

Aus dem Pathologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin,
dem Rudolf-Virchow-Haus der Charité (Direktor: Prof. Dr. L.H. KETTLER)

Fermenthistochemische Veränderungen bei experimentellen Stauungsnekrosen der Leber

Von
ARNO HECHT

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Mai 1965)

In Stauungslebern können bekanntlich zentrale Läppchennekrosen auftreten, die zum Teil unterschiedlich gedeutet werden. Zusätzlich zum Stauungsfaktor wird vielfach noch das Vorhandensein infektiös-toxischer Einflüsse postuliert. Erst das Zusammentreffen beider Faktoren soll zur Ausbildung centrolobulärer Nekrosen führen. Auch hier ist noch nicht völlig geklärt, in welcher Weise die Stauung die Integrität des Zellstoffwechsels und der Zellstruktur beeinflusst. Außer einem Sauerstoffmangel in den zentralen Läppchenpartien ist das Auftreten von Stoffwechselendprodukten und eine Anreicherung des Blutes mit CO_2 zu berücksichtigen. Es ergibt sich weiterhin die Frage, ob nicht vielleicht eine primäre Enzymschädigung die Ausbildung der Nekrose einleitet. Daher haben wir den Versuch unternommen, durch die Anwendung fermenthistochemischer Untersuchungsmethoden einen Einblick in den Mechanismus der Entstehung der zentralen Stauungsnekrosen der Leber zu bekommen und sie mit dem fermentativen Verhalten anderer Nekroseformen zu vergleichen.

Methodik

Wir führten unsere Untersuchungen an der Ratte durch. Als Folge einer unterschiedlichen Einengung des venösen Abflusses des Lobus sinister lateralis erzielten wir in diesem Leberlappen verschiedene Grade der Stauung. Außerdem wurden Tiere zu unterschiedlichen Zeiten nach der Durchführung des Eingriffes getötet, und zwar zwischen 1 Std und 4 Wochen nach Einengung der Vene. Wir führten HE-, HS- und van Gieson-Färbungen durch. Die fermenthistochemischen Nachweise bezogen sich auf die Succinodehydrogenase (SDH), die Cytochromoxydase, eine Reihe NAD-abhängiger Dehydrogenasen wie die Lactatdehydrogenase (LDH), die Glutamatdehydrogenase (GSDH), die Glycerophosphatdehydrogenase (GDH), die Isocitratdehydrogenase (ICDH), die NADH_2 -Cytochrom-c-Reduktase, spezifische und unspezifische Phosphatasen wie die Adenosintriphosphatase (ATPase), Adenosinmonophosphatase (AMPase), Fructose-1,6-diphosphatase (FDPase), alkalische Phosphatase (APase), saure Phosphatase (SPase), die alkalische und saure Naphtholphosphatase (ANPase und SNPase) und Naphthol-Esterasen. Zur Darstellung der Dehydrogenasen verwendeten wir NBT als Wasserstoffacceptor bei einer nach HESS u. Mitarb. sowie SCARFELLI u. Mitarb. modifizierten Technik. Der Nachweis der ATPase und AMPase pH 9,4 erfolgte nach PADYKULA u. HERMANN, und auch bei pH 7,5 verwendeten wir die Ca-Phosphatmethode in Anlehnung an die von PEARSE u. REIS zum Nachweis der 5-Nucleotidase verwendeten Methode (SCHREIBER u. SIMON). Der Nachweis der APase und SPase erfolgte nach GOMORI, während wir bei Anwendung der Naphtholmethoden uns auf die von GÖSSNER angegebene Technik stützten. Zum Nachweis der Phosphatasen verwendeten wir sowohl fixierte wie unfixierte Schnitte.

Ergebnisse

Die auftretenden Veränderungen ließen sich im wesentlichen in drei Stadien unterteilen. Dabei möchten wir hervorheben, daß es uns unter unseren Versuchsbedingungen nicht gelang, ein der menschlichen Stauungsleber vergleichbares Bild mit Atrophie der Leberzellbälkchen und zentraler Verfettung hervorzurufen.

Das erste Stadium ist nur durch geringfügige morphologische Veränderungen gekennzeichnet. Es bietet das Bild der akuten Stauung. Makroskopisch ist der Leberlappen tief dunkel bis bläulich rot verfärbt und auf das Zwei- bis Dreifache seiner normalen Größe vergrößert. Von der Schnittfläche fließt das Blut wie aus

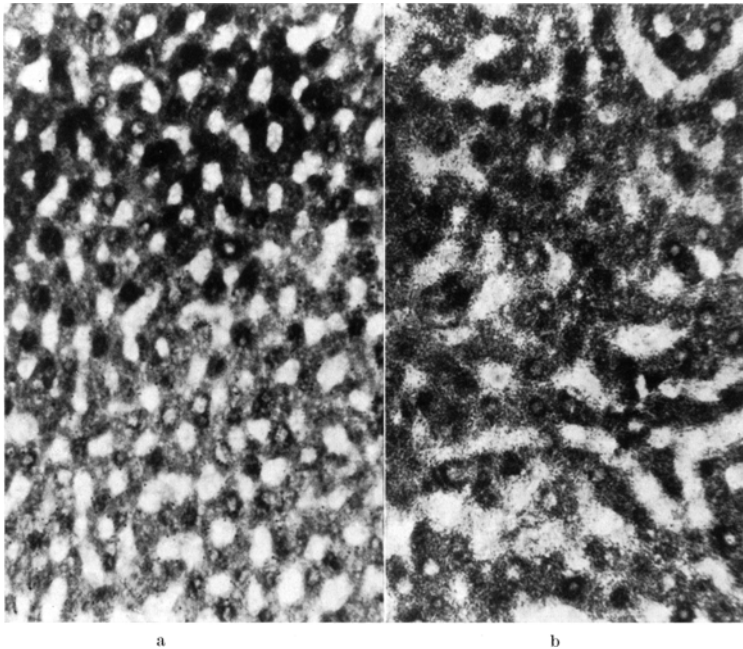


Abb. 1a. Leber, GSDH, Kontrolltier. Vergr. 288fach. Die Formazangranula sind als solche bei dieser Vergrößerung nicht zu erkennen

Abb. 1b. Leber, GSDH, Versuchsdauer 3 Std. Vergr. 288fach. Auffällig die großen, gut erkennbaren Formazangranula, die sich außerdem durch eine intensive Blaufärbung auszeichnen

einem Schwamm ab. Histologisch sind die Sinus deutlich erweitert und prall mit Erythrocyten ausgefüllt. Vor allem in den zentralen Läppchenabschnitten treten die unter diesen Versuchsbedingungen von KETTLER beschriebenen und vor einiger Zeit u. a. von BÖHMIG u. Mitarb. wieder bestätigten Vacuolen der Leberzellen auf. Die histochemischen Veränderungen in diesem Stadium hängen vom Grad der Stauung ab. Bei geringen Stauungsgraden fällt beim Dehydrogenasenachweis das Auftreten großer blauer Formazangranula auf (Abb. 1a und b). Bei höheren Graden der Stauung ist eine Abnahme der Aktivität in den zentralen Läppchenabschnitten zu beobachten. Die Cytochromoxydase läßt in diesem Stadium der Stauung keine wesentlichen Abweichungen von der Norm erkennen. Dagegen sind die SPase und APase bei diesen geringen Graden der Stauung im Bereich des gesamten Läppchens vermehrt (Abb. 2). Die spezifischen Phosphatasen sind gegenüber der Norm nicht verändert. Bei stärkeren Stauungsgraden

zeigen auch die Phosphatasen eine Aktivitätsabnahme in den zentralen Läppchenabschnitten.

Im zweiten Stadium der Stauung ist der Leberlappen makroskopisch etwa wieder auf die normale Größe zurückgekehrt. Die Oberfläche zeichnet sich durch ein gefeldertes, buntes Aussehen aus. Histologisch beobachtet man ausgedehnte Läppchennekrosen, die von den Zentren ausgehend ineinander überfließen. Nur um die periportalen Felder befindet sich noch erhaltenes Parenchym. Histochemisch fällt im Bereich der Nekrosen ein außer-

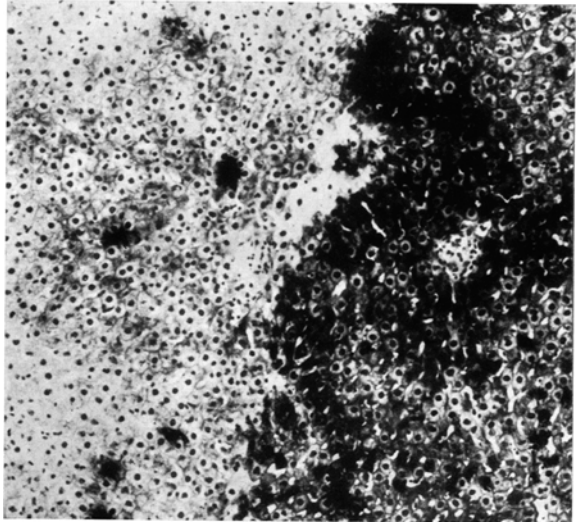


Abb. 2. Leber, APase, Versuchsdauer 3 Std. Vergr. 114fach. Die Leber des Versuchstieres in der rechten Bildhälfte weist gegenüber der Kontrolle eine höhere Enzymaktivität auf

ordentlich rascher Verlust der Dehydrogenasenaktivität auf. In den erhaltenen Zellen in Nachbarschaft der periportalen Felder besteht eine unveränderte

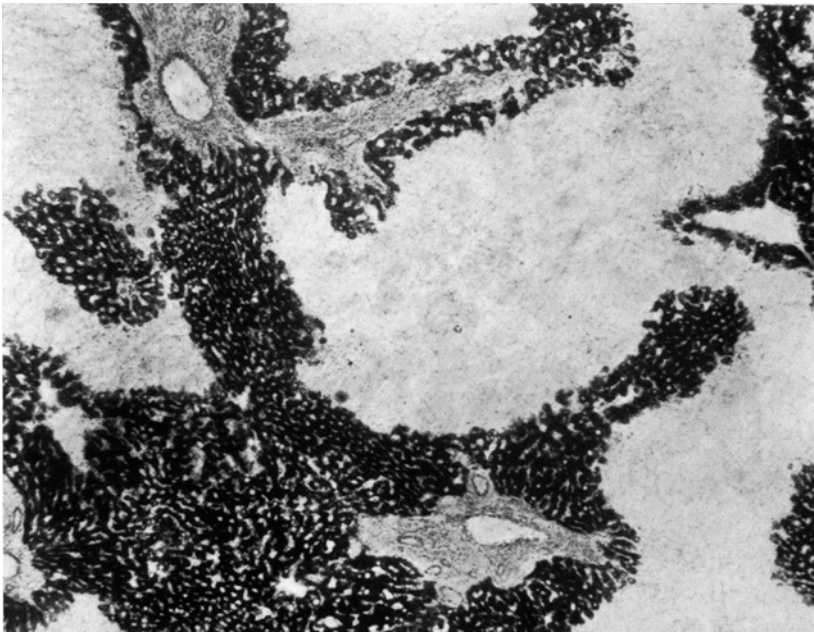


Abb. 3. Leber, LDH, Versuchsdauer 48 Std. Vergr. 40fach. Nur in der Nachbarschaft der Periportalfelder liegen noch erhaltene Leberzellen, die eine unveränderte Enzymaktivität aufweisen

Enzymaktivität (Abb. 3). Nur die Cytochromoxydase ist in diesem Bereich leicht vermindert. Die spezifischen Phosphatasen haben im Nekrosebereich

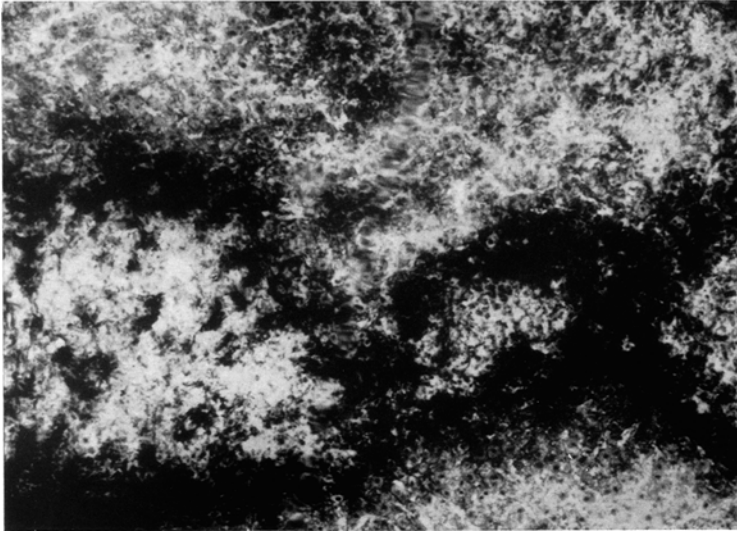


Abb. 4. Leber, AMPase pH 7,5, Versuchsdauer 48 Std. Vergr. 114fach. In der unteren Bildhälfte sind zwei nekrotische Bezirke mit fast völligem Enzymschwund im Zentrum und einer deutlich erhöhten Aktivität in der Randzone zu erkennen

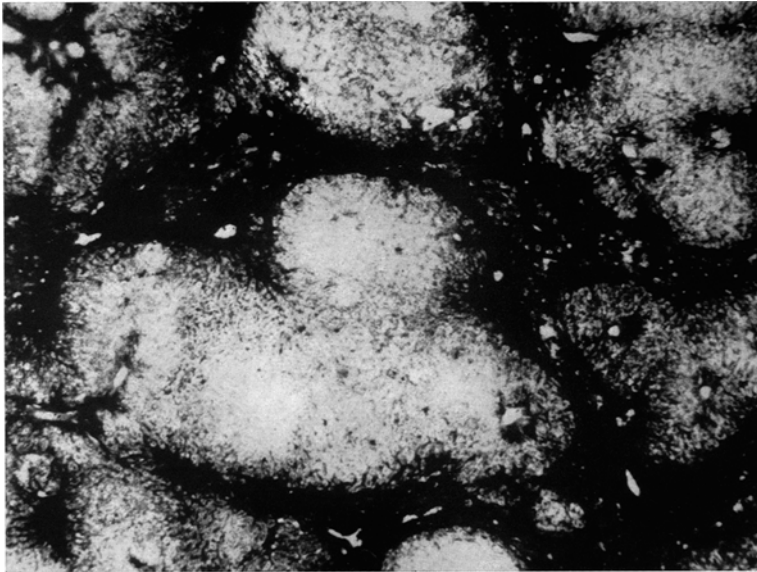


Abb. 5. Leber, AMPase pH 9,4, Versuchsdauer 8 Tage. Vergr. 40fach. Die normale Läppchenstruktur ist aufgehoben, und die Pseudolobuli sind durch breite, enzymaktive Bindegewebsstränge voneinander abgegrenzt

gleichfalls deutlich abgenommen, während in den Randgebieten eine stärkere Schwärzung auffällt (Abb. 4). Die APase und SPase sind in der Nekrose deutlich vermehrt. Die erhaltenen Parenchymbezirke weisen beim Phosphatasennachweis keinen von der Norm abweichenden Befund auf.

Im dritten Stadium ist der Leberlappen makroskopisch normal groß bis geringfügig verkleinert. Histologisch erfolgt eine Abräumung des nekrotischen Gewebes und der Ersatz durch ein Granulationsgewebe. Das enzymatische Verteilungsbild

desselben ist unterschiedlich. Während die SDH und auch die GsDH eine deutliche Aktivität zeigen, ist die der übrigen Dehydrogenasen gering bzw. zum Teil mit histochemischen Methoden gleich Null. Das erhaltene Parenchym weist eine geringere Enzymaktivität als normal auf. Auch die spezifischen Phosphatasen sind hier vermindert. Die Phosphatasenaktivität des Granulationsgewebes ist deutlich.

Als Besonderheit müssen die Fälle hervorgehoben werden, in denen es nicht zur Ausbildung von Stauungsnekrosen gekommen ist, und die nach 14 Tagen bis 4 Wochen getötet wurden. In den Lebern dieser Tiere war die Dehydrogenasenaktivität leicht vermindert, die ATPase wies keine von der Norm abweichenden Befunde auf. Die übrigen Phosphatasen sind im Vergleich zu den Kontrolltieren vermehrt. Das gleiche gilt für die Verhaltensweise der Esterasen.

Wichtig erscheint uns noch die Tatsache, daß wir bei einigen Lebern ein Bild beobachten konnten, das als echte Lebercirrhose mit der Ausbildung von Pseudolobuli, Bindegewebsvermehrung und Gallengangswucherungen anzusehen ist mit einer deutlichen Phosphatasenaktivität im Bereich des Bindegewebes (Abb. 5).

Diskussion

Unseres Erachtens unterstreichen alle tierexperimentellen Untersuchungen, daß die Stauung mit ihren Komplikationen schon für sich allein zu den beschriebenen Nekrosen führt, da irgendwelche zusätzlichen toxischen Einwirkungen dabei nicht vorliegen. Wie und wo der Schädigungsmechanismus angreift, läßt sich auf Grund unserer Befunde nicht entscheiden. Jedenfalls scheint er nicht in einer primären Enzymschädigung zu suchen zu sein. Die von uns beobachteten fermentativen Veränderungen gehen den Nekrosen nicht voraus, sondern sie verlaufen mit ihnen parallel. Das zeigt, daß derselbe Schädigungsmechanismus, der zur Zerstörung der Zellstrukturen führt, auch die Desintegration des Enzymeiweißes zur Folge hat. Dabei ist der rasche Enzymverlust auffällig im Gegensatz z. B. zur Infarktnekrose des Herzens, wo sich entsprechende Veränderungen erst zu einem späteren Zeitpunkt bemerkbar machen (HECHT). Die Befunde an der Leber sind bezüglich des zeitlichen Ablaufes eher den disseminierten Nekrosen des Herzmuskels vergleichbar, in denen auch ein rascher Enzymverlust eintritt.

Über fermenthistochemische Veränderungen bei Durchblutungsstörungen der Leber ist wenig bekannt, wir sind im wesentlichen nur auf die Mitteilung von KETTLER u. BENEKE „Über die Wirkung experimentell gestauten Pfortaderblutes auf die Leber“ gestoßen. Auch diese Autoren beschreiben unter ihren Versuchsbedingungen einen raschen Aktivitätsverlust in der Nekrose mit einer größeren Reaktionsstärke in ihrem Randgebiet. MITHOEFFER u. RAPOPORT geben an, daß bei venöser Blutstauung der Leber keine Änderung der Aktivität der alkalischen Phosphatase eintritt. Über das Verhalten toxisch bedingter Nekrosen berichten z. B. WACHSTEIN u. MEISEL (1), (2). WACHSTEIN u. Mitarb. äußern auf Grund ihrer Befunde die Meinung, daß keine spezifische fermenthistochemische Veränderung existiert, die für eine bestimmte Schädigungsart charakteristisch ist. Das scheint sich auf Grund unserer Untersuchungen auch für die Stauungsnekrose zu bestätigen.

Die centrolobulären Nekrosen glauben wir also als reine Stauungsfolge auffassen zu können ohne Zuhilfenahme zusätzlicher pathogenetischer Faktoren.

Wesentlich scheint uns die hypoxämische Schädigung zusätzlich der Einwirkung von Stoffwechselendprodukten und eines erhöhten CO_2 -Gehaltes des Blutes. Diese Veränderungen haben eine Störung der strukturellen und auch enzymatischen Integrität zur Folge. Durch die Einwirkung heterolytischer Faktoren auf die geschädigte Zelle erklärt sich unseren Erachtens das rasche Auftreten der Nekrose.

Zu dem nach längerer Überlebenszeit der Tiere beobachteten Befund einer Cirrhose des Lappens können wir noch nicht zufriedenstellend Stellung nehmen. Doch scheint es sich um die Bilder einer echten Stauungscirrhose zu handeln, die allerdings von verschiedenen Autoren abgelehnt wird. RÖSSLE vertrat jedoch die Ansicht, daß sich die Stauungscirrhose aus zentralen Läppchennekrosen bei akuter Stauung entwickelt. In diesem Sinne würden auch die von uns bisher erhobenen Befunde sprechen.

Zusammenfassung

Die fermenthistochemischen Veränderungen am akut gestauten Leberlappen unterscheiden sich von denen bei Nekrosen anderer Genese nicht wesentlich hinsichtlich ihrer Qualität, sondern nur bezüglich ihres zeitlichen Auftretens. Nekrosen und Fermentstörungen verlaufen bei der schweren akuten Stauungsleber parallel. Eine Stauungscirrhose entwickelt sich vermutlich auf dem Boden stauungsbedingter zentraler Läppchennekrosen.

Changes in the Enzyme Histochemistry of the Liver in Experimental Necrosis of Passive Hyperemia

Summary

The changes in the enzyme histochemistry of hepatic lobes after acute passive hyperemia are not different qualitatively from those of necroses of other etiologies. They differ only in respect to their time of appearance. In severe, acute passive hyperemia the necroses and disturbances in enzymes run parallel. The congestive cirrhosis of the liver could be the endresult of such centroacinar necroses.

Literatur

- BÖHMIG, H.-J., H.-D. HIERSCHE u. R. DE ROSA: Der Einfluß akuter kreislaufbedingter Nekrosen auf die Transaminasen. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 389—502 (1961).
- GÖSSNER, W.: Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode. *Histochemie* **1**, 48—96 (1958).
- HECHT, A.: Fermenthistochemische Frühveränderungen beim experimentellen Herzinfarkt. *Virchows Arch. path. Anat.* **337**, 414—424 (1964).
- HESS, R., G. SCARPELLI, and A. G. E. PEARSE: The cytochemical localization of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide linked dehydrogenases. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 753—760 (1958).
- KETTLER, L. H.: Über die vakuolige Degeneration von Leberzellen. *Virchows Arch. path. Anat.* **315**, 587—640 (1948).
- , u. G. BENEKE: Über die Wirkung experimentell gestauten Pfortaderblutes auf die Leber. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 528—549 (1961).
- MITHOEFER, J., and S. RAPOPORT: Serum alkaline phosphatase in dogs following ligation of the hepatic veins. *J. Lab. clin. Med.* **37**, 520—525 (1951).
- PADYKULA, H. A., and E. HERMAN: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.* **3**, 170—195 (1955).
- PEARSE, A. G. E., and J. L. REIS: The histochemical demonstration of a specific phosphatase (5-Nucleotidase). *Biochem. J.* **50**, 534—526 (1952).

- RÖSSLE, R.: Entzündungen der Leber. In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. V/1, S. 243—505. Berlin: Springer 1930.
- SCARPELLI, G., R. HESS, and A.G.E. PEARSE: The cytochemical localization of oxidative enzymes. I. Diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 747—752 (1958).
- SCHREIBER, G., u. H. SIMON: Kritische Untersuchungen zum histochemischen Nachweis der Phosphatasen sowie deren Beeinflußbarkeit in vitro und in vivo. *Histochemie* **4**, 252—260 (1964).
- WACHSTEIN, M., and E. MEISEL: (1) Substrat specific phosphatases at pH 7.2 in biliary obstruction and liver cell damage. *Arch. Path.* **65**, 449—459 (1958).
- — (2) Enzymatic histochemistry of ethionine induced liver cirrhosis and hepatoma. *J. Histochem. Cytochem.* **7**, 189—201 (1959).
- —, and C. FALCON: Enzymatic histochemistry in the experimentally damaged liver. *Amer. J. Path.* **40**, 219—241 (1962).

Dozent D. A. HECHT
Pathologisches Institut der Humboldt-Universität
X 105 Berlin, Schumannstr. 20/21