplasmas auf. Regressive Erscheinungen sind auch fast immer beim Nucleus deutlich: es gelingt alle Übergangsstadien von einem normalen Nucleus zu einem leeren, hellen, nur Reste des Chromatins enthaltenden Bläschen zu treffen.

Die Struktur des „Gallensandes“ gleicht im ganzen jener der Gallensteine.

#### V. Mikroskopische morphologische und histochemische Ergebnisse.

a) *Allgemeines.* In der Gallenblase und in den extra- und intrahepatischen Gallengängen kann man oft die Anwesenheit von Zelltrümmern und von abgefallenen Epithelien feststellen. Und das gelingt nicht nur, wenn schon makroskopisch Gallensteine oder Gallensand vorhanden sind, sondern auch, wenn solche Bildungen durch eine gröbere Untersuchung nicht nachzuweisen sind.

Die Struktur der Trümmer und der abgefallenen Epithelien ist ganz ähnlich der Struktur der Gallensteine: man muß natürlich ins Auge fassen, daß die Masse der mikroskopischen Zelltrümmer immer eine sehr beschränkte ist. Schon im Choledochus und im Hepaticus habe ich hier und dort Bezirke ohne Epithelauskleidung sehen können. Die Gallenblase ist aber das Organ, das gewöhnlich die schwersten Beschädigungen wahrnehmen läßt. Hier gibt es nämlich nicht nur eine einfache mit einer entzündlichen Reaktion des darunterliegenden Bindegewebes begleitete Desquamation der Epithelzellen, sondern manchmal hat man sogar mit der Bildung von echten auch in das Stratum fibromusculare eindringenden Geschwüren zu tun (Meerschweinchen 14—23—27). Beim 23. Meerschweinchen dringt das 3—4 mm breite Geschwür bis in die tiefsten Schichten der Tunica fibromuscolaris ein (Abb. 5). Das Geschwür ist noch mit einem dicken aus Zelltrümmern, Schleimfäden und aus Resten von Bindegewebsfasern zusammengesetzten Schorf überkleidet. Der Schorf ist, wie gewöhnlich, vom gesunden Gewebe mittels eines an Makrophagen und an Leukocyten sehr reichen Gewebsstreifen getrennt.

Die Wand der Gallenblase ist überall sehr dick und stark infiltriert. Manche Venen sind durch Thromben verschlossen, andere Venen haben ihre Wände mit schwarzen Pigmentkörnchen vollgestopft. Hier und dort

kann man auch Fetzen von nekrotischem Gewebe antreffen, die im stande sind, sich von dem noch an der Wand haftenden Schorf freizumachen. Ähnliche, doch nicht so tiefe und so weite Geschwüre, sind auch beim 18. und beim 27. Meerschweinchen aufgefunden worden.

*Galli* und *Bazzocchi* beschreiben, bei den nach längerer Zeit gestorbenen Versuchstieren, deutliche Veränderungen an den Wänden der Gallenblase: es handelt sich um sklerotische Prozesse, die von einer Schrumpfung und Verkleinerung des Organs begleitet sind. Man darf



Abb. 5. Geschwür der Gallenblase. Das nekrotische Gewebe ist vom gesunden Gewebe mittels einer stark infiltrierten Schicht getrennt (Meerschweinchen Nr. 23).

wohl annehmen, daß die Sklerose manchmal die Folge und das Ergebnis der Narbenbildung der von mir beschriebenen Geschwüre darstellt.

Niemals und nirgends findet eine Keratinisierung der Epithelzellen statt. Nicht selten ist in der Gallenblase und in den Gallenwegen eine sehr starke apokrine Sekretion vorhanden. Es ist schwer zu entscheiden, ob eine solche Erscheinung direkt oder indirekt dem A-Mangel zugeschrieben werden darf oder nicht: durch die Untersuchungen von *Mathis* ist uns nämlich bekannt geworden, daß auch unter ganz normalen Bedingungen sehr starke individuelle Schwankungen in der Intensität der apokrinen Sekretion vorhanden sein können. Die von *de Ruyter* und *Rosenthal* bei den A-avitaminotischen Ratten beschriebenen Nekrosen und Wucherungen des Leberbindegewebes konnte ich beim Meerschweinchen nicht feststellen.

*b) Vorhandensein von Lipoiden in der Leber und in den Gallenwegen.* Zur Darstellung der Lipide habe ich das Scharlachrot und das Sudanschwarz B angewendet. Cholesteride und Lipine habe ich mittels des Polarisationsmikroskops und mittels der *Liebermann-Burchardtschen* Methode untersucht.

Bei etwa 12 Kontrolltieren haben sich die Gallenwege als durchaus frei von Fettkörnchen erwiesen. Solche Ergebnisse, die übrigens auch für alle andere pflanzenfressende Säugetiere gelten (*Erspamer*), stimmen mit den Untersuchungen von *Ranvier* und *Cabibbe* vollständig überein.

In der Leber und in den Gallenwegen der avitaminotischen Versuchstiere habe ich folgendes beobachtet:

1. Das Epithel der Gallenblase ist in 7 Fällen mit einer spärlichen oder mäßigen Menge von fettigen Tröpfchen versehen. Die Tröpfchen sind immer fein und sind vorwiegend oder ausschließlich im basalen Zellabschnitte angesammelt. Nicht in allen Zellen und nicht in allen Bezirken ist das Fett vorhanden. Die scharlachophilen Tröpfchen sind öfters im Epithel der Drüsenschläuche anzutreffen, aber auch hier gibt es recht starke Abweichungen je nach den Bezirken und auch je nach den Zellen. Fettkörnchen sind manchmal auch in bindegewebigen Elementen der Schleimhautfalten enthalten. Die bindegewebigen scharlachophilen Zellen sind gewöhnlich spärlich und niemals erzeugen sie Bilder, die, sei es auch von weitem, an das histologische Aussehen der menschlichen Erdbeerengallenblase erinnern können.

In den Bezirken, wo das Epithel abgefallen ist, kann man oberflächlich, unter dem Stoffverlust, viele makrophagenartige ganz mit lipidschen Tröpfchen vollgestopften Elemente antreffen. In den Fällen, in denen man von einer echten Geschwürbildung sprechen kann, bemerkt man, daß das nekrotische Gewebe reich an Streifen und Körnchen ist, die sich lebhaft mit dem Scharlach färben, und daß die in der Grenzzone zwischen dem gesunden und dem nekrotischen Gewebe stehenden Epithel- und Bindegewebszellen mit feinen scharlachophilen Tröpfchen erfüllt sind.

2. Ganz ähnliche Bilder sind auch im Bereich der extrahepatischen und der großen und mittleren intrahepatischen Gallenwege zu beobachten.

3. In den kleinen intrahepatischen Gallengängen sind die Lipide bei ungefähr der Hälfte der untersuchten Tiere aufgefunden worden. Manchmal sind die Fetttröpfchen sehr spärlich und außerdem nur in wenigen Epithelzellen und nicht in allen Gängen vorhanden; in anderen Fällen aber weisen die interlobulären und noch mehr die peripheralen Gänge ein Epithel auf, das buchstäblich mit feinen oder auch dicken Fetttröpfchen verstopft ist. Auch ganz kleine Gänge, die sonst nur mit Schwierigkeit und nur bei stärkerer Vergrößerung beobachtet werden können, treten deutlich, schon bei schwacher Vergrößerung,

im perilobulären Bindegewebe als kleine rote Schnüre und Ringe hervor (Abb. 6).

4. Die Leber ist fast immer mit Fett versehen: manchmal handelt es sich nur um wenige zerstreute Körnchen; bisweilen aber ist das Cytoplasma aller oder vieler Leberzellen mit dicken Fetttröpfchen vollgestopft. In 8 Fällen ist die Verteilung der Lipide eine zentrolobuläre (Abb. 7), in 2 Fällen eine periphere, in den anderen Fällen, gewöhnlich mit spärlichen Lipiden, eine unregelmäßige. Ich erinnere noch einmal



Abb. 6. Kleiner perilobulärer Gang. Das Epithel ist mit Fetttröpfchen vollgestopft (Meerschweinchen Nr. 26).

daran, daß beim normalen Tiere Leberfette nicht oder nur spärlich vorhanden sind.

Durch die Untersuchung in polarisiertem Lichte gelang es mir niemals, in irgendeinem Bezirke der Gallenwege doppelbrechende Stoffe darzustellen. Nur in einigen Leberläppchen konnte ich doppelbrechende Körnchen beobachten: niemals aber, auch wenn ich den Objektträger erwärmen und nachher abkühlen ließ, gelang es mir, Sphärokristalle mit Polarisationskreuzen zu finden. Die *Schultzesche* Reaktion ist in den Leberzellen stets negativ ausgefallen. Was die Gallengänge betrifft, so waren nur in wenigen kleineren und mittleren intrahepatischen Gängen des 28. Meerschweinchens spärliche *Schultze*-positive Tröpfchen im infranukleären Zellabschutte zu sehen.

Positiv fällt die Reaktion noch bei einigen bindegewebigen Elementen des Chorion der Gallenblase aus und bei den am Niveau der Epitheldesquamationen und der Geschwüre beschriebenen scharlach-

ophilen Körnchen und Streifen. Die Ergebnisse der *Schultzeschen* Reaktion und der Untersuchung in polarisiertem Lichte beweisen, daß fast alle Lipide der Leber und der Gallengänge mit großer Wahrscheinlichkeit zu den Glyceriden zu rechnen sind und, daß die Cholesteride und die Lipine immer abwesend oder mindestens sehr spärlich sind.

Sucht man die Beziehungen zwischen Lipidenreichtum der Leber und der Gallengänge einerseits und Gewichtsveränderungen anderseits zu bestimmen, so erkennt man, daß niemals Lipide bei den an Gewicht



Abb. 7. Zentrolobuläre fettige Infiltration des Leberparenchyms (Meerschweinchen Nr. 29).

zugenommenen Tieren vorhanden sind, daß im Gegenteile die Lipide sehr oft bei den an Gewicht zurückgegangenen Tieren nachzuweisen sind. Die Geschwindigkeit des Gewichtsabfalls scheint dabei keine Rolle zu spielen.

c) *Verhalten der Schleimzellen, der mukoiden Zellen und der enterochromaffinen Zellen.* Niemals konnte ich mit Sicherheit grobe numerische oder strukturelle Abänderungen bei diesen Elementen wahrnehmen, obgleich ich manchmal den Eindruck irgendeiner sezernierender Hyperaktivität der Schleimzellen und der mukoiden Zellen gehabt habe.

#### VI. Besprechung der Befunde.

Vor der Besprechung meiner Befunde muß folgende Vorfrage beantwortet werden: dürfen die von mir aufgefundenen Anhäufungen von Zelltrümmern, von Schleim- und Fibrinfäden, von abgefallenen Epithelzellen als „Steine“ betrachtet werden?

Die Definition der Steinbildung ist nicht einfach: es fehlt nämlich jede Möglichkeit, um mit Genauigkeit bestimmen zu können, wann irgendeiner nicht lebendiger Fremdkörper der Gallenwege als Stein zu betrachten ist und wann nicht. Kein Merkmal, keine Eigenschaft ist für den Stein wirklich kennzeichnend. Schreibt man dem Ausdruck „Stein“ eine sehr umfassende Bedeutung zu, so ist man auch berechtigt, die bei den avitaminotischen Tieren von mir in der Gallenblase und in den Gallenwegen gefundenen Bildungen als „Steine“ zu betrachten. Solche experimentelle Steine haben übrigens nichts mit den aus Cholesterin, Kalksalzen und Gallenpigmenten zusammengesetzten Steinen der menschlichen Pathologie zu tun. Sie können vielleicht eher mit den organischen Kernen verglichen werden, die öfters innerhalb vieler, besonders aus Kalksalzen und Gallenpigmenten gebildeter menschlicher Steine vorhanden sind. Nur unter den nun ausgedrückten Vorbehaltungen habe ich, in dieser Arbeit, für die von mir beobachteten organischen Klumpen den Namen „Stein“ und „Gallensand“ angewendet. *Emiliani* und *Bazzocchi* betonen, daß die von ihnen aufgefundenen Steine aus Cholesterin zusammengesetzt sind. Die von mir getroffenen Steine können vielleicht eine ganz oberflächliche Ähnlichkeit mit den Cholesterinsteinen aufweisen (gelbe Farbe, Weichheit), aber das ist alles. Die histochemische Prüfung und die Untersuchung in polarisiertem Lichte beweisen, daß der Stein ohne Zweifel cholesterinfrei ist und, daß er nur mit spärlichen, sicher aus der Entartung der Zellen herstammenden, scharlachophilen Tröpfchen versehen ist.

Alle Gründe sprechen dafür, daß die von *Emiliani* und *Bazzocchi* beschriebenen Steine ganz den meinen gleichen. Die ihrer Arbeit beigefügten Abbildungen machen es deutlich, daß mehrere ihrer Steine eine unregelmäßige Gestalt und eine fast fadenartige Struktur haben.

Das sind alle Merkmale, die ganz mit den bei meinen Steinen festgestellten Kennzeichen übereinstimmen. Es wäre übrigens recht seltsam gewesen, daß *Emiliani* und *Bazzocchi* bei gleichartigen, gleichbehandelten Tieren, eine 90%ige Cholesterinsteinbildung beobachtet hätten und, daß ich im Gegenteile (obwohl ich meine Untersuchungen bei einer mehr als doppelten Zahl von Tieren durchgeführt habe) keinen einzigen Cholesterinstein gefunden haben sollte.

Es ist klar, daß, wenn man die cholesterinische Natur der von *Emiliani* und *Bazzocchi* erhaltenen Steine verneint, man auch die von ihnen vorgebrachte, sich vor allem auf einer vermuteten Änderung des Cholesterinstoffwechsels stützende, Erklärung der Steingeneze ablehnen muß.

Die von mir in den Gallenwegen des Meerschweinchens erhobenen mikroskopischen Befunde erlauben mir in ganz befriedigender Weise den Entstehungsprozeß der Gallensteine zu erklären. Ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß dem Vitamin A eine große Bedeutung für die Erhaltung der anatomischen und funktionellen Unversehrtheit

der Epithelien zugeschrieben werden darf. Wenn das Vitamin A mangelt, und noch mehr, wenn nicht nur das Vitamin A, sondern auch das Vitamin D fehlt, treten verschiedene Veränderungen der Epidermis und der epithelialen Gewebe auf; da kommen, unter anderem, die von *Arons* und *van der Rijst* im Magen und von mir im Blinddarm aufgefundenen Geschwüre vor, da kommen endlich auch die von mir in der Gallenblase und in den Gallenwegen eingehend beschriebenen Desquamationen und Geschwüre vor.

Das abgeschuppte Epithel und das abgestorbene Gewebe ist imstande, sich von dem Orte seiner Entstehung abzulösen und so die Bildung von kleinen organischen Fremdkörperchen hervorzurufen. Wenn nun mehrere von solchen mikroskopischen Gewebstrümmerklumpen miteinander verschmelzen und sich außerdem mit Schleimflöckchen und mit Fibrinfäden vereinigen, dann kommen die „Steine“ oder der „Gallen-sand“ zustande. Alle vom intrahepatischen Gallengangsystem abstammende Gewebstrümmer können sich in der Gallenblase, wo die Galle auch normalerweise einer bestimmten Stauung entgegeht, an-sammeln. Man kann leicht verstehen, daß Trümmerhaufen die eine bestimmte Größe erreicht haben, nicht mehr leicht durch den Cysticus gleiten können. Sie müssen deswegen oft in der Gallenblase, wo sie sich durch Anlagerung von neuem organischem Material auch vergrößern können, stehen bleiben.

*Emiliani* und *Bazzocchi* gelang es, beim Meerschweinchen einen erheblich höheren Prozentsatz von steinkranken Tieren festzustellen, als es mir gelungen ist.

Ist es möglich, mindestens zum Teile solche Verschiedenheiten aufzuklären?

Obwohl ich keineswegs bezweifeln will, daß man bei verschiedenen Gruppen von gleich behandelten Versuchstieren auch verschiedene prozentliche Ergebnisse haben kann, muß ich doch in diesem besonderen Falle gegen die Verfasser einwenden, daß sie auch spontan gestorbene Tiere in Betracht gezogen haben.

Es ist allbekannt, daß schon im agonischen Zeitraume das Epithel der Gallenblase und der Gallengänge wegen der Gallentätigkeit starken degenerativen und desquamativen Prozessen entgegeht. Solche Prozesse beschleunigen sich außerordentlich sofort nach dem Tode so, daß, gewöhnlich schon nach einigen Stunden, das Epithel der Gallenblase ganz abgefallen ist.

So etwas ist natürlich ganz allgemein zu sehen und ich habe es vielmals bei der Sektion von morgens tot aufgefundenen Meerschweinchen beobachten können. *Emiliani* und *Bazzocchi* geben auf diese spontanen postmortalen Veränderungen keine Achtung und, mit aller Wahrscheinlichkeit, sind sie darauf nicht aufmerksam, weil sie nicht die echte Zusammensetzung der von ihnen nachgewiesenen Steine erkannten. *Emiliani*

und *Bazzocchi* betonen, daß die für die Genese ihrer „Cholesterinsteine“ wichtigste Bedingung eine beim A-Mangel auftretende Störung des Cholesterinstoffwechsels und nämlich eine Hypercholesterinämie endogener Herkunft ist. Eine solche Hypercholesterinämie sollte teilweise von der, bei mit einseitigen Diäten behandelten Tieren immer vor kommenden Gewebezerstörung abhängen, teilweise sollte dieselbe auch mit einer Hyperfunktion der von ihnen immer hypertrophisch gefundenen Nebennieren in engem Zusammenhang stehen.

Die Hypercholesterinämie würde, bei unversehrter Leber, eine Vermehrung des Cholesterins der Galle mit sich bringen, eine Vermehrung, die ihrerseits, mit einem von den Verfassern nicht besser erklärten Mechanismus, die wichtigste Rolle in der Bildung der Cholesterinsteine spielen würde.

*Emiliani* und *Bazzocchi* haben aber die Leber und die Gallengänge einer morphologischen und histochemischen Untersuchung nicht unterworfen, um etwaige strukturelle durch die Vitamin A-freie Diät hervorgerufene Veränderungen zu erfassen. Wie ich mehrmals betont habe, gelang es mir nie cholesterinhaltige Konkremente zu finden. Trotzdem habe ich fleißig das Cholesterin in der Leber und in den Gallenwegen histochemisch gesucht. Die Ergebnisse meiner in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen sind, mit unbedeutenden Ausnahmen, vollkommen negativ gewesen.

Oft habe ich eine ausgebreitete fettige Infiltration der Leber und der Epithelien der Gallengänge, besonders der interlobulären und noch mehr der perilobulären Gallengänge gefunden, aber die histochemische Nachprüfung gab mir immer den Beweis, daß es sich um neutrale Fette und nicht um Cholesteride handelte. Die ganz kleine von mir im nekrotischen Gewebe und im Reaktionsgewebe der Geschwüre der Gallenblase nachgewiesene Menge von Cholesteriden, darf keineswegs in Zusammenhang mit einer Cholesterinämie gebracht werden. Sie muß im Gegenteile vielmehr der Lysis des nekrotischen Gewebes zugeschrieben werden, die mit sich eine Phanerose der zur Konstitution des Cytoplasmas, vermutlich als Lipoproteide, teilnehmenden Cholesteride bringt.

Es ist schwer zu entscheiden, ob der Vitamin A-Mangel (eventuell kombiniert mit dem Vitamin D-Mangel) selbst eine, als direkter Primäreffekt zu betrachtende, spezifische Störung des Fettstoffwechsels, und daher eine Verfettung der Leber und der Gallenwege, hervorrufen kann.

*de Ruyter* und *Rosenthal* glauben, daß die Leberverfettung, ebenso wie der Gewichtsabfall der Tiere, vielmehr als indirekte Sekundärwirkung des Vitamin A-Mangels zu betrachten sind, als „Hungereffekte infolge des Appetitmangels der Tiere, bei der Leber vielleicht kombiniert mit degenerativen Erscheinungen auf infektiöstoxischer Grundlage“. *Glanzmann* ist dagegen der Meinung, es bestehe zwischen Vitamin A-Mangel und Störung des Fettstoffwechsels ein engerer, unmittelbarer Zusammenhang. *Okuneff* konnte beim Kaninchen feststellen, daß auch ein einfaches dauerndes Hungern imstande ist, die Erscheinung von Lipiden

in der Leber und in den Gallengängen, besonders in den kleinen, hervorzubringen. Etwas ähnliches konnte ich bei einigen mit einer vitaminreichen und qualitativ vollständigen, aber quantitativ sehr ungenügenden Kost gefütterten Kontrollmeerschweinchen beobachten.

Auch die, bei den schon wenige Tage nach dem Anfang der Versuche gestorbenen Meerschweinchen 11 und 14, erhobenen Befunde scheinen die Ansicht zu stützen, daß die fettige Infiltration nur von einer aus den verschiedensten Gründen verursachten Verminderung der Speisezufuhr abzuleiten ist.

Ein letztes in Zusammenhang mit der Fettinfiltration der Gallenwege stehendes Problem ist folgendes: Sollen die Lipide als Äußerungen eines Resorptionsprozesses aus dem Lumen der Gänge anberachtet werden oder muß man nicht lieber ihnen die Bedeutung von Erscheinungen der Zellentartung zuschreiben?

Einer solchen Frage kann keine sichere Antwort gegeben werden: es ist allbekannt, daß die Epithelien der Gallenwege imstande sind, Fett aus der Galle zu resorbieren; man muß aber auch ins Auge fassen, daß bei dem Vitamin A-Mangel verschiedene degenerative Prozesse in den Epithelien vorkommen und, daß daher das Fett auch die Bedeutung einer degenerativen Erscheinung haben kann. Hier muß auch erwähnt werden, daß *Pfuhl* den perilobulären Gallengängen, gleich wie den Leberzellen und den *v. Kupfferschen* Sternzellen, eine fettsezernierende Tätigkeit zuschreibt, daß daher die Lipide der Epithelien der kleinen Gallengänge die Äußerung eines solchen sezernierenden Prozesses darstellen können.

Eine weitere Einwendung, die gegen die Versuche von *Emiliani* und *Bazzocchi* erhoben werden muß, ist, daß die von den Verfassern angewandte Diät nicht nur Vitamin A-arm, sondern auch Vitamin D-arm ist. Die Steinbildung, sowie die degenerativen Erscheinungen könnten daher vom Mangel der *beiden* fettlöslichen Vitaminen abhängen.

Wie ich in der Einleitung erinnert habe, wurde auch gegen die Verfasser, welche die Avitaminose A als einzige Bedingung in der Genese der Harnsteine auffassen wollten, die gerechte Einwendung erhoben, daß die ihren Versuchstieren dargereichten Diäten auch des antirachitischen Faktors entbehrten.

Alles, was man der von *Emiliani* und *Bazzocchi* verwendeten Diät vorwerfen kann, darf natürlich auch der fast ganz gleichen (das Vitamin A wurde von den Verfassern mittels Zwiebeln verabreicht) von mir benutzten Diät vorgeworfen werden.

Es ist jedoch wahrscheinlich, daß wirklich der Vitamin A-Mangel die wichtigste Rolle bei der Genese der Epithelienveränderungen spielt und daher auch die wichtigste Rolle bei der Genese der „Steine“, die mit solchen Veränderungen in engem Zusammenhang zu sein scheinen.

Die von *Langen* bei der Ratte beobachteten Gallensteine waren hauptsächlich aus Gallenpigmenten zusammengesetzt; die von *Fujimaki* beobachteten, bestanden aus Cholesterin und Gallenpigmenten und,

unter bestimmten Umständen, aus reichlichen Kalksalzen. Die von mir beim Meerschweinchen erhobenen Befunde sind ganz verschieden. Dies kann mehreren Ursachen zugeschrieben werden. Es ist allbekannt, daß die Verabreichung einer Vitaminmangeldiät bei den verschiedenen Tierarten ganz verschiedene ausgeprägte Erscheinungen hervorrufen kann. Die bei einer Tierart erhobenen Befunde gelten nur für diese: man darf keineswegs solche Befunde, ohne vorherige Untersuchung, auch bei anderen Tierarten für gültig halten. Und weiter: die *Fujimaki*-schen Untersuchungen haben z. B. viel länger gedauert als die meinigen und viel länger als die Untersuchungen von *Emiliani* und *Bazzocchi*. *Fujimaki* hat die ersten Gallensteine erst nach ungefähr 4 Monaten gefunden. Man kann nicht ausschließen, daß auch beim Meerschweinchen, vorausgesetzt, daß die Tiere solange am Leben bleiben, nach längerer Zeit echte Cholesterin-, Pigment- oder Kalksteine vorkommen können.

Auch in solchem Falle wäre es übrigens recht schwer zu entscheiden, ob die Steine als unmittelbare Folge der Avitaminose A zu betrachten sind. Es wäre nämlich auch möglich, daß sie nur mittelbar von der Avitaminose abhängen: die degenerativen und infektiven Prozesse der Gallenwege könnten das Material bieten, aus welchem der organische Kern des zukünftigen Steines gebildet wird. Ich betone also noch einmal, daß meine Befunde nur für das Meerschweinchen und nur für den Zeitraum der eigenen Versuche gelten.

#### VII. Zusammenfassung.

1. Bei Meerschweinchen, die mit einer Vitamin A-freien Diät behandelt werden, treten oft organische Fremdkörper in den Gallenwegen auf. Solche Bildungen, die nur unter Vorbehalt als „Steine“ bezeichnet werden können, sind immer frei von Cholesterin und von anorganischen Bestandteilen: sie sind nur aus Gewebstrümmern, aus Schleimflocken und aus abgefallenen Epithelzellen (alles mit Gallenpigmenten durchtränkt) zusammengesetzt.

2. Diese Fremdkörper haben nichts mit den Steinen der menschlichen Pathologie zu tun. Ob sie die Bildung von echten Steinen erleichtern können, ist bisher nicht zu entscheiden.

3. Der Mechanismus der Genese solcher „Steine“ ist ganz leicht auf Grund einer histologischen Durchmusterung der Gallenwege zu erklären. Die Vitamin A-freie Diät verursacht die Erscheinung von desquamativen und degenerativen Prozessen im Bereich der Epithelien der Gallenwege und verursacht auch, besonders in der Gallenblase, die Bildung von tiefen Geschwüren. Solche Geschwüre sind im allgemeinen von nekrotischem Gewebe und von amorphen Gewebstrümmern überkleidet. Durch die Ablösung von Streifen des degenerierten Epithels und durch das Freiwerden von Bruchstücken der Schorfe wird das Material frei, das nachher die „Steine“ bildet.

4. Das hepatische Parenchym sowie das Epithel der Gallenwege, besonders jenes der kleinen interlobulären und perilobulären Gallengänge, weist oft eine sehr starke Verfettung auf. Diese Verfettung ist niemals, besonders in den Gallenwegen, unter normalen Bedingungen zu sehen. Die histochemische Prüfung beweist, daß die vorhandenen Fette als Glyceride zu betrachten sind. Cholesteride und Lipine sind nur ausnahmsweise und in äußerst kleinen Mengen zu treffen.

5. Bei zwei Versuchstieren sind größere Geschwüre im Coecum aufgefunden worden; bei einem Meerschweinchen war ein großer aus Gewebrümmern und Keratinanhäufungen zusammengesetzter Stein in der Harnblase vorhanden.

6. Aus meinen Untersuchungen scheint hervorzugehen, daß das Vitamin A eine wichtige Rolle auch bei der Erhaltung der anatomischen Unversehrtheit der Gallenepithelien spielt.

#### Literaturverzeichnis.

- Arons et van der Rijst: Arch. néerl. Physiol. 17 (1932). — Beach, J. R.: Science (N. Y.) 58 (1923). — Blip, A. R. jun., G. R. Liverlire and E. O. Prater jun.: J. of Urol. 30 (1933). — Bock, E. and J. Trevan: J. of Biochem. 16 (1922). — Browning, E.: The Vitamins. London: Baillière, Tindall & Cox 1931. — Cabibbe, G.: Atti Accad. Fisiocritici Siena 14 (1902). — Cramer, W.: Lancet 1923 I. — Emiliani, P. e G. Bazzocchi: Riv. Pat. sper. 10 (1933). — Erspamer, F.: Z. Zellforsch. 26 (1937). — Anat. Anz. 85 (1938). — Fujimaki, Y.: Jap. med. World 6 (1926). — Galli, R. e G. Bazzocchi: Riv. Pat. sper., N. s. 1 (1934). — Gasparjan, A. and N. Outschininkow: Z. urol. Chir. 30 (1930). — Glanzmann, E.: Erg. Vitamin- u. Hormonforsch. 1 (1938). — Higgins, C. C.: J. of Urol. 29 (1933). — J. amer. med. Assoc. 104 (1935). — Langen, C. D. de: Meded. Dienst. Volksgezdh. Nederl. Indice 18 (1929). — Leersum, E. C. van: Brit. med. J. 1927 II. — J. of biol. Chem. 76 (1928). — Mathis, J.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 10 (1927). — McCarrison, R.: Brit. med. J. 1927 I. — Mitolo, M.: Vitamine. Torino: Rosenberg & Sellier 1937. — Okuneff, N.: Beitr. path. Anat. 71 (1923). — Oppenheimer, G. D. and H. Pollack: J. amer. med. Assoc. 108 (1937). — Osborne, T. B., L. B. Mendel and E. L. Ferry: J. amer. med. Assoc. 69 (1917). — Perlmann, S. u. W. Weber: Dtsch. med. Wschr. 1928 I. — Münch. med. Wschr. 1928 II. — Pfahl, W.: Die Leber. Die Gallenblase und die extrahepatischen Gallengänge. W. v. Moellendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 5/2. Berlin: Julius Springer 1932. — Report of the Council on Pharmacy and Chemistry: Vitamin A and urinary Lithiasis. J. amer. med. Assoc. 105 (1935). — Rice, H. G. and C. M. Jackson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 31 (1934). — Anat. Rec. 59 (1934). — Ruyter, H. Th. de u. O. Rosenthal: Z. Vitaminforsch. 5 (1936). — Tozer, F. M.: J. of Path. 24 (1921). — Watchorn, E.: J. of Hyg. 32 (1932). — Wolbach, S. B. and P. R. Howe: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 22 (1925). — Arch. of Path. 5 (1928).