

Aus dem Pathologischen (Prof. Dr. TH. KONSCHEGG), dem Physiologischen Institut  
(Prof. Dr. R. RIGLER) und aus dem Institut für Theoretische  
und Physikalische Chemie (Prof. Dr. O. KRATKY) der Universität Graz.

## Untersuchungen über die Gewebsflüssigkeit aus gut- und bösartig veränderten Brustdrüsen und aus anderen Geweben.

I. Mitteilung.

Zur Histologie der Gewebsflüssigkeit und über ihren Gehalt an Eiweiß  
und aromatischen Aminosäuren.

Von

M. RATZENHOFER, H. G. KLINGENBERG und E. SCHAUENSTEIN.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Mai 1954.)

Unsere Untersuchungen betreffen die Gewebsflüssigkeit (Gfl.), also die, die interstitiellen Spalträume des Mesenchyms erfüllende Flüssigkeit. Sie wird von einigen Autoren (GAMBLE, DUNCAN, VOGT) auch als interstitielle Flüssigkeit bezeichnet. Von ihr wird allgemein angenommen, daß sie aus der Blutbahn stammt und gegen die Lymphe zu abfließt („physiologisches Transsudat“, RÖSSLE 1943, 1944). Ihre Funktion besteht vor allem darin, den Geweben Stoffe zu- und deren Stoffwechselprodukte abzuführen. Ihre Menge unterliegt je nach den vorliegenden normalen oder krankhaften Bedingungen starken Schwankungen (von der Exsiccose bis zum Ödem) und ist auch in den einzelnen Körperregionen sehr verschieden. Von der gesamten, mit Hilfe indirekter Methoden bestimmbar extracellulären Flüssigkeit ist unter völlig normalen Verhältnissen nur ein sehr geringer Anteil im Gewebe als freie Flüssigkeit direkt nachweisbar und auch morphologisch faßbar. Manche Körpergewebe enthalten überhaupt keine freie Flüssigkeit (McMASTER) und dies ist der Grund, warum ihre Gewinnung auf große Schwierigkeiten stößt (RÖSSLE, WUNDERLY-WUHRMANN). Es ist also begreiflich, wenn über das histologische und das chemische und physikalische Verhalten der Gfl. beim gesunden Menschen so gut wie gar nichts bekannt ist (vgl. HINSBERG und GEINITZ).

Bei der Frau schwankt der Flüssigkeitsgehalt der Grundsubstanz im Gewebe mit dem Cyclus (vgl. SPRUNT), wobei er am niedrigsten gerade nach der Menstruation und am höchsten am Ende des Cyclus sein soll. Bei der Schwangerschaft steigt die Durchtränkung der Gewebe mit Flüssigkeit gewöhnlich stark an.

Zu den Organen, in welchen histologisch schon unter normalen Bedingungen Flüssigkeit im Gewebe nachzuweisen ist, zählt die Mamma der geschlechtsreifen Frau. Schon lange ist die innerhalb des Cyclus wechselnde ödematöse Verbreiterung des Mantelbindegewebes um die Drüsen (s. Gögl und Lang; Kuzma) bekannt. Uns ist seinerzeit bei Gravidität die Ansammlung eiweißreicher Flüssigkeit im interlobulären Bindegewebe aufgefallen (RATZENHOFER 1951a). Einen besonderen Reichtum an interstitieller freier Flüssigkeit sahen wir jedoch bei den verschiedenen Formen von Mastopathie und Mammacarcinom, auch ohne Vorliegen von Entzündung, Stauung oder Stoffwechselkrankheiten (RATZENHOFER 1950, 1951a; RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN 1952a). Hier ist das Mammagewebe oft schon makroskopisch durch die reichlich angesammelte Gfl. streckenweise geradezu ödematos durchtränkt, ohne daß eine Abflußstörung nachweislich ist. Es sind dies die Fälle, wo sich die Gfl. am leichtesten rein gewinnen läßt.

Unsere bisherigen physikalischen Studien mittels UV-Spektrographie (SCHAUENSTEIN) und Elektrophorese (KLINGENBERG) haben ergeben (RATZENHOFER 1951b; RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN 1952a, b; SCHAUENSTEIN und RATZENHOFER; RATZENHOFER, SCHAUENSTEIN und BERNDT), daß die Gfl. bei Mammacarcinomen 4—5 g-% Eiweiß, nämlich Albumine und eine Reihe von Globulinen verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit enthält. Die vorliegenden gemeinsamen Untersuchungen verfolgten den Zweck, das Verhalten der Gfl. im Mammagewebe an einem größeren Material näher kennenzulernen und die in ihr enthaltenen Proteinfraktionen sowie die aromatischen Aminosäuren zu bestimmen. Ferner haben wir, um die Ergebnisse besser verwerten und auch zur Frage der Herkunft der Eiweißkörper in der Gfl. Stellung nehmen zu können, jeweils Gfl. und Serum der betreffenden Patientinnen elektrophoretisch und spektrographisch miteinander verglichen. Mit Absicht wurden hierbei nicht nur Mammarkrebse, sondern auch andere nicht-krebsig bzw. nur gering veränderte Brustdrüsen herangezogen, um festzustellen, ob etwa Unterschiede bei den einzelnen Krankheiten bestehen. Zum Vergleich wurde schließlich auch die Gfl. aus anderen Tumoren und Geweben sowie der Inhalt cystischer Mammaprulen geprüft.

#### Untersuchungsmaterial.

Es umfaßt:

1. 20 operativ entfernte Brustdrüsen mit folgenden Krankheiten: a) 9 Brustdrüsen mit primärem Carcinom und folgenden Parenchymbefunden: 4mal Mastopathia chronica fibrosa cystica (darunter Nr. 4461 und 4298). 1mal angedeutete Mastopathie, meist nur herdförmig; 3mal nur Fibrose; 1mal Atrophie (Nr. 4481; röntgenbestrahlt). In den Fällen 4461 und 4481 war das Carcinom weitgehend zerfallen.
- b) 2 Brustdrüsen mit Narbe nach Extirpation eines primären Carcinoms (3 bzw. 4½ Wochen vor Ablatio). Am Parenchym fand sich außerhalb der Narbe bei 4814

eine Mastopathie, bei 14071, wo gleichzeitig eine Axillardrüsentuberkulose bestand, eine nur angedeutete Mastopathie. c) 3 Brustdrüsen mit *Mastopathia chronica fibrosa cystica*, hierbei eine Gynäkomastie. d) 4 Brustdrüsen mit *angedeuteter Mastopathie* mit verschieden starker Parenchymfibrose, darunter 1mal eine blutende Mamma bzw. 1mal vergesellschaftet mit kleinen Fibroadenomen (Nr. 817). e) 1 Brustdrüse mit schwerster *Fibrose* bei *Mamma pendulans*. f) 1 Mamma mit ausgesprochenem *Ödem* und beginnender Fibrose (klinisch: *Mastodynien*).

In sämtlichen Fällen wurde gleichzeitig mit der Gfl. das zumeist unmittelbar vor der Operation gewonnene zugehörige Nüchternserum elektrophoretisch untersucht. Bei 11 von diesen 20 Fällen wurden sodann die restlichen Gfl. und die zugehörigen Seren UV-spektrographiert.

2. *Flüssigkeit aus cystisch ausgeweiteten Drüsen bei Mastopathie* (4 Fälle). Sie wurde vor allem deshalb elektrophoretisch untersucht, weil namentlich in den Fällen mit *Mastopathia cystica* mit einer „Verunreinigung“ der Gfl. auf den Schnittflächen durch ausgetretene und hinzugemengte Cystenflüssigkeit zu rechnen war.

3. *Andere Gewebsflüssigkeiten* aus: a) ödematösem Myom des Corpus uteri, b) vercystetem Myosarkom des Uterus (mit Vergleichsserum), c) vercystetem Hypernephrom (Leichenmaterial), d) ödematöser sklerosierter Haut bei schwerem Röntgenschaden (mit Vergleichsserum).

4. Eingedickte *Lymphe* aus cystischem Lymphangioma der Milz (mit Vergleichsserum).

#### Untersuchungstechnik und morphologische Beobachtungen.

Die Gewinnung der Gfl. erfolgte durch Absaugen der Operationspräparate von der frischen Schnittfläche mittels Capillarpipette. Das Material wurde stets innerhalb weniger Stunden nach der Operation verarbeitet. Peinlich wurde darauf geachtet, daß sich die Flüssigkeit nicht mit Blut vermengte (sorgfältiges Abwischen des Operationspräparates oberflächlich und auf den angelegten Schnitten). Zur elektrophoretischen Untersuchung wurden prinzipiell nur solche Gfl. verwendet, bei welchen beim Zentrifugieren keine oder nur sehr spärlich Erythrocyten sich absetzten. Eine Gewinnung restlos blutfreier Flüssigkeiten war begreiflicherweise nur selten möglich. Bei den Fällen mit minimalem Blutbeimengung war diese bedeutungslos, worauf später eingegangen wird. Kam es zur Verunreinigung mit Blut und wurde nicht anschließend zentrifugiert, so trat Hämolyse ein. Hämolyse konnten wir z. B. stets auch dann beobachten, wenn Operationsgut mit starkem Ödem in einem Glas von auswärts übermittelt wurde; in diesem Falle vermischtete sich die besonders bei Mastopathie in sehr reichlicher Menge (bis zu 10 cm<sup>3</sup>!) aus dem Präparat abfließende Gfl. mit dem aus den Blutgefäßen ausgetretenen Blut und stellte sich nach Abzentrifugieren als hellrote, unverwertbare Flüssigkeit dar.

Bei der *makroskopischen Untersuchung* der Schnittfläche der Präparate fiel das mit Flüssigkeit durchtränkte, oft ausgesprochen ödematöse Gewebe sogleich durch seine transparente Beschaffenheit und den feuchten Glanz auf. Dies war, wie wir immer auch mikroskopisch feststellen konnten, nicht im Bereich der Krebsknoten, dagegen in ihrer

Nachbarschaft (Abb. 1) und im Mammaparenchym, vor allem an der Grenze von Binde- und Fettgewebe der Fall (Abb. 2). Von solchen Gewebsbezirken ließ sich dann schon nach Anwendung ganz geringen Druckes mühelos Flüssigkeit absaugen; sie war meist ganz klar, hellgelb, ihr Geschmack salzig. Wurde zwecks Erzielung einer größeren Flüssigkeitsmenge das Gewebe stärker gedrückt oder gespannt, dann sammelte sich gewöhnlich trüber Saft an, wobei die mikroskopische Untersuchung einen stärkeren Gehalt an Fetttröpfchen bzw. Zellen (außer Erythrocyten meist Epithelzellen aus Drüsengängen) ergab. Auf diese forcierte Art gewonnene Flüssigkeit wurde wegen dieser Beimengungen nicht weiter untersucht. Sehr zustatten kam bei der Gewinnung der reinen Flüssigkeit der Umstand, daß drüsenaarmes Mammaparenchym mit Fibrose und Hyalinose gewöhnlich sehr arm an Blutgefäßen ist. Aber eine andere „Verunreinigung“ der Gfl. war nicht zu verhindern, nämlich die Beimengung von Sekret aus durchschnittenen Drüsengängen und Cysten, soferne es nicht ausgesprochen verfärbt (braun oder grünlich), viscos oder besonders dick war. Diese Beimischung von Sekret war aber nur gering, sie fiel bei den Elektrophoresewerten nicht ins Gewicht.

Der *Reichtum des Mammagewebes an Gewebsflüssigkeit* wechselte sehr stark, also war die Menge des absaugbaren reinen verwertbaren Saftes nur zum Teil von der Größe der Operationspräparate abhängig. Die geringste Flüssigkeitsmenge (unter 1 ml) erzielten wir aus den zusammen faustgroßen Resektionsstücken der Mamma pendulans mit besonders derb-sehnigem Parenchym (histologisch kompakte Fibrose, spärlich sog. „Ödempfützen“) — die größte (11 ml) aus einem Amputationspräparat mit axillaren Drüsenmetastasen, wobei aus dieser Mamma 2 Monate zuvor ein apfelgroßes Scirrhous entfernt worden war (Nr. 13329). Im allgemeinen enthielten krebsige Mammnen mit Axilladrüsenmetastasen mehr Flüssigkeit als solche ohne Metastasen, ein Befund, der sich zum Teil durch die Stauung der Lymphabfuhr erklärt. Aber auch unter den nicht-krebsigen Präparaten fanden sich sehr saftreiche: so konnten wir aus drei zusammen über faustgroßen Resektionsstücken von einer 28jährigen 8 ml Saft gewinnen (Nr. 817, histologisch angedeutete Mastopathie mit diffuser Fibrose und kleinen Fibroadenomen). Das Gegenstück hierzu ist eine amputierte Mamma mit nur 1 ml, aber histologisch ähnlichem Befund (geringe Mastopathia chronica fibrosa cystica mit Blutungen aus der Mamilla).

Bei der *histologischen Untersuchung* wurde das Hauptaugenmerk auf die schon seinerzeit beschriebene [RATZENHOFER 1950, 1951 a; RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN (a)] flüssige Durchtränkung des Mammaprobenmesenchyms, vor allem des interlobulären fibrösen Stützgewebes gerichtet, also auf die schwach gefärbten, meist verwaschen erscheinenden Areale, die besonders im faserreichen, aber zell- und gefäßarmen Bindegewebe auffallen und für die durch den einen von uns seinerzeit (1950)

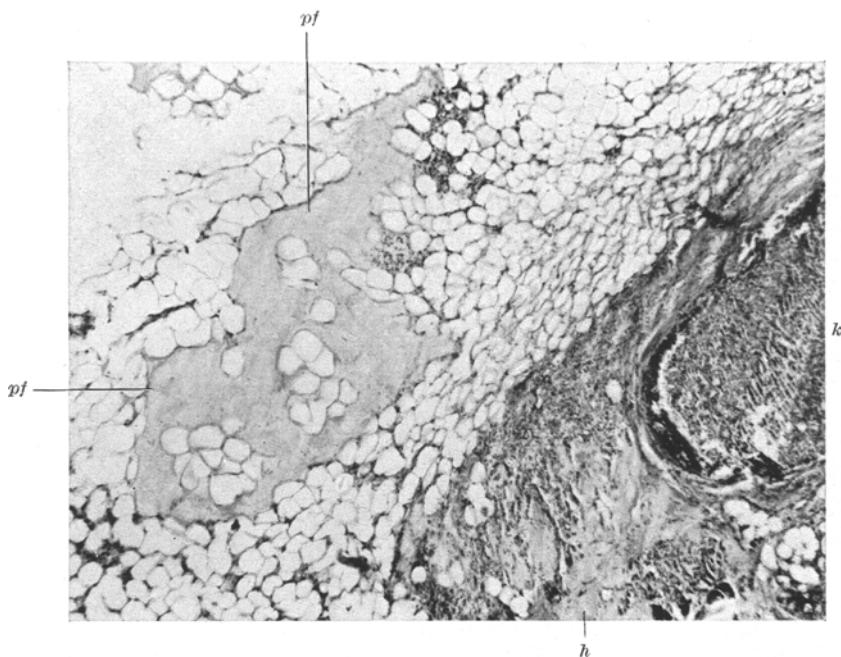


Abb. 1. E. 8523/52. 76jährig, ♂, Hämatoxylin-Eosin. *pf* pfützenartige Ansammlung von Gewebsflüssigkeit im Fettgewebe der Mamma in der Nachbarschaft eines Krebsknotens *k* (Carcinoma solidum simplex); *h* hyalinisiertes Stroma. (Lupenvergrößerung.)

$\times$

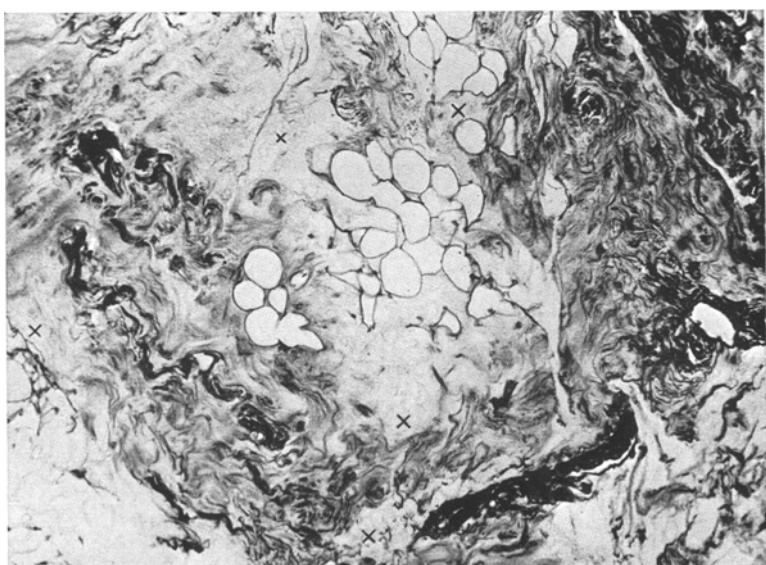


Abb. 2. E. 4441/52. 57jährig, ♂, Pikrofuchsin. Aus einer Mamma mit starker Parenchymfibrose und pflaumengroßem Krebsknoten. Besonders reichliche Gewebsflüssigkeit ( $\times$ ) im lockeren Binde- und Fettgewebe. (Schwache Vergrößerung.)

Virchows Arch. Bd. 326.

10a

der Name „Ödempfützen“ vorgeschlagen wurde (Abb. 1—4). Am deutlichsten hebt sich die eintönig anmutende Gfl. von den in verschiedenen Richtungen getroffenen Fibrillen in Silberpräparaten ab, aber auch im Polarisationsmikroskop ist die Unterscheidung von den anisotropen Fibrillenzügen leicht möglich. Größere scenartig konfluierende Areale dieser Art (Abb. 2), die in den histologischen Beschreibungen von Mastopathie gewöhnlich als Hyalin bezeichnet werden, fanden sich, wie erwähnt, besonders häufig an der Grenze gegen das Fettgewebe, wobei

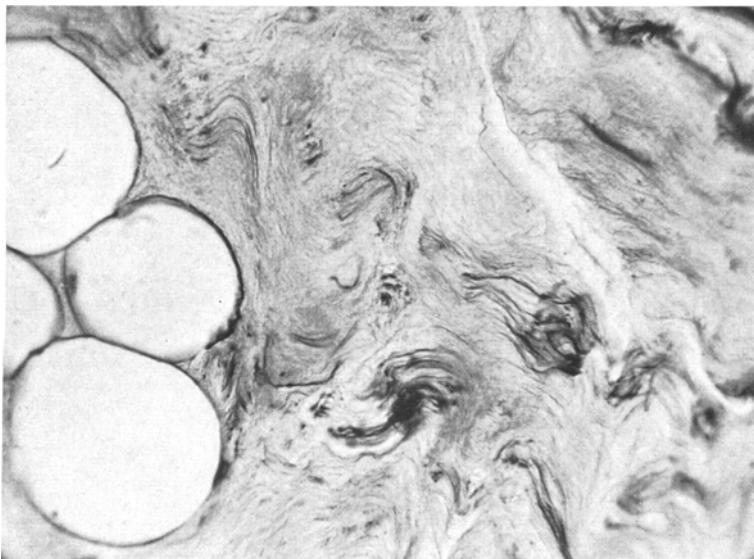


Abb. 3. Detail von Abb. 2 bei Immersionsvergrößerung. Zwischen den in verschiedenen Richtungen getroffenen dunklen Kollagenfibrillen erscheint das Eiweiß der Gewebsflüssigkeit meist feinst netzförmig geronnen.

die im Schnittpräparat geronnene Flüssigkeit sich zwischen Fettzellen und präexistenten Bindegewebsfaserzügen ausbreitet und diese auseinanderdrängt. Aber auch am Rande von Krebsknoten können umschriebene Saftansammlungen auftreten (Abb. 1). Sie finden sich im übrigen in allen Präparaten, dabei aber sehr wechselnd ausgeprägt: am häufigsten sahen wir sie bei 4 Krebsfällen (im zum Teil mastopathischen Parenchym außerhalb der Knoten), bzw. besonders deutlich bei einer 38jährigen mit flüchtiger schmerhafter prämenstrueller Brustschwellung (histologisch: beginnende herdförmige Mastopathie, geringe Fibrose und Hyalinose, reichlich Ödemseen).

Die Anwendung starker Vergrößerung lehrt, daß das Eiweiß in den Ödempfützen durch Einwirkung des Formaldehyds teils homogen, teils feinstkörnig, teils auch feinst netzförmig geronnen ist (Abb. 3). Die Art der

Gerinnung läßt sich dabei am besten im photographischen Bilde beurteilen. Mitunter sind auch scharf begrenzte Vacuolen in der Masse nachzuweisen, was wohl das verlässlichste Zeichen dafür ist, daß Flüssigkeit vorliegt. Anderseits treten in etwas dichteren und etwas stärker gefärbten Eiweißseen vielfach auch feinste, gerade erkennbare, zum Teil parallel gewellte Fibrillen in Erscheinung, die sich mit Pikrofuchsin zart rötlich färben, und man erhält den Eindruck, als ob das Eiweiß hier im Begriffe ist, zu erstarren und aus der flüssigen globularen Form in die feste lineare Form (Kollagen, bzw. Hyalin) überzugehen [vgl. RATZENHOFER 1951 a,b; RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN (a); SCHAUENSTEIN und RATZENHOFER]. Diese Umwandlung (Fibrillenbildung) vollzieht sich zumeist weitab von Bindegewebzellen, welche im fibrösen Mammamesenchym ja überhaupt sehr spärlich sind.

Ein anderer Umstand kommt bei dieser Art der Fibrillenentstehung in der Mamma freilich etwas überraschend: Versilberungen nach GOMORI, also mit dem zum Nachweis argyrophiler Fibrillen besonders verlässlichen Verfahren, decken in solchen, offenbar in fibrillärer Umwandlung begriffenen Ödembezirken nur selten versilberbare Fasern auf. Auch an der Grenze gegen ältere, schon deutlich ausgebildete Fibrillenzüge werden sie in der Regel vermißt, während um die Gefäße und Drüsen bzw. zwischen den Fettzellen stets reichlich Gitterfasern nachzuweisen sind. Diese Befunde sprechen offenbar dafür, daß die Kollagenbildung bei Mammafibrose im zellarmen Mesenchym zumeist nicht über sog. präkollagene argyrophile Vorstadien erfolgt.

Innerhalb weniger Minuten, nachdem die abgesaugte Flüssigkeit in kleine Röhrchen verbracht worden war, trat in ihr fast jedesmal ein mehr weniger festes, graues bis graurötliches *Gerinnsel* auf. Dies war aus dem Grunde sehr erwünscht, weil in dem engmaschigen Faserwerk des Gerinnsels gewöhnlich die mitgesaugten Zellen (Erythrocyten und Epithelien) und ein Großteil der Fetttröpfchen eingeschlossen waren. Beim Hantieren kontrahierte sich dieses Gerinnsel gewöhnlich und ließ sich dann samt den eingeschlossenen Elementen mühelos entfernen. Enthielt es viele Erythrocyten, war es zart-rötlich, enthielt es nur wenige oder keine, so war es grau.

Histologisch bestehen solche Gerinnsel aus einem Netzwerk überaus feiner Fäserchen. Sie färben sich mit Pikrofuchsin gewöhnlich leicht rötlich, bei der Azanmethode bläulich bis blau. Die Fibrinfärbung nach WEIGERT fällt nicht eindeutig aus, manchmal ist sie leicht positiv, so daß dieser durch Gerinnung ausfallende Eiweißkörper, welcher von der elektrophoretischen Untersuchung somit stets ausgenommen war, wahrscheinlich Fibrin entspricht. Die in den Maschen des Faserwerkes erst durch Formalineinwirkung gerinnende Flüssigkeit färbt sich mit Pikrofuchsin gelb.

Nach dem Absaugen wurde das Mammagewebe zum Vergleich histologisch untersucht (Abb. 4: abgesaugter Gewebsbezirk mit Resten von

Gfl.). Während in den noch Flüssigkeit enthaltenden Gewebsanteilen die Fibrillenzüge durch die angefärbte Gfl. mehr weniger maskiert sind, treten sie in den flüssigkeitsfreien Bereichen nunmehr klar und meist voneinander dissoziiert mit leeren Spalträumen dazwischen hervor.

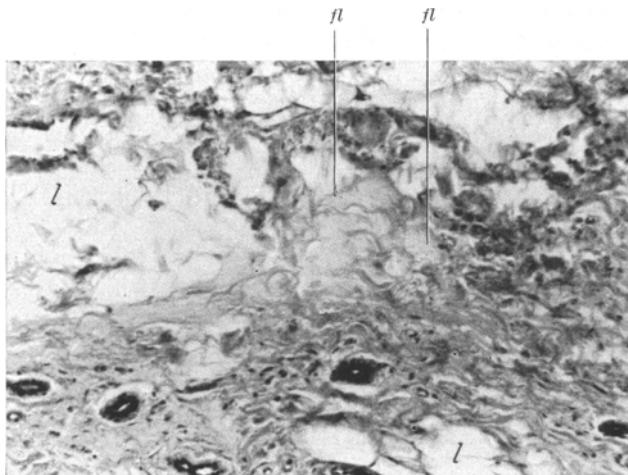


Abb. 4. E. 4461/53. 63jährig, ♀, van Gieson. Atrophisches Mammaparenchym von der Nachbarschaft eines großen Krebsknotens, abgesaugt. l Leere breite Zwischenräume zwischen den Bindegewebszügen; fl Reste der Gewebsflüssigkeit. (Mittlere Vergrößerung.)

### **Elektrophoretische Untersuchungen.**

#### *1. Serum und Gewebsflüssigkeit der Mamma.*

Der *Eiweißgehalt* des Serums bzw. der Gfl. wurde nach KJELDAHL bestimmt. Er war im Serum zwischen 5,7—8,8 g-%. Bei der Gfl. lag der Gesamteiweißgehalt, wie schon seinerzeit festgestellt (RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN 1952 b), stets niedriger, nämlich zwischen 3,6 bis 6,0 g-% ; einmal war er gar nur 2,0 g-%. In über der Hälfte der Fälle fand sich ein Gehalt zwischen 4,5—5 g-%. Bei den 2 Präparaten mit dem niedrigsten Eiweißgehalt bestand (Nr. 817) eine angedeutete Mastopathie mit diffuser Fibrose und sehr reichlich Gfl. (8 ml, 2,01 g-%) — bzw. (4481) ein sehr großes, röntgenbestrahltes zerfallendes Carcinom mit Metastasen mit Kachexie und Hypoproteinämie (0,75 ml Gfl. mit 3,63 g-% Eiweiß). Den höchsten Eiweißgehalt sahen wir bei 2 Krebsfällen mit 5,90 (3 ml) bzw. 6,00 g-% (1,5 ml Gfl.). Bei einem Krebsfall (13329) mit Axillardrüsenmetastasen und 11 ml Gfl. im Amputationspräparat war der Eiweißgehalt 4,06 g-%. In den besonders großen Resektionspräparaten von der Mamma pendulans mit schwerster Parenchymfibrose fanden sich 5,9 g-% Eiweiß (und 0,9 ml Gfl.). Irgendwelche Korrelationen zwischen Eiweißgehalt und Menge der Gfl. der Mamma bzw. zwischen Eiweißgehalt und bestimmten Krankheitsformen konnten nicht festgestellt werden.

Die *elektrophoretische Trennung der Proteinfraktionen* erfolgte nach GRASSMANN und HANNIG (vgl. Abb. 5). Das Serum zeigte bei 9 von den 11 Carcinomfällen eine Verminderung der Albumine (bis auf 39%, Nr. 4481), bei 7 Fällen eine Vermehrung der  $\gamma$ -Globuline (bis auf 39%, Nr. 4481). Deutliche Veränderungen des  $\alpha_2$ -Globulingehaltes, wie sie von ESSER und Mitarbeiter gefunden wurden, mit deren Beobachtungen wir sonst im Einklang stehen, konnten wir bei den hier untersuchten Fällen nicht feststellen. Gleich den genannten Untersuchern hatten auch wir den Eindruck, daß die Serumveränderungen um so ausgeprägter waren, je fortgeschritten das Carcinom war, so bei den Fällen 4461, 4481 und bei dem durch Axillardrüsentuberkulose komplizierten 14071. Im übrigen ergaben die Befunde keinen Anhaltspunkt für eine das Carcinom oder die Mastopathie im Elektrophoresebild kennzeichnende Serumveränderung (vgl. hierzu die differierenden Serumbefunde Geschwulstkranker bei ANTWEILER).

Die *Gewebsflüssigkeit* enthielt im Minimum 48,5%, im Maximum 78,4% Albumin. Die entsprechenden Grenzwerte lagen bei den Globulinen für  $\alpha_1$  zwischen 1,3—7,7%, für  $\alpha_2$  zwischen 1,2—10,0%, für  $\beta$  zwischen 6,2—12,6% und für  $\gamma$  zwischen 12,0—31,5%.

### *2. Die Befunde an der Cystenflüssigkeit.*

Der Eiweißgehalt betrug in 2 Fällen (8145 und 15111) 9,2 bzw. 5,0 g-%. In beiden Fällen erschien das Eiweiß elektrophoretisch einheitlich und legte bei seiner Wanderung eine Strecke zurück, wie sie etwa der des Albumins entspricht. In einem 3. Falle konnten dagegen elektrophoretisch 2 Fraktionen aufgedeckt werden, von welchen die am meisten anodenwärts gelegene 7,4% und die daran anschließende 92,6% ausmachte. Im 4. Falle gelang zufolge der außerordentlich hohen Viscosität des dunkelbraunen Saftes die elektrophoretische Trennung nicht, und die Flüssigkeit blieb an der Auftragsstelle haften.

### *3. Die Befunde an anderen Gewebsflüssigkeiten. Die Lymphe.*

In den 3 Geschwulstfällen a—c (Myom, Myosarkom und Hypernephrom) und in der Gfl. der Haut bei Röntgenschäden zeigten sich hinsichtlich der Eiweißfraktionen keine prinzipiellen Unterschiede gegenüber den Befunden an der Gfl. der Brustdrüse, und auch die Lymphe aus dem cystischen Lymphangioma (4) bot elektrophoretisch ein übereinstimmendes Verhalten. In der Lymphe, aber auch in der Flüssigkeit aus dem vercysteten Uterusmyom (a) war der Eiweißgehalt hingegen auffällig hoch, nämlich 8,34 bzw. 8,03 g-%. In diesen Fällen hatte bereits *in vivo* eine erhebliche Konzentration der Flüssigkeit etwa auf das Doppelte des üblichen Wertes bei der Gfl. stattgefunden (Eindickung). In der Lymphflüssigkeit aus dem Lymphangioma lag sie sogar höher als

im zugehörigen Serum (7,17 g-%). Der Eiweißgehalt in den übrigen Fällen war 4,24 (Myosarkom), 6,74 (Hypernephrom) und 3,97 g-% (Röntgenhaut).

#### Besprechung der morphologischen und elektrophoretischen Befunde.

In Fortführung vorausgegangener Untersuchungen wird gezeigt, daß das Mammagewebe bei flüchtiger Brustdrüsenschwellung, bei Fibrose und bei verschiedenen Graden von Mastopathie ohne und mit Carcinom im Interstitium jeweils eiweißhaltige Flüssigkeit in verschieden reichlicher Menge enthält. Örtliche Entzündungen (Exsudat) oder allgemeine Ödeme kommen als Erklärung für das Vorhandensein dieser eiweißreichen freien Flüssigkeit im Gewebe nicht in Frage. Es handelt sich vielmehr um Gewebsflüssigkeit, welche eben in der Mamma, auch ohne Behinderung der Lymphabfuhr, im allgemeinen in viel reichlicherer Menge enthalten ist als in anderen Organen. Bei erschwertem Lymphabfluß, vor allem infolge axillärer Lymphdrüsenmetastasen, ist im Gewebe naturgemäß besonders viel Flüssigkeit angesammelt.

In Übereinstimmung mit unseren früheren Feststellungen (1952 b) zeigte die Gfl. der Mamma einen *niedrigeren Eiweißgehalt als das Serum*. Am häufigsten fanden wir zwischen 4,5—5 g-%, also wesentlich mehr, als von der Gfl. des Gesunden behauptet [wird in der Literatur wird öfters (z. B. GROSSE-BROCKHOFF, WUNDERLY und WUHRMANN, VOGT) der von GAMBLE (1942) für die interstitielle Flüssigkeit auf indirektem Wege ermittelte Wert von nur 0,1 g-% zitiert!]. Ob dieser hohe Eiweißgehalt pathologisch ist und mit den bestehenden, übrigens ganz verschiedenen schweren Parenchymveränderungen zusammenhängt, wissen wir nicht, da der Eiweißgehalt der Gewebsflüssigkeit aus völlig gesunden Brustdrüsen nicht bekannt ist. Auf Grund der etwa gleich deutlichen Anfärbung von Eiweißpfützen, die wir in Mammaschnittpräparaten auch bei brustgesunden Frauen im Prämenstruum und bei Graviden vorgefunden hatten, neigen wir zur Auffassung, daß der Eiweißgehalt der Gfl. der Brustdrüse der gesunden Frau auch weit höher liegt als 0,1 g-%. BARTELHEIMER und SCHWARTZKOPFF finden im „Gewebssaft“, den sie durch Absaugen von Hautwunden nach Cantharidenwirkung gewinnen, übrigens auch einen sehr ähnlichen Eiweißgehalt wie wir, nämlich durchschnittlich 4,3 %.

Beziehungen zwischen bestimmten Mammaerkrankungen und dem Eiweißgehalt der Gfl. ließen sich nicht feststellen.

Schon das histologische Bild der Gfl., die sich vorwiegend im zell- und gefäßarmen lockeren Bindegewebe an der Grenze gegen das capillarreichere Fettgewebe findet, legt den Gedanken nahe, daß die in ihr in reichlicher Menge enthaltenen Eiweißkörper im wesentlichen aus der Blutbahn stammen. Die elektrophoretischen Befunde an der abge-

saugten Gl. stehen mit dieser Auffassung im Einklang: denn in allen Fällen, gleich bei welcher Erkrankung, waren dieselben Proteinfraktionen nachzuweisen wie im Serum. Es bestehen jedoch *konstante quantitative Unterschiede*, indem alle Gfl. ärmer an Eiweiß und relativ reicher an Albumin sind, während die Globuline absolut und relativ vermindert sind.

Da, wie erwähnt, eine Gewinnung restlos blutfreier Flüssigkeiten nur in seltenen Fällen möglich war, mußte mit einer geringen „Verunreinigung“ durch Serum gerechnet werden. Der ausnahmslos niedriger liegende Eiweißgehalt und die stets festgestellte quantitative Verschiedenheit in der Zusammensetzung der Eiweißfraktionen der Gfl. gegenüber dem Serum zeigen jedoch, daß die Beimengung nicht wesentlich gewesen sein kann.

Fast in allen Fällen war in der frisch gewonnenen Gfl. beim Sammeln der Portionen ein lockeres Gerinnsel, wahrscheinlich Fibrin, aufgetreten. Dieser Umstand spricht dafür, daß die Gfl. auch Fibrinogen enthält.

Lange Zeit hindurch wurde von namhaften Forschern wie KROGH, LANDIS, SCHADE, EPPINGER usw. die Auffassung vertreten, daß das physiologische Transsudat überhaupt eiweißfrei ist. Andere hingegen, z. B. DRINKER und FIELD, RÖSSEL sprachen sich mit Entschiedenheit dahin aus, daß die Capillaren auch unter normalen Bedingungen für Eiweiß durchlässig sind. Diese letztere Auffassung konnte experimentell durch einen von uns (KLINGENBERG) weiter gestützt werden. Wir möchten uns hier im übrigen dem Standpunkt RÖSSLES (1944) und anderer anschließen, wonach die Permeabilität für Bluteiweißkörper in den verschiedenen Capillargebieten unterschiedlich ist. Die Durchlässigkeit der Blutgefäße der Mamma für Eiweiß hängt vielleicht mit ihrer Funktion als Bildungsstätte der Milch zusammen. Die Mastopathie gilt heute allgemein als dyshormonale Störung. Es liegt nahe, die in solchen Fällen und bei Brustkrebs besonders stark ausgeprägte Permeabilitätssteigerung gleichfalls mit hormonalen Störungen in Beziehung zu setzen (vgl. hiezu auch die klinischen Beobachtungen von MAHNERT und MOSER (1950a, b; 1951a, b; 1953).

*Ebensowenig wie im Serum waren auch in der Gfl. für das Carcinom elektrophoretisch kennzeichnende Veränderungen nachzuweisen*, indem sich auch hier zwischen den Krebsfällen und den nichtkrebsigen Fällen keine auffälligen Unterschiede ergaben.

Der Eiweißgehalt der Gfl. und ihrer einzelnen Fraktionen ist weitgehend durch die Serumzusammensetzung bestimmt. Dies zeigt sich sehr deutlich, wenn man das Verhältnis des Gesamtproteins bzw. der Proteinfraktionen zwischen Gfl. und Serum berechnet. Es ergibt sich ungeachtet der jeweiligen pathologisch-anatomischen Diagnose oder der Abweichung der Serumzusammensetzung von der Norm eine bemerkenswerte Konstanz dieses Quotienten, d. h. die ins Gewebe übertretenden Proteink Mengen stellen relativ konstante Bruchteile der einzelnen Serum-eiweißkomponenten dar.

Die statistische Auswertung ergab folgende prozentuelle Verhältnisse der Proteinfraktionen zwischen Gfl. ( $F_G$ ) und Serum ( $F_S$ ):

	$F_G/F_S$
Gesamtprotein . . . . .	0,67 $\pm$ 0,22
Albumin . . . . .	1,21 $\pm$ 0,01
$\alpha_1$ -Globulin . . . . .	0,78 $\pm$ 0,08
$\alpha_2$ -Globulin . . . . .	0,42 $\pm$ 0,04
$\beta$ -Globulin . . . . .	0,81 $\pm$ 0,05
$\gamma$ -Globulin . . . . .	0,85 $\pm$ 0,03

Ein anderes Bild von der Abhängigkeit der Protein Zusammensetzung der Gfl. von der des Serums zeigt sich, wenn man die Gesamteiweißmenge, bzw. die jeder Fraktion im Serum gleich 100% setzt und die dazugehörige der Gfl. darauf bezieht. Es ergibt sich, daß von dem im Serum vorhandenen Protein in der Gfl. im Mittel folgende Mengen zu finden sind:

Gesamtprotein . . . . .	67 $\pm$ 2%
Albumin . . . . .	81 $\pm$ 3%
$\alpha_1$ -Globulin . . . . .	52 $\pm$ 7%
$\alpha_2$ -Globulin . . . . .	28 $\pm$ 3%
$\beta$ -Globulin . . . . .	54 $\pm$ 5%
$\gamma$ -Globulin . . . . .	57 $\pm$ 4%

Im Vordergrund steht demnach das Albumin, während die Globuline mit Ausnahme des  $\alpha_2$ -Globulins, welches besonders stark gesenkt ist, auf etwa den halben Serumgehalt reduziert sind. Der *Albumin-Globulin-Quotient ist also in der Gfl. stets höher als im Serum*; er schwankt in der Gfl. zwischen 1,07—3,62 (Nr. 14071: Narbe nach Carcinomextirpation bzw. Nr. 817, angedeutete Mastopathie), während er beim Serum zwischen 0,61—1,70 liegt, (Nr. 14071 bzw. 817).

Die Abb. 5 faßt sämtliche elektrophoretischen Befunde zusammen und zeigt das Verhalten von Serum und zugehöriger Gfl. nebeneinander. Beide Kurven sind auf Grund von Mittelwerten konstruiert.

Die Tatsache des niedrigeren Eiweißgehaltes der Gfl. gegenüber dem Serum läßt ebenso wie die relative Vermehrung des Albumins in der Gfl. an die Filterfunktion der Capillarwand denken. Es ist seit langem bekannt, daß die Capillarwand ein Hindernis für die Passage von Eiweißmolekülen darstellt, wovon jedoch die kleinermolekularen Albumine nicht im gleichen Maße wie die Globuline betroffen sind.

Unsere Befunde an der Gfl. decken sich in dieser Hinsicht durchaus mit den Ergebnissen der Untersucher am Ödempunktat (bei kardialer Dekompensation), an Pleuratranssudaten und an der tierischen Lymphe (vgl. die Zusammenstellung von WUNDERLY und WUHRMANN, welche in den genannten Flüssigkeiten gleichfalls relativ mehr Albumine und relativ und absolut weniger Globuline gefunden haben und sehr ähnliche Kurvenbilder bringen). Der „Gewebssaft“ aus Hautwunden, der durch BARTELHEIMER und Mitarbeiter bzw. durch PEZOLD und HINZ nach Abtragen von Cantharidenblasen abgesaugt wurde, zeigte im Elektro-

phoresebild gleichfalls eine sehr ähnliche Abweichung gegenüber dem Serum eiweißspektrum, wie wir es gesehen hatten. In den Exsudaten und in den entzündlichen Ödemen (Cantharidenblaseninhalt) scheint nach den bisherigen Ergebnissen die Verminderung des Globulingehaltes hingegen weniger auffällig (KUTZIM; WUHRMANN; WUNDERLY und WUHRMANN).

Nach unseren Erfahrungen wird unter den Globulinen das  $\alpha_2$ -Globulin in besonderem Maße am Übertritt in die Gewebsflüssigkeit gehindert. Auch andere Untersucher fanden, daß gewisse Globulinfraktionen mit-

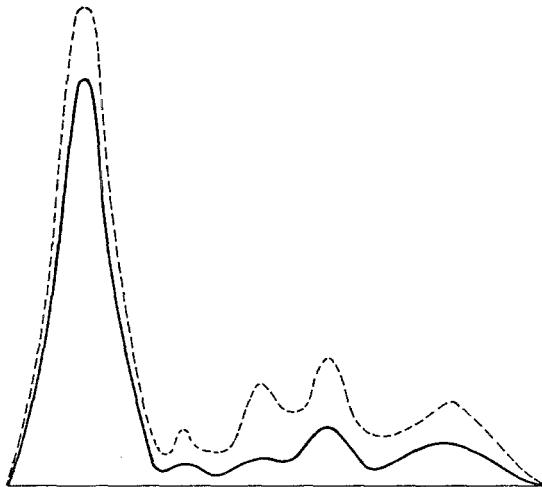


Abb. 5. Elektropherogramme von Serum —— und dazugehöriger Gewebsflüssigkeit —— bei Untersuchung gleicher Volumina beider Flüssigkeiten. Beide Kurven sind auf Grund von Mittelwerten konstruiert.

unter in geringerem Maße als andere Globuline die Capillarwand passieren (BAETELHEIMER und SCHWARTZKOPFF). WUNDERLY und WUHRMANN vermuten, daß für den Durchtritt der Eiweißkörper ihr Molekulargewicht maßgeblich ist und schließen auf eine Filterselektion der Capillarwand nach Teilchengröße. Im übrigen nehmen sie eine Änderung der Zellpermeabilität unter abnormen Bedingungen an.

Von besonderem Interesse ist die Frage nach dem *Schicksal* der ins Gewebe ausgetretenen Bluteiweißkörper und weiterhin, inwieweit die Gewebsflüssigkeit mit der Lymphe identisch ist.

Zunächst ist zu bedenken, daß das einmal ins Gewebe durchgetretene Eiweiß von diesem zum Teil konsumiert (zum Gewebsaufbau verwendet), bzw. zum Teil verändert wird und dann erst in die Lymphbahnen gelangt. Wir können daher nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die abweichende Zusammensetzung von Gfl. und Serum ausschließlich auf eine selektive Capillarpermeabilität oder auch auf örtliche Stoffwechselleistungen der Gewebe zurückzuführen ist. Ein Hinweis auf diese

letztere Möglichkeit liegt in der Tatsache der Umwandlung der globulären Eiweißkörper der Flüssigkeitsseen in Kollagen und Hyalin, weil diese Umwandlung ohne Wechselwirkung mit dem lebenden Gewebe (Stoffwechsel) schwer vorstellbar ist.

Ob die Gfl. mit Lymphe identisch ist, bleibt vorläufig ungeklärt. Wir neigen der Vorstellung zu, daß die Zusammensetzung der Gfl. immer mehr und mehr der Zusammensetzung der Lymphe gleichkommt, je mehr sie sich dieser nähert. Wir denken also an eine *graduelle Änderung der Gfl. in der Richtung ihres Stromes*, das ist von der Capillarwand zur Lymphbahn. Für die Ähnlichkeit von Gfl. und Lymphe spricht auch der Umstand, daß die von uns untersuchte (allerdings eingedickte) Lymphe aus dem cystischen Lymphangioma ein ganz entsprechendes Verhältnis der Proteinfraktionen zeigte wie die Gewebsflüssigkeiten der Mamma bzw. der Tumoren. Das Überwiegen des Albumins in der Lymphe ist übrigens bekannt (s. KLEINER).

Wir möchten besonders hervorheben, daß auch die *Gfl. aus den vercysteten Tumoren* (Myom, Sarkom und Hypernephrom) und aus der sklerosierten Röntgenhaut ein *elektrophoretisch übereinstimmendes Eiweißbild* darboten wie die Gewebsflüssigkeiten der Mamma. Bei der Röntgenhaut und beim Sarkom enthielten sie im Vergleich zum zugehörigen Serum wieder relativ mehr Albumine und weniger Globuline.

Im Gegensatz hierzu bietet die Flüssigkeit aus den cystischen Milchgängen ein gänzlich anderes Bild, was verständlich ist, da an ihrer Entstehung sekretorische Vorgänge seitens des Gangepithels maßgeblich beteiligt sind.

#### **UV-spektrographische Befunde.**

*Serum und Gewebsflüssigkeit der Mamma* (s. Tabelle 1). Durch die UV-Spektrographie werden bei diesem Untersuchungsgut in erster Linie die aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan, und zwar sowohl die freien als auch die in Eiweiß eingebauten Aminosäuren erfaßt. Unter den 11 Fällen sei als Beispiel Nr. 4298 herausgegriffen (Abb. 6 mit den UV-Absorptionsspektren von Gfl. und Serum). In Kurve 1 ist das UV-Spektrum der unverdünnten *Gewebsflüssigkeit* ( $p_{\text{H}}$  7) dargestellt<sup>1</sup>. Wir sehen das für die meisten Eiweißkörper charakteristische Absorptionsmaximum bei  $3650 \text{ } \nu'$ , das den aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan angehört. Kurve 2 der gleichen Abbildung zeigt die Absorption derselben Gfl. nach Zugabe von 0,1 n NaOH bei  $p_{\text{H}}$  13, wobei die Verdünnung bereits berücksichtigt ist. Beide Kurven geben die auf die Schichtdicke 1 cm bezogene Extinktion, den

<sup>1</sup> Wir wendeten teils die photographische Methode mit Vergleichsspektren und zentrisch rotierender Sektorblende nach POOL, teils das lichtelektrische Aufnahmeverfahren mit dem Zeiss-Spektrometer an, wobei sich durchwegs völlige Übereinstimmung in den Meßwerten ergab.

sog. dekadischen Extinktionsmodul  $m$  in logarithmischer Darstellung wieder. Eine genaue Bestimmung der Trockensubstanz war in Anbetracht der oft minimalen Mengen von Gfl., die uns nach der vorausgegangenen elektrophoretischen Untersuchung noch zur Verfügung standen, nicht möglich, so daß auf die Angabe des auf die Konzentrationseinheit bezogenen Extinktionskoeffizienten verzichtet werden mußte.

Der Alkalisierungseffekt — Rotverschiebung und häufig Erhöhung des Maximums — läßt mit aller Sicherheit die Anwesenheit von Tyrosin erkennen, während aus der relativen Höhendifferenz der Maxima  $A$  und  $A'$  darauf geschlossen werden kann, daß gleichzeitig Tryptophan anwesend ist. Die genannte Differenz, also der Ausdruck ( $\log m_{\max A'} - \log m_{\max A}$ ) oder auch, was dasselbe ist, der Quotient  $m_{A'}/m_A$  (s. Tabelle 1) ist nun ein unmittelbares Maß für das relative Verhältnis von Tyrosin zu Tryptophan. Diesen Zusammenhang hat seinerzeit BERNDT quantitativ ausgewertet und wir konnten in früheren Arbeiten auf diese Weise den Tyrosin-Tryptophangehalt der Trockensubstanz der Gewebsflüssigkeit bei 6 anderen Fällen ermitteln [RATZENHOFER, SCHAUENSTEIN und BERNDT; RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN (b)], und zwar 4,44—5,46% Tyrosin und 0,78—1,42% Tryptophan (Fehlergrenze  $\pm 10\%$ ).

Die Rechnung ergibt allgemein, daß der oben genannte Quotient der Extinktionsmoduln in den Maxima  $A$  und  $A'$  um so größer ist, je größer das molare Verhältnis Tyrosin zu Tryptophan ist. Die folgende Kurve der Abb. 7 stellt den Zusammenhang zwischen dem molaren Verhältnis Tyrosin/Tryptophan und dem erwähnten Modulquotienten dar und man entnimmt daraus, daß in den Gewebsflüssigkeiten am häufigsten ein molares Verhältnis Tyrosin/Tryptophan von 1:0,05—1:0,25 anzutreffen ist, was bei Proteinen sehr häufig und bei den Albuminen und Globulinen die Regel ist (vgl. Tabelle 1).

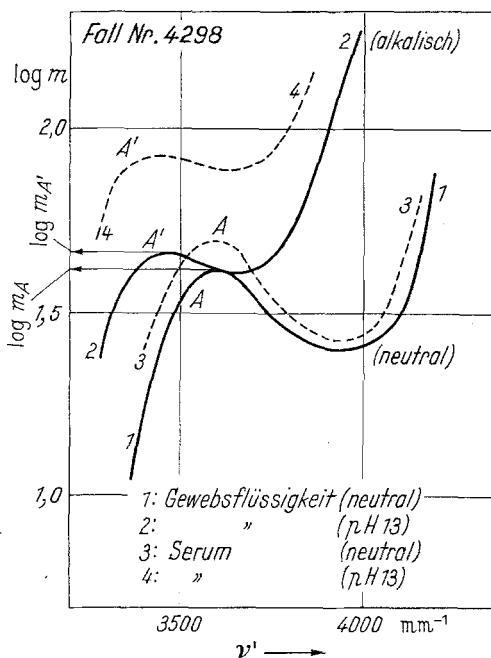


Abb. 6. E. 4298/53. 67jährig, ♀. Mammacarcinom bei atrophierender Mastopathie. UV-Spektren der Gewebsflüssigkeit und des Serums bei neutraler bzw. alkalischer Reaktion.

Die spektrographische Untersuchung der entsprechenden Seren ergab im Prinzip die gleichen Absorptionskurven, deren Modulquotienten ebenfalls das gleiche Verhältnis von Tyrosin zu Tryptophan anzeigen (vgl. im Beispiel von Abb. 6 die Kurven 3 und 4). Dabei stellte sich aber heraus, daß die gemessenen Absorptionen ohne Ausnahme beträchtlich höher liegen als bei den entsprechenden Gewebsflüssigkeiten. Die beobachtete Abnahme der Absorption der Gfl. lag zwischen 35 und 85% der Serumabsorption.

Das molare Verhältnis von Tyrosin zu Tryptophan liegt im gleichen Bereich wie bei den Gewebsflüssigkeiten.

Die Modulquotienten (als Maß für das molare Verhältnis Tyrosin/Tryptophan) stimmen bei Serum und Gfl. nur bei der Hälfte der Fälle miteinander überein.

Weiters ergibt sich beim Vergleich der Werte von  $m_A$  und  $m_{A'}$  bei Serum und Gfl. mit dem elektrophoretisch ermittelten Eiweißgehalt beider Flüssigkeiten folgendes:

Geht man von der Annahme aus, daß die Maximumabsorptionen ein unmittelbares quantitatives Maß für den Proteingehalt von Serum oder Gewebsflüssigkeit darstellen, so müßte man

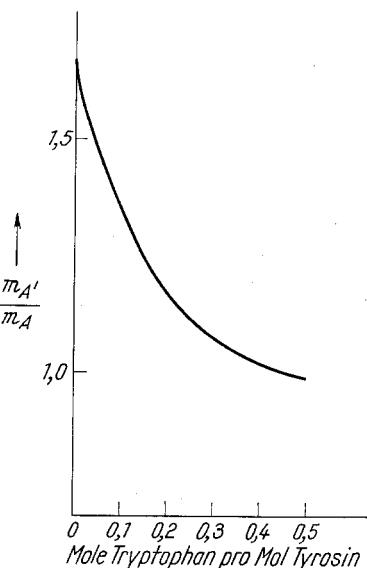


Abb. 7. Zusammenhang zwischen Modulquotienten und molarem Verhältnis Tyrosin/Tryptophan.

erwarten, daß die Quotienten  $\frac{\text{Proteinserum}}{\text{Proteingfl.}}$  in jedem einzelnen Fall

den Quotienten  $\frac{m_A \text{ Serum}}{m_A \text{ Gfl.}}$  entsprechen. Die Tabelle 2 zeigt aber, daß

Tabelle 1.

Pathologischer Befund	Fall Nr.	Serum			Gewebsflüssigkeit		
		$m_A$	$m_{A'}$	$m_{A'} : m_A$	$m_A$	$m_{A'}$	$m_{A'} : m_A$
Narbe nach Carcinom .	14071	54,9	71,1	1,3	47,8	57,2	1,2
Carcinom + Fibrose . .	146	63,0	71,5	1,1	48,0	60,0	1,3
Blutende Mamma . . .	576	75,8	114,0	1,5	37,1	52,7	1,4
Fibrose . . . . .	817	48,9	54,2	1,1	16,6	24,8	1,5
Flüchtiges Ödem . . .	2511	66,0	56,0	0,9*	40,7	35,0	0,9*
Carcinom. . . . .	4461	61,5	102,0	1,6	38,9	52,7	1,3
Mastopathie . . . . .	2377	52,5	69,8	1,3	41,7	34,6	1,1
Carcinom. . . . .	4298	48,9	83,1	1,7	41,7	47,3	1,1
Mastopathie . . . . .	4777	50,0	46,9	0,9*	43,6	35,2	0,8*
Narbe nach Carcinom .	4814	66,0	81,6	1,2	33,1	49,5	1,5
Fibrose . . . . .	5278	56,2	63,0	1,1	33,9	53,7	1,6

\* Anomaler Modulquotient!

dies nicht der Fall ist. Daraus ist zu schließen, daß an dem Zustandekommen der Absorptionsmaxima  $A$  bzw.  $A'$  in den Spektren von Serum oder Gewebsflüssigkeit nicht nur das eiweißgebundene Tyrosin bzw. Tryptophan Anteil haben, sondern auch die freien oder in Proteinspaltprodukte eingebauten Aminosäuren. Außerdem könnte auch noch eine Anomalie in den Aromatenabsorptionen vorliegen, von der noch weiter unten die Rede sein wird.

Die in jedem Fall festgestellte Abnahme der Absorption beim Übergang von Serum zu Gewebsflüssigkeit zeigt zwar, daß wohl ein Zusammenhang zwischen

Absorptionsmaximum bei  $3600 \text{ mm}^{-1}$  und Eiweißgehalt, unter Umständen auch eine grob angenäherte Proportionalität gegeben ist, daß jedoch eine Eiweißbestimmung auf Grund der Intensität der UV-Maxima keineswegs statthaft ist.

Besonders auffallend ist, daß bei den Fällen

Nr. 2511 und 4777 (mit anomalen Modulquotienten im Gfl.-Spektrum) die gleiche Anomalie auch im Serum auftritt (s. Tabelle 1). Werte für  $m_{A'}/m_A$  unter 1 treten bei Mischungen von Tyrosin und Tryptophan überhaupt nicht auf und deuten somit auf eine Anomalie in der Aromatenabsorption der Gfl. und der Seren der genannten Fälle. Ohne hier auf eine speziellere Interpretation einzugehen zu wollen, soll doch darauf hingewiesen werden, daß solche Anomalien z. B. dann auftreten, wenn die Tyrosingruppen eines Proteins an einer Komplexbildung teilnehmen, wie an Komplexen zwischen Rinderserumalbumin und konjugiert-ungesättigten Fettsäuremolekülen festgestellt werden konnte (GOLD; SCHAUENSTEIN und GOLD). Eine mehrere Monate später wegen dieser Anomalien durchgeföhrte klinische Nachuntersuchung ergab bei den 2 Patientinnen eine Cystopyelitis (2511) bzw. eine ausgesprochene Leberschädigung (4777).

Über das UV-spektrographische Verhalten von Körpersäften liegen bisher nur sehr wenige Arbeiten vor. Wir haben hier kurz auf die UV-Messungen einzugehen, die in letzter Zeit MEYER-ARENDT und Mitarbeiter am experimentellen entzündlichen Ödem ausgeführt haben. Ein genauerer Vergleich mit unseren Ergebnissen ist leider mangels einer quantitativen Auswertung der Spektren in den Untersuchungen des

Tabelle 2.

Fall Nr.	$\frac{m_A}{m_A, \text{Gfl.}}$	$\frac{m_{A'}}{m_{A'}, \text{Gfl.}}$	Protein, Serum
	Serum	Gfl.	Protein, Gfl.
14071	1,15	1,24	1,31
146	1,31	1,20	1,70
576	2,04	2,16	1,63
2511	1,62	1,60	1,66
817	2,94	2,18	3,48
4461	1,58	1,93	1,58
2377	1,26	2,02	1,51
4298	1,17	1,76	1,14
4777	1,15	1,33	1,47
4814	2,00	1,66	1,65
5278	1,65	1,17	1,31

genannten Autors nicht möglich. In qualitativer Hinsicht besteht insfern Übereinstimmung, als auch MEYER-ARENDE in den UV-Spektren seiner Präparate das typische Maximum der aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan findet. Da dieses Maximum natürlich bei allen Proteinen vorkommt, die diese Aminosäuren enthalten, erscheint uns die Schlußfolgerung nicht stichhaltig, daß das Aromatenmaximum der Ödemflüssigkeit speziell auf die Anwesenheit von „Globulinen des Blutserums“ hinweisen soll.

In den genannten Untersuchungen wird ferner der *Einfluß der Formolfixierung auf das UV-Spektrum* der Ödemflüssigkeit näher studiert. Da keine näheren Angaben über die Berücksichtigung der Formaldehyd-Eigenabsorption gemacht werden, ist auch hier ein quantitatives Studium der Absorptionseffekte nicht möglich. Die Kurven zeigen aber, was auch auf Grund der einschlägigen Literatur (Hicks) durchaus zu erwarten war, eine außerordentlich drastische Absorptionsänderung durch den Formaldehydeinfluß an: Das Aromatenmaximum bei  $3600\text{ mm}^{-1}$  verschwindet und es treten neue Maxima bei etwa 3850 und  $3330\text{ mm}^{-1}$  auf. Da gerade das Maximum bei  $3600\text{ mm}^{-1}$  mit Recht als Kriterium für die Anwesenheit der aromatischen Aminosäuren und als Charakteristikum der Ödemabsorption angesehen wird, kann man bei den Spektren der formolfixierten Präparate wohl kaum mehr von einer „Ähnlichkeit“ mit der Absorption des unfixierten Materials sprechen. In Wirklichkeit macht die Formolfixierung eine verlässliche Identifizierung der Spektren hinsichtlich der Anwesenheit von Tyrosin oder Tryptophan praktisch unmöglich.

Der Grund für diese Absorptionsänderung dürfte auch nicht, wie MEYER-ARENDE und RALL annehmen, in einer Inhomogenität des Materials liegen, sondern vielmehr in der durch die Fixierung bewirkten Änderung des molekularen bzw. micellaren Aufbaues des Proteins. Solche Änderungen sind bekanntlich begleitet sowohl von der zusätzlichen Ausbildung interpeptidischer Wasserstoffbrücken, als auch von Änderungen im Ionisationszustand des Tyrosins und beide Effekte bewirken bekanntermaßen erhebliche Änderungen im ultravioletten Absorptionsspektrum.

#### Zusammenfassung.

Wie zunächst histologisch gezeigt wird, ist die Gewebsflüssigkeit (Gfl.) der Mamma bei den verschiedenen Formen von Mastopathie bzw. bei krebsig entarteter Mastopathie auch ohne Störung des Lymphabflusses in der Regel stark vermehrt. Sie läßt sich in solchen Fällen ohne nennenswerte Beimengung von Blut, Zellen usw. durch Absaugen leicht gewinnen. Bei 20 Fällen von Mastopathie und Mammacarcinom wurde der Eiweißgehalt der Gfl. zwischen 2,0—6,0 g-%, meist zwischen 4,5—5 g-% festgestellt; er beträgt im Mittel  $67 \pm 2\%$  des Eiweißgehaltes der zugehörigen Seren. Die elektrophoretische Untersuchung der Gewebsflüssig-

keiten ergab das Vorhandensein der gleichen Proteinfraktionen wie in den Vergleichsseren, jedoch in anderem Verhältnis, indem ähnlich wie in nichtentzündlichen Ödemen und Ergüssen von Körperhöhlen die Albu-mine relativ vermehrt, die Globuline dagegen relativ und absolut vermindert aufscheinen. Der Albumin-Globulin-Quotient war in der Gewebsflüssigkeit daher stets höher als im Serum.

Die UV-spektrographische Untersuchung dieser Gewebsflüssigkeiten der Mamma und der zugehörigen Seren zeigt jeweils die Anwesenheit der zum Großteil an Eiweiß gebundenen aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan an, wobei die Absorption der Gewebsflüssigkeit aber nur rund  $\frac{2}{3}$  der Serumabsorption beträgt. Das molare Verhältnis von Tyrosin zu Tryptophan stimmt bei Serum und Gewebsflüssigkeit nur in der Hälfte der Fälle überein, bei den übrigen weicht es sowohl nach oben als auch nach unten hin ab. Eine strenge Parallelität zwischen der Abnahme der UV-Absorption und des Eiweißgehaltes in den Gewebsflüssigkeiten im Vergleich zu den Seren ist nicht gegeben. Dieser Befund kann einerseits, wie wir seinerzeit (1952 b) angenommen hatten, auf Unterschieden zwischen den Eiweißkörpern des Serums und jenen der Gewebsflüssigkeiten beruhen, er könnte andererseits aber auch durch einen verschiedenen Gehalt an nicht eiweißgebundenen (peptidisch gebundenen bzw. freien) aromatischen Aminosäuren in Serum und Gewebsflüssigkeit bedingt sein.

Die histologischen und physikalischen Befunde sind weitere Beweise für die Herkunft der Gewebsflüssigkeit und ihrer Bestandteile überwiegend aus dem Blute. Ihr im Vergleich zum Serum verminderter und auch relativ zueinander abweichender Gehalt an Proteinfraktionen bzw. aromatischen Aminosäuren erklärt sich teils durch partielle Zurückhaltung (selektive Filterwirkung) beim Durchtritt durch die Gefäßwände — teils vielleicht auch durch ihre Bindung (und Verbrauch) im Mammagewebe. Ihre vermehrte Ansammlung bei Mastopathie ist Ausdruck der gesteigerten Permeabilität bei dieser Erkrankung. Da hierbei der Abfluß der Gewebsflüssigkeit durch die Lymphbahnen hinter dem Zufluß zurückbleibt, stagniert sie im stoffwechseltragen Mesenchym, wodurch die Umwandlung der globularen in fibrilläre Eiweißkörper, d. h. die Entstehung der Fibrose und hyalinen Sklerose bei Mastopathie offenbar begünstigt wird.

Offenkundige Unterschiede im Gehalt der Gewebsflüssigkeit an Eiweißfraktionen bzw. aromatischen Aminosäuren waren bei den gut- und bösartigen Erkrankungen der Mamma mit den angewendeten Untersuchungsmethoden nicht faßbar. Ein hinsichtlich der Proteinfraktionen sehr ähnliches Verhalten zeigten auch die Flüssigkeiten aus der Haut beim chronischen Röntgenschaden und aus vercysteten Tumoren (Uterus-myom und -myosarkom, Hypernephrom), ferner die Lymphe aus einem cystischen Lymphangioma. Der Eiweißgehalt der Myomflüssigkeit

und der aufgestauten Lymphe aus dem Lymphangioma war hierbei, offenbar infolge Eindickung, deutlich erhöht.

Wir danken Herrn Dr. W. ROSENKRANZ für die Ausführung der elektrophoretischen Untersuchungen, Frau Dr. O. GOLD für die Aufnahme der UV-Spektren.

### Literatur.

- ANTWEILER, H. J.: Die quantitative Elektrophorese in der Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952. — BARTELHEIMER, H.: Z. exper. Med. **117**, 364 (1951); **118**, 109 (1951). — BARTELHEIMER, H., u. W. SCHWARTZKOPFF: Z. exper. Med. **122**, 478 (1954). — BERNDT, W.: Diss. Univ. Graz 1951. — DRINKER, C. K., u. M. E. FIELD: Lymphatics, Lymph and Tissue Fluid. London 1933. — DUNCAN, G. G.: Diseases of Metabolism. 2. Aufl. Philadelphia u. London: W. B. Saunders Company 1947. — EPPINGER, H.: Permeabilitätspathologie. Wien 1949. — ESSER, H. u. Mitarb.: Klin. Wschr. **1953**, 321. — GAMBLE, J. L.: Chemical Anatomy, Physiology and Pathology of Extracellular Fluid. Boston: Spaulding-Moss Co. 1942. 5. Aufl. Cambridge, Mass.: Harvard University Press 1952. — GöGL, H., u. F. J. LANG: Geschlechtsorgane. In E. KAUFMANN, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 9. u. 10. Aufl., Bd. 2. Berlin 1940. — GOLD, O.: Diss. Univ. Graz 1953. — GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952). — GROSSE-BROCKHOFF, F.: Pathologische Physiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950. — HICKS, C. S.: Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. **12**, 91 (1934). — HINSBERG, K., u. W. GEINITZ: Pathologische Flüssigkeitsansammlungen. In HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, Handbuch der physiologisch und pathologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl., Bd. 5. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — KLEINER, ISR. S.: Human Biochemistry, 3. Aufl. St. Louis: C. V. Mosby Comp. 1951. — KLINGENBERG, H. G., u. E. PETERS: Wien. Z. inn. Med. **30**, 95 (1949). — KROGH, A.: The Anatomy and Physiology of Capillaries. Yale University Press 1929. — KUTZIM, F.: Münch. med. Wschr. **1951**, 2603. — KUZMA, J. F.: The Breast. In W. A. D. ANDERSON, Pathology, 2. Aufl. St. Louis: C. V. Mosby Comp. 1953. — LANDIS, E. M.: Zit. bei RÖSSLE 1943. — MAHNERT, A., u. H. MOSER: (a) Med. Klin. **1950**, 827. — (b) Wien. med. Wschr. **1950**, 560, 624. — Wien. med. Wschr. (a) **1951**, 325; (b) **1951**, 677; **1953**, 115. — McMASTER, P. D., and J. R. PARSONS: J. of Exper. Med. **69**, 265 (1939). — MEYER-ARENDE, J.: Virchows Arch. **323**, 351 (1953). — MEYER-ARENDE, J., u. J. RALL: Virchows Arch. **324**, 351 (1953). — PEZOOLD, F. A., u. G. HINZ: Klin. Wschr. **1953**, 600. — RATZENHOFER, M.: Wien. med. Wschr. **1950**, 646. Gemeinschaftsarbeit mit A. MAHNERT u. H. MOSER. — (a) Wien. med. Wschr. **1951**, 681. — (b) Krebsarzt **6**, 208 (1951). — RATZENHOFER, M., u. E. SCHAUENSTEIN: (a) Verh. dtsch. Ges. Path. (35. Tagg.) **1952**, 233. — (b) Z. Krebsforsch. **58**, 707 (1952). — RATZENHOFER, M., E. SCHAUENSTEIN u. W. BERNDT: Z. Krebsforsch. **58**, 198 (1952). — RÖSSLE, R.: (a) Virchows Arch. **311**, 252 (1943). — (b) Tagg. Dtsch. Pathol. 1944, S. 1. — SCHADE, H.: Zit. bei RÖSSLE 1943. — SCHAUENSTEIN, E., u. O. GOLD: Mh. Chem. **84**, 209 (1953). — SCHAUENSTEIN, E., u. M. RATZENHOFER: Krebsarzt **7**, 294 (1952). — SPRUNT, D. H.: Ann. New York Acad. Sci. **52**, Art. 7, 1052 (1950). — VOGT, H.: Grundzüge der pathologischen Physiologie. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1953. — WUHRMANN, F.: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 937. — WUNDERLY, CH., u. F. WUHRMANN: Plasma **1**, 27 (1953).

Prof. Dr. M. RATZENHOFER, Graz (Österreich), Auenbruggerplatz 25.

Doz. Dr. H. G. KLINGENBERG, Graz (Österreich), Harrachgasse 21.

Doz. Dr. E. SCHAUENSTEIN, Graz (Österreich), Halbärthgasse 5.