

## Morphologische Beiträge zur Pathophysiologie des Lymphgefäßsystems der Leber

F. HUTH, A. WILDE, H. J. SCHULTEN und S. BERGER

Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. H. Meessen)

Eingegangen am 27. Mai 1970

### Morphological Studies on Patho-Physiology of the Liver Lymph Vessel System

*Summary.* The finer capillary branches of the liver lymph vessel system become unfolded by ligatures of the liver hilus lymph vessels. The experiments were performed in rabbits and rats. The liver lobules do not contain lymphatics. In the Glisson fields often several lymphatics can be demonstrated. The lymphatics are characterized by a flat endothelium, lacking of endothelial pores and basal membrane, by overlapping cell borders and by small papillary protrusions of the endothelium. The endothelial cells are fixated in a dense network of fine filaments. Strong lymphostasis or cholestasis lead to bursting of the intercellular spaces and to open junctions between capillary lumen and interstitial tissue.

An exclusive experimental lymphostasis of the liver induces only short time parenchyma alterations. The lymphostatic oedema decreases the liver storing capacity for tantalum powder.

Combination of lymphostasis with other stresses like cholestasis lead to more severe alterations than pure lymphostasis or cholestasis. 2—3 months after lymphostasis plus cholestasis intensive cirrhotic transformation of rat liver parenchyma can be noticed. The importance of the factor lymphostasis of the liver is discussed for human pathology.

Der Abfluß der Leberlymphe über die Lymphgefäße des Hilus und des Zwerchfells sowie die Lymphknoten der Leber sind bereits früh dargestellt worden (Fleischl, 1874; Sappey, 1874; Budge, 1875; Winkenwerder, 1927; Jossifow, 1931). Asher (1905) hat nachweisen können, daß die Menge der Lymphe des Ductus thoracicus im wesentlichen durch die Leberfunktion bestimmt wird. Pathophysiologische Untersuchungen der Leberlymphe unter verschiedenen Belastungen wie Gabe von Lymphagoga, venöser Blutstauung und Gallestauung liegen ebenfalls vor (Eppinger, 1917; Bloom, 1923; Abe, 1925; McCarrell u. Mitarb., 1941; Cain u. Mitarb., 1947; Kühn und Hildebrand, 1951—1953; Ritchie u. Mitarb., 1959). Die feineren Aufzweigungen des Lymphgangssystems und insbesondere der Beginn der Lymphcapillaren waren hingegen lange Zeit Streitpunkt der Morphologen. Nachdem im vorigen Jahrhundert noch Lymphcapillaren in den Leberläppchen beschrieben wurden (Teichmann, 1861; Trzaska-Chrzonczewsky, 1898; Kisselew, 1869), neigen seit den Untersuchungen von Disse (1890) u. Mall (1901) die meisten Untersucher zu der Annahme, daß Lymphcapillaren erst außerhalb der Läppchen beginnen. Seit den Injektionspräparaten von Hass (1936) wissen wir, daß die Leber im Vergleich zu anderen Organen ein besonders dichtes Lymphgefäßnetz besitzt. Eppinger beobachtete nach Gabe von Pyrrol, Allylformiat und Histamin eine Erweiterung der periportalen Lymphgefäße und der Lymphgefäße in der Umgebung von Venae hepaticae. Durch retrograde Füllung sind jedoch die capillären Aufzweigungen in den Glissonschen Feldern nicht gleichmäßig darzustellen. Will man diese feinen Capillaren sichtbar machen, muß das

Capillarsystem mit Hilfe der von Kaiserling und Soostmeyer (1939) an der Niere erprobten Lymphstauung entfaltet werden. An der Leber wurden derartige Untersuchungen nach Lymphstauung nur vereinzelt durchgeführt (Babics u. Mitarb., 1954/55; Csillik, Földi u. Mitarb., 1962, 1967; Gerlach, Themann u. Zoltan, 1968). Eine Lymphstauung der Leber läßt sich nach Hankiss (1959) auch durch Umwickeln der Leber mit einem Kollodiumfilm und nach Aiello u. Mitarb. (1960) durch operative Verlagerung der Leber in den Thorax erzielen. Nach Erfahrungen mit experimenteller Lymphstauung von Säugernieren (Huth, 1968/69) haben wir das Verhalten der Leberlymphgefäße nach experimenteller Lymphostase und Cholestase bei Kaninchen untersucht. Anlaß unsere Arbeiten waren die elektronenmikroskopische Darstellung der Lymphcapillaren der Leber, die Beurteilung der Veränderungen des Leberparenchyms und des periportal Bindegewebes bei Lymphostase und gleichzeitiger Cholestase sowie der serologischen Fermentverschiebungen bei Lymphostase der Leber.

### Material und Methodik

Für die Versuche standen 25 Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 2 und 4 kg sowie 44 männliche und weibliche Ratten (180—330 g) zur Verfügung. In Äthernarkose wurde bei allen Tieren die Leber durch eine rechtsseitige pararectale Laparotomie freigelegt. Die Lymphgefäße des Leberhilus wurden anfangs durch Injektion von Patentblau in das Leberparenchym dargestellt. Bei der überwiegenden Zahl der Versuche gelang dann jedoch die Identifizierung der Lymphgefäße nach artefizieller Blut- und Lymphstauung ohne die zusätzliche Farbstoffinjektion. Bei 16 Kaninchen und 12 Ratten ligierten wir mit feinen Seidenfäden die Lymphgefäße des Lig. hepatoduodenale und hepatogastricum sowie der sich anschließend füllenden kleineren parallellaufenden Äste. Die Tötung dieser Tiere mit Entnahme von Lebergewebe für licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen erfolgte nach 3, 4 und 12 Std, 2, 3, 4, 5 und 7 Tagen, 3, 4, 5, 6 und 7 Wochen, 2, 3 und 5 Monaten. Bei 9 Kaninchen und 32 Ratten kombinierten wir die Ligatur der Lymphgefäße mit einer Ligatur des Ductus choledochus bzw. seiner Äste. Bei der Unterbindung des Ductus choledochus wurde möglichst distal des Leberhilus ligiert. 5 Ratten starben spontan nach 2, 9, 14 und 28 Tagen sowie nach 3 Monaten. Bei den übrigen Tieren wurde in Äthernarkose Lebergewebe für die licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung nach 10, 30, 45, 60 und 75 min, 2, 3 und 4 Std, 2, 3, 5, 7, 12 und 14 Tagen, 3, 4 und 7 Wochen, sowie 2, 2 $\frac{1}{2}$ , 3 und 5 Monaten entnommen.

Für die *lichtmikroskopische Untersuchung* wurden Gewebestücke aller Leberlappen in Formalin fixiert. Bei einigen Tieren erfolgte die Fixierung auch durch Perfusion mit Glutaraldehyd über die Gallenwege und das Blutgefäßsystem. An Paraffinschnitten wurden folgende Färbungen durchgeführt: Hämatoxylin-Eosin, Eisenhämatoxylin-Pikrofuchsin nach v. Gieson kombiniert mit Resorcin, die PAS-Reaktion, die Goldenersche Modifikation der Trichromfärbung nach Masson und eine modifizierte Benzidinreaktion nach Ericson. Zur Einbettung für die *elektronenmikroskopische Untersuchung* wurde entweder mit Glutaraldehyd perfundiert oder kleine Lebergewebstreifen wurden 2 Std in frischem Glutaraldehyd und anschließend 2 Std in 1%igem gepuffertem Osmiumtetroxyd fixiert. Nach Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Durcupan. Die Dünnschnitte wurden mit Uranylacetat und Bleiacetat nachkontrastiert. *Semidünnschnitte* von Durcupanblöcken wurden mit Methylblau gefärbt. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem RCA-EMU-E-Mikroskop hergestellt.

Bei 10 Kaninchen wurden Blutproben zur *laborchemischen Untersuchung* entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten einmal vor der Operation und 2, 12 und 24 Std, 2, 5, 8 und 14 Tage nach der operativ angelegten Ligatur der Leberlymphgefäße. Bei 2 Tieren wurden Scheinoperationen ohne Ligatur der Leberlymphgefäße durchgeführt. Von diesen Tieren wurden Blutproben in den gleichen Abständen untersucht. Das Serum-Gesamt-Bilirubin wurde in Gegenwart von Coffein mit diazotierter Sulfanilsäure zu Azobilirubin gekoppelt, dessen Farb-

intensität proportional der Gesamtbilirubinkonzentration ist und nach Zugabe von Tartrat-lösung bei 578 mm gemessen wird (Jendrassik und Graf). Die alkalische Phosphatase spaltet Para-nitro-Phenylphosphat in Phosphat und Para-nitro-Phenol. Die freigesetzte Para-nitro-Phenolmenge ist proportional der Phosphataseaktivität und konnte nach Zugabe von Natron-lauge entsprechend seiner gelben Farbe bei 405 mm gemessen werden (Bessey u. Mitarb., 1946). Die Serum-Glutamat-Oxalat-Transaminase wurde nach den Angaben von A. Karmen u. Mitarb. (1955) durch eine Malat-Dehydrogenase-katalysierte Indicatorreaktion bestimmt. Die Serum-Glutamat-Pyrovat-Transaminase wurde nach der Methode von Wroblewski und La Due (1956) durch eine Lactatdehydrogenase-katalysierte Indicatorreaktion gemessen. Die Serumeiweißfraktionen wurden durch Celluloseacetat-Elektrophorese getrennt und photometrisch ausgewertet. Glycerin wurde im Serum vor und nach alkalischer Verseifung bestimmt. Die Umrechnung in Milligramm-Prozent Triglyceride erfolgte über das Molekulargewicht von Triolein (= 885) (Krenz, 1963).

Nach der Methode von Dumont und Martelli stellten wir bei einer Serie von 20 normalen Ratten die Leber und die Milz durch intravenöse Injektion von Tantalumpulver röntgenologisch dar und kontrollierten anschließend bei 10 weiteren Ratten die Darstellung der Leber mit Tantalumpulver nach experimenteller Lymphostase oder Cholestase der Leber.

## Lichtmikroskopische Befunde

### 1. Gruppe: Lymphstauung

2—3 Std nach Ligatur der Leberlymphgefäße sind die Leberläppchen in ihrer Struktur gut erhalten. Die Disseschen Räume sind nach Perfusion der Lebergefäße mit Glutaraldehyd mäßig erweitert. Das Bindegewebe der perilobulären Septen und der Glissonschen Felder ist leicht ödematös verbreitert. In den größeren Bindegewebssepten, vor allem neben den großen interlobulären Gefäßästen kommen entfaltete Lymphgefäße mit mäßig dichter, blaß-eosinophiler Lymphe vor. Die Lymphgefäße können an ihren Klappen, ihrer nur aus flachen Endothelzellen bestehenden Wand und ihrem homogenem Inhalt identifiziert werden (Abb. 1b). Auch nach 4 Std bleibt die Läppchenstruktur erhalten. Die Kerne der Sternzellen wirken groß. Die Glissonschen Felder und die größeren Bindegewebssepten sind zunehmend ödematös verbreitert. Die Entfaltung der Lymphgefäße durch noch immer relativ blasse Lymphe nimmt zu. Neben den Gallengängen und neben den entfalteten Lymphgefäßen werden einzelne Leukocyten beobachtet. 12 Std nach der Ligatur der Lymphgefäße ist die Distanz der Leberzellbalken bei Erweiterung der Disseschen Räume erheblich verbreitert. In allen Läppchen erkennt man einzelne nekrotische Leberzellen. Es kommt kaum noch ein Glissonsches Feld vor, in dem nicht wenigstens ein Lymphgefäß beobachtet wird. Nach 48 Std wird die Läppchenstruktur infolge der massiven Erweiterung der Sinusoide besonders deutlich. In einigen Leberläppchen überwiegen Zellen mit multiplen kleinen Fettvacuolen. Zwischen den Leberzellen liegen manchmal schütterere Infiltrate von Leukocyten. Die Wände der Gallengänge im ödematösen periportalten Bindegewebe sind von einkernigen Rundzellen und vereinzelt Leukocyten durchsetzt. Die Entfaltung der Lymphcapillaren ist besonders stark, die Lymphe ist dicht, homogen und eosinophil. Nach 3—4 Tagen ist die Entfaltung der Lymphgefäße am stärksten ausgeprägt (Abb. 2). Die Veränderungen am Leberparenchym sind auf eine Erweiterung der Disseschen Spalten beschränkt. Eine Erweiterung der größeren Gallengänge wird deutlich. Nach 5—7 Tagen kommen besonders zahlreiche zweikernige Leberzellen vor. Darüber hinaus bestehen am Leberparenchym keine nennenswerten Veränderungen. Das periportale Bindegewebe ist noch

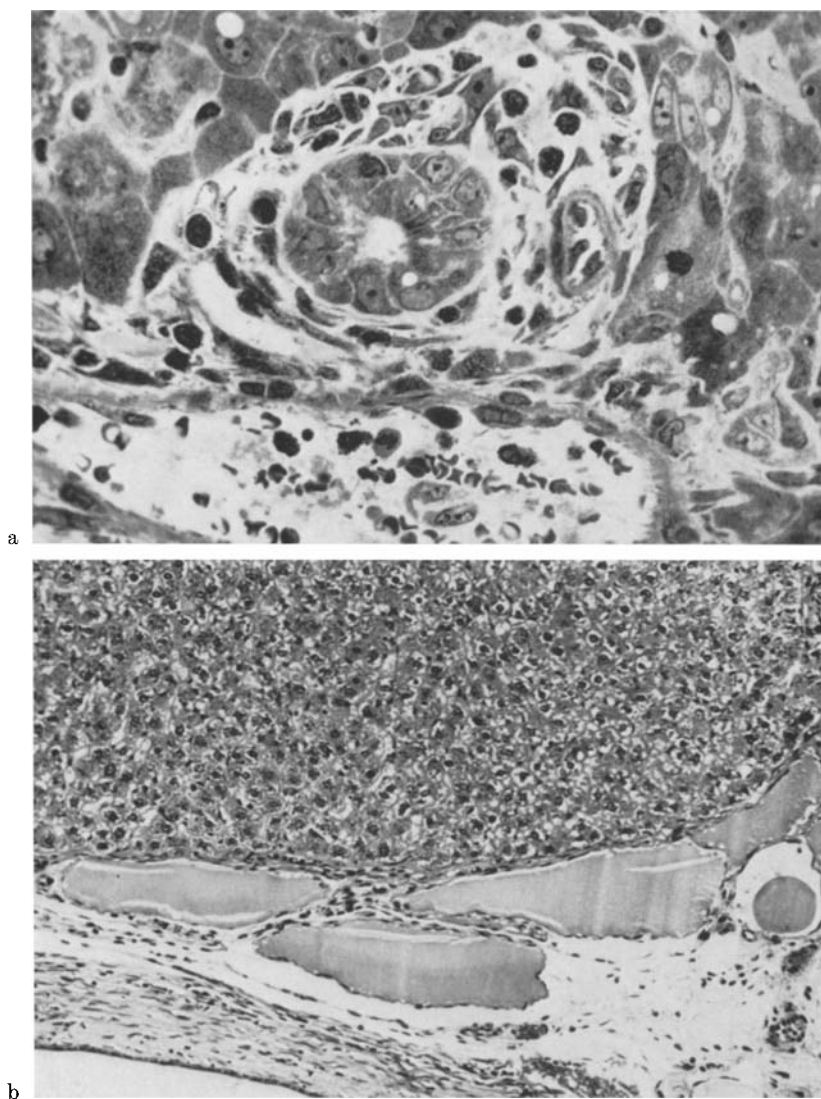


Abb. 1. a Akutes Ödem und Mobilisation pericholangiolärer Zellen 4 Std nach gleichzeitiger Ligatur der Hiluslymphgefäße und des Ductus choledochus. Durcapan-Semidünnschnitt, Methylenblau,  $500\times$ . b Entfaltung von Lymphcapillaren in interlobulärem Bindegewebe 3 Std nach Ligatur der Lymphgefäße im Leberhilus. HE,  $125\times$

ödematös und oft von eosinophilen Leukocyten und Rundzellen infiltriert. Die Lymphcapillaren sind noch entfaltet, die Weite ihrer Lumina nimmt jedoch ab. Das Bindegewebe neben den Gallengängen, aber auch in den übrigen Septumanteilen ist wesentlich kernreicher als zu Beginn der Versuche. Nach 12 Tagen kommen in der Umgebung der Gallengänge vielfach konzentrisch angeordnete Reihen von Bindegewebszellen vor. Nach 4—6 Wochen sind kaum noch entfaltete

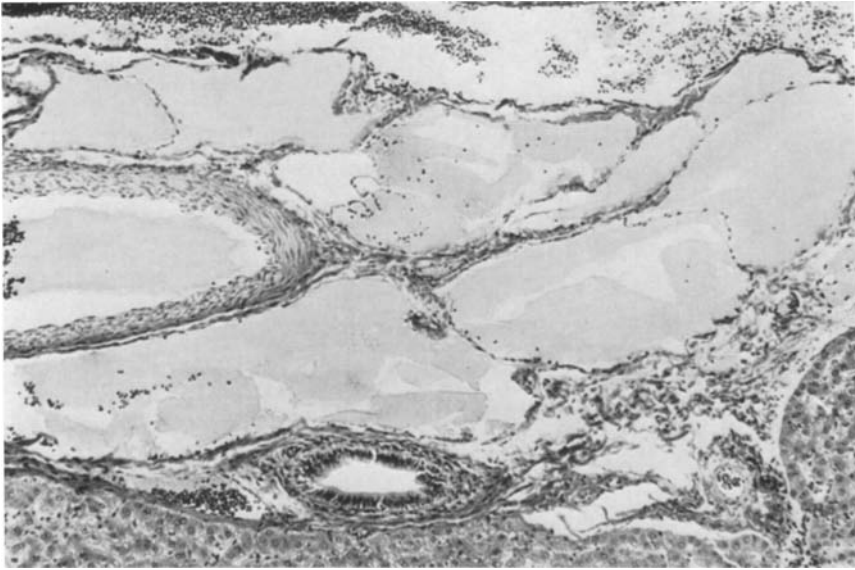


Abb. 2. Starke Entfaltung von Leberlymphgefäßen durch eiweißreiche Lymphe nach 4tägiger Lymphostase. Goldner, 80×

Lymphgefäße sichtbar. Die Vermehrung der Bindegewebszellen, vor allem um die Gallengänge geht mit einer mäßigen Vermehrung kollagener Bindegewebsfasern einher. 2—3 Monate nach der Ligatur der Leberlymphgefäße hat sich die Erweiterung der Gallengänge fast vollständig zurückgebildet. Die Vermehrung von kollagenem Bindegewebe ist bestehen geblieben. Nach 3 und 5 Monaten ergeben sich außer der beschriebenen Vermehrung von Bindegewebszellen und Bindegewebsfasern in der Wand der Gallengänge keine wesentlichen Befunde mehr. Die beschriebenen Veränderungen sind bei den Ratten und den Kaninchen weitgehend identisch. Bei den Ratten sind lediglich die Leberverfettung und bei den Kaninchen die pericholangitischen Veränderungen etwas stärker ausgeprägt.

## 2. Gruppe: *Lymphostase und Cholestase*

Die Entfaltung des intrahepatischen Lymphgefäßsystems tritt bei gleichzeitig angelegten Ligaturen des Ductus choledochus und der Leberlymphgefäße bereits 10 min nach der Ligatur ein. Das Bindegewebe der Glissonschen Felder wird innerhalb der ersten 30 min erheblich auseinandergedrängt. Im ödematösen Bindegewebe liegen Lymphgefäße mit teils homogenem, teils fibrinösem Inhalt. An den Leberläppchen fällt eine von Läppchen zu Läppchen wechselnde Erweiterung der Sinusoide auf. Nach 45 und 60 min hat das Ödem noch zugenommen. Die Entfaltung der Lymphgefäße ist progressiv. Nach 2 Std ist das Ödem der Bindegewebssepten und insbesondere das der Glissonschen Felder von Leukocyten und Lymphocyten untermischt (Abb. 1a). Die Erweiterung der Sinusoide hat noch zugenommen. Schwund von Leberzellen, eosinophile Auftreibungen von Leberzellen sowie dichtere Infiltrate von Leukocyten und Lymphocyten haben sich

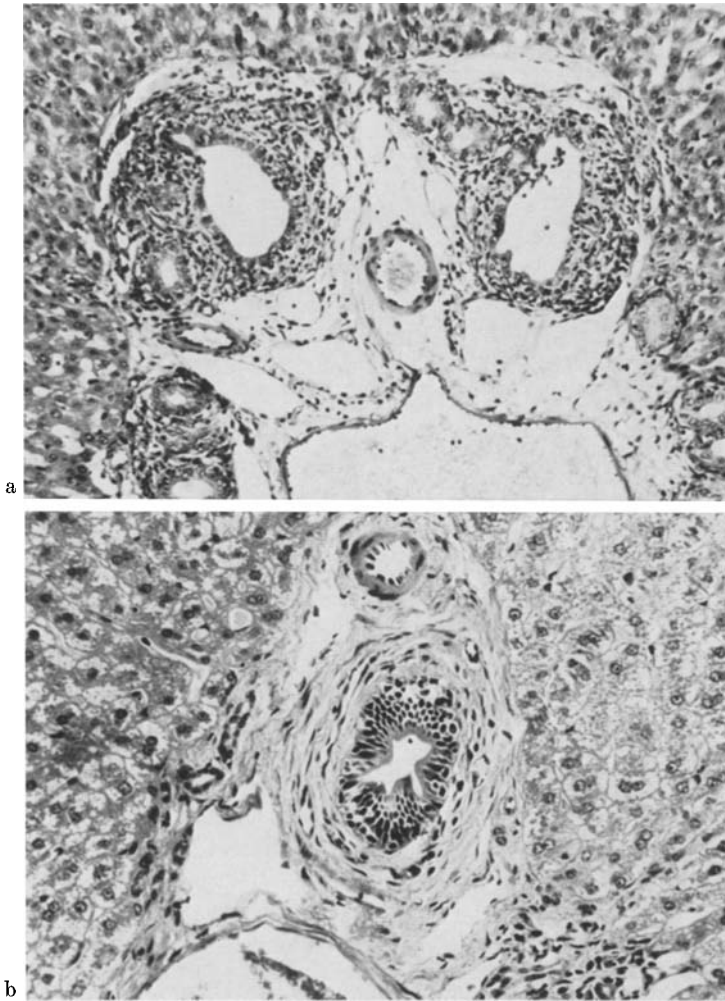


Abb. 3. a Dilatation von Gallengängen, pericholangitische Infiltrate und Entfaltung interlobulärer Lymphcapillaren 48 Std nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. HE, 125 $\times$ . b Beginnende pericholangioläre Vernarbung und Entfaltung von Lymphcapillaren 2 Wochen nach Lymphostase und Cholestase. HE, 310 $\times$

nach 24 Std ausgebildet. Die Gallengänge sind zu diesem Zeitpunkt erheblich erweitert und von teilweise dichten Zellinfiltraten umgeben (Abb. 3a). Der Inhalt der Lymphgefäße ist dicht und eosinophil. Das Ödem des septalen Bindegewebes und die Lymphostase sind nach 2—3 Tagen am stärksten ausgebildet. Es finden sich weiterhin Nekrosen von Leberzellen. In den Leber- und Sternzellen treten in zunehmendem Maße Granula mit positiver Eisenreaktion auf. Die Erweiterung der Gallengänge hat noch zugenommen. Das Gallengangsepithel ist erheblich abgeflacht. Die Infiltrate aus Lymphocyten und Leukocyten sind in der Umgebung der Gallengänge dichter geworden, sie sind darüber hinaus mit reichlich Fibroblasten untermischt.

5—7 Tage nach der Ligatur des Ductus choledochus und der Leberlymphgefäße kommen neben den erweiterten Gallengängen bereits Gallengangssprossen vor. Diese Proliferation von kleinen Gallengängen führt dazu, daß Glissonsche Felder mit 10—12 Gallengangsanschnitten zu beobachten sind. Die Zahl der nekrotischen Leberzellen ist gering. Die Struktur der Leberläppchen ist nicht mehr klar abgrenzbar. Neben den vermehrten Gallengängen ist auch das kollagene Faserwerk verdichtet. Der Befund der multiplen Gallengangsproliferationen wird bei verschiedenen Tieren erhoben.

9 und 14 Tage nach den Ligaturen sind die ersten Tiere spontan gestorben. Die Leberschnitte zeigen unscharfe Läppchenstrukturen bei weiten Sinusoiden. Die Vermehrung kollagener Bindegewebsfasern und kleiner Gallengänge schreitet fort. Bei einem der 14 Tage überlebenden Tiere überwiegen die gewucherten Gallengänge das Leberparenchym. Die beschriebenen cholangitischen Infiltrate bleiben auf die „normalen“ Gallengänge beschränkt, während die neu ausgesproßten Gallengangsstrukturen frei von entzündlichen Veränderungen sind. Andere Gallengänge sind von einem Mantel zellreichen Bindegewebes umgeben (Abb. 3 b). Die Lymphe der entfalteten Lymphgefäße enthält auch Entzündungszellen.

Nach 3 Wochen ist gegenüber dem vorher beschriebenen Befund keine wesentliche Änderung eingetreten. Auch nach 24 Tagen sind Gallengangssprossungen innerhalb des mäßig vermehrten Bindegewebes zu erkennen. Die Läppchenstruktur ist jedoch weitgehend erhalten.

Nach 6 Wochen werden die Gewebsspalten mit dicht nebeneinander liegenden kleinen Gallengängen vielfach breiter als die Leberläppchen (Abb. 4 a).

Nach 2 und 2½ Monaten sind 2 Ratten spontan gestorben. Die übrigen sind als eindeutig krank zu erkennen. Laparoskopisch sind bei ihnen cystisch erweiterte Gallengänge, die manchmal an Gallenblasenstrukturen erinnern, festzustellen. Die Läppchenstruktur ist durch ein unregelmäßig gewachsenes Geflecht von Gallengängen ersetzt. Dazwischen liegen nur einzelne kleine Inseln unterschiedlich großer und teilweise nekrotischer Leberparenchymzellen. Die gewucherten Gallengangsstrukturen gehen mit einer Vermehrung von Bindegewebe einher. Das Bild der experimentellen biliären Cirrhose ist vollständig (Abb. 4 b).

## Elektronenmikroskopische Befunde

### *Gruppe 1: Bei Lymphostase der Leber*

Die elektronenmikroskopische Befunde sind bei Ratten und Kaninchen ähnlich und können gemeinsam beschrieben werden. Die Leberzellen sind während der ersten 120 min leicht ödematös geschwollen. Nach etwa 60 min beginnt eine ödematöse Erweiterung des Disseschen Raums (Abb. 5). Während der ersten Stunden sind die Glissonschen Felder unterschiedlich stark ödematös aufgelockert. Gleichzeitig kommt es zu einer Lockerung der Zellbindungen zwischen den Epithelzellen der Gallengänge. Fast in jedem 3. Glissonschen Feld wird unter elektronenmikroskopischer Kontrolle eine Lymphcapillare sichtbar (Abb. 6). Bei Ratten und Kaninchen sind diese Lymphcapillaren durch ein schmales Endothel gekennzeichnet, das ziemlich große Kerne, ein ribosomenreiches Cytoplasma und einander überlappende Zellfortsätze besitzt. Die Endothelfortsätze bilden auch gelegentlich Schlußleisten. Eine Basalmembran fehlt. Die Endothelzellen stehen

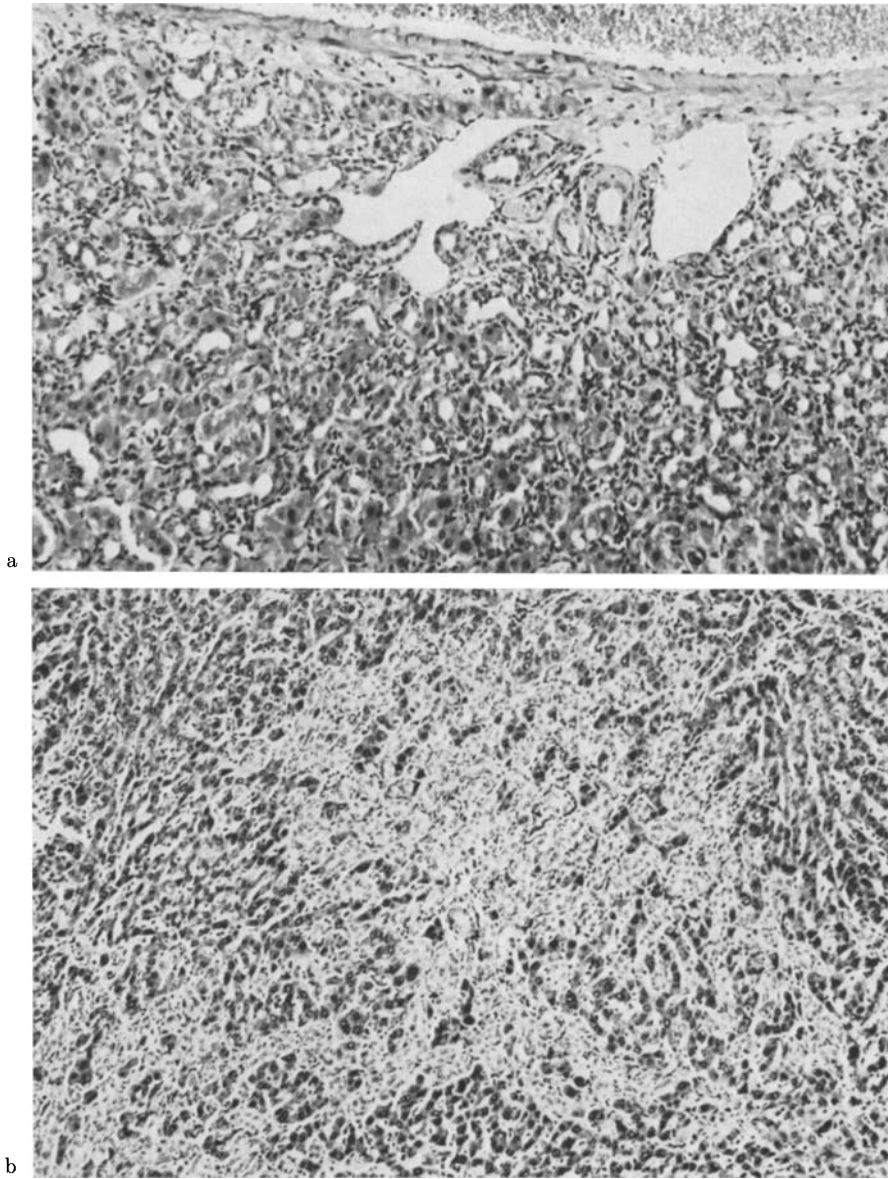


Abb. 4. a Zahlreiche Gallengangssprossen zwischen spärlichen Parenchymzellstreifen 6 $\frac{1}{2}$  Wochen nach Lymphostase und Cholestase. HE, 125 $\times$ . b Vollständiger Umbau des Lebergewebes im Sinne einer biliären Cirrhose 2 $\frac{1}{2}$  Monate nach Lymphostase und Cholestase. Goldner, 125 $\times$

z.T. mit feinen bindegewebigen Filamenten in engem Kontakt; die filamentären Strukturen sind wesentlich feiner als die angrenzenden kollagenen Fibrillen. Auf der Lumenseite zeigen die Endothelzellen papilläre Zellfortsätze, die manchmal klappenähnlich das Gefäßlumen partiell überbrücken (Abb. 7). Die Lymph-





Abb. 5. Unauffälliges Leberparenchym mit einem regelrechten Sinusoid. Beginnende Erweiterung eines Disseschen Raums 60 min nach Ligatur der Lymphgefäße im Leberhilus. Elektr.-mikr.: 1900 $\times$ , Gesamtvergr.: 4700 $\times$

capillaren liegen besonders dicht neben Gallengängen, einige grenzen an glatte Muskelzellen von Arteriolen und einmal wurde ein unmittelbarer Kontakt eines kleinen myelinfreien Nerven mit Lymphcapillarendothel gesehen (Abb. 6). Die Erweiterung des Disseschen Raums und die ödematöse Auflockerung der Bindegewebsefelder zwischen den Läppchen nimmt während der ersten 24 Std schnell zu (Abb. 8). Bereits nach 4—12 Std kommen einzelne Lymphcapillaren vor,

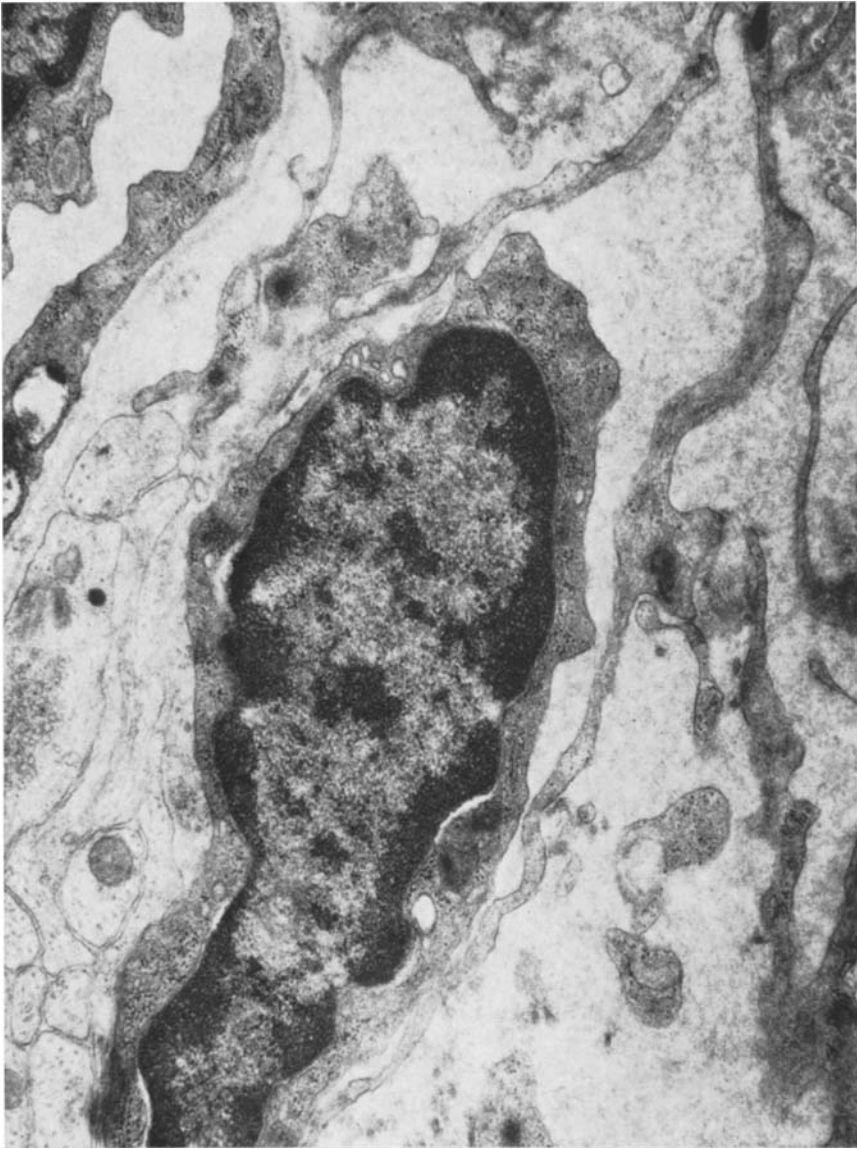


Abb. 6. Lymphcapillare eines Glissonschen Feldes mit großem Endothelzellkern, flachen Cytoplasmaausläufern und kaum entfaltetem Lumen. Links angrenzend ein kleiner myelinfreier Nerv. Elektr.mikr.: 10500 $\times$ , Gesamtvergr.: 27000 $\times$

deren Endothelgrenzen ihren Kontakt untereinander verlieren, so daß in zunehmender Zahl offene Verbindungen zwischen Bindegewebe und dem erweiterten Lymphcapillarlumen entstehen (Abb. 7). Die Öffnung der Intercellularspalten der Gallengänge schreitet ebenfalls fort (Abb. 9). Die Veränderungen an den Leberparenchymzellen bleiben relativ spärlich. Nach 1—2 Tagen treten im

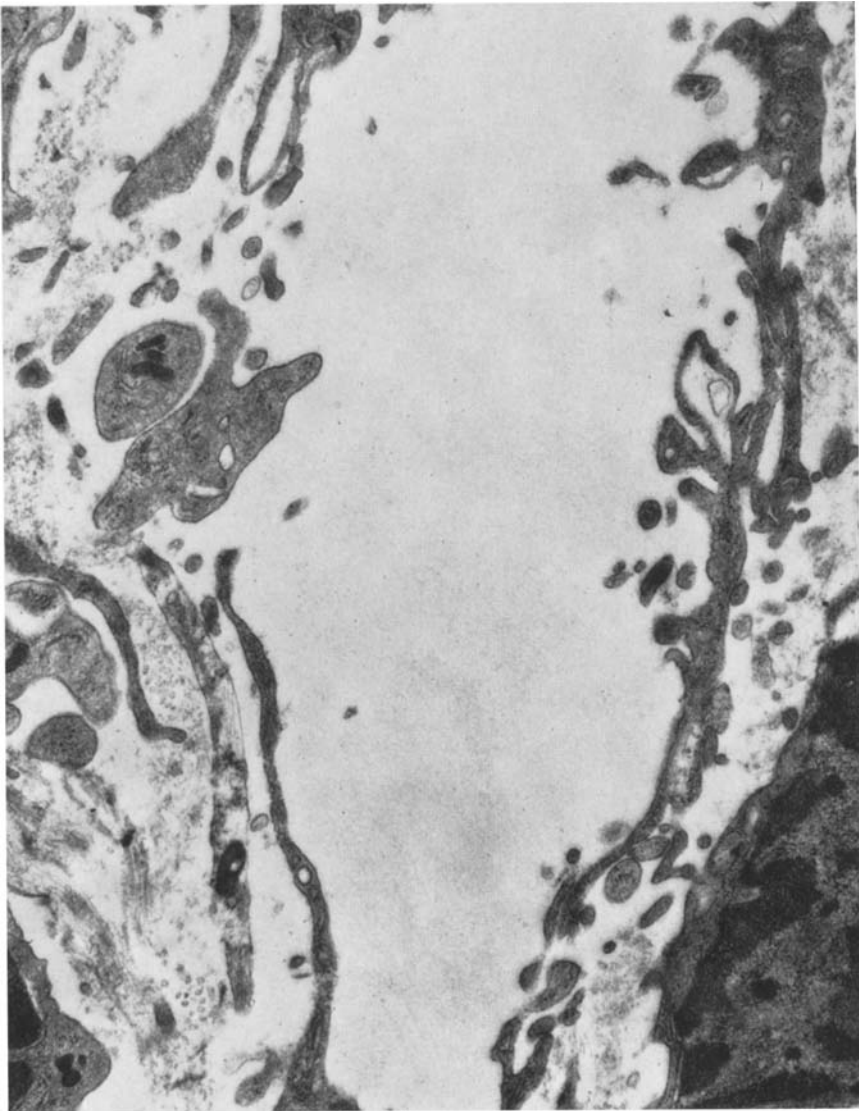


Abb. 7. Stark entfaltete Lymphcapillare mit papillären Endothelfortsätzen und Klaffen der Intercellularspalten  $2\frac{1}{2}$  Std nach Ligatur der Leberhiluslymphgefäße. Elektr.mikr.:  $10500\times$ , Gesamtvergr.:  $27000\times$

ödematösen Bindegewebe Lymphocyten, Monocyten und polymorphkernige Granulocyten auf. Die Dilatation der Lymphgefäße ist in dieser Phase am stärksten. Nach 3—5 Tagen werden neben einzelnen verfetteten Leberzellen auch unterschiedlich große Fetttropfen in den Bindegewebszellen der Glissonschen Felder und in den Sternzellen bemerkt. Nach 5 Tagen werden bei den Ratten Mastzellen mit dichten Granula im Interstitium häufiger. Die im Interstitium liegenden Leukocyten sind oft unter eigentümlicher Kondensation ihrer Cytoplasmareste

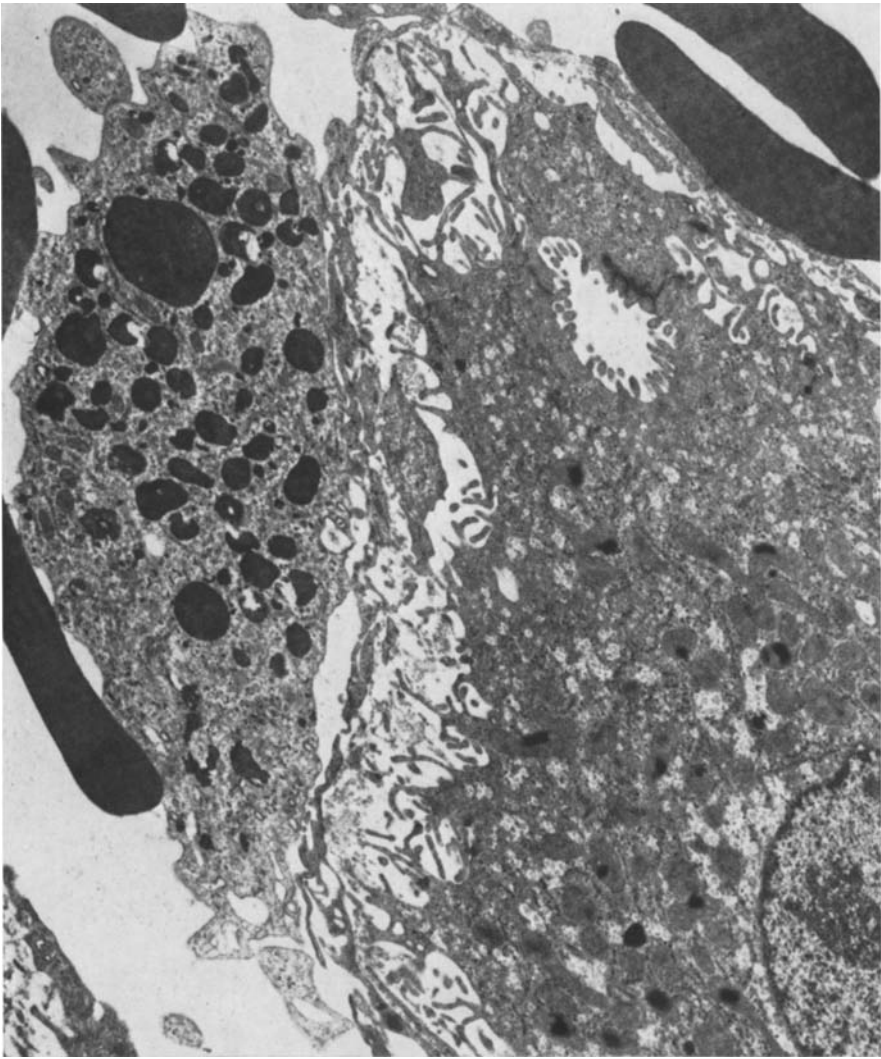


Abb. 8. Erweiterter Dissescher Spalt und siderosomenbeladene Sternzelle 24 Std nach experimenteller Lymphostase. Elektr. mikr.:  $3400\times$ , Gesamtvergr.:  $8500\times$

zerfallen. Die in Lymphcapillaren übergetretenen Entzündungszellen sind dagegen nicht alteriert.

Nach 14 Tagen werden an den Leberzellen keine wesentlichen Veränderungen mehr festgestellt. Das Ödem der Glissonschen Felder klingt ab. Die Lymphgefäße sind dagegen weiterhin entfaltet, die Einschlüsse im Lymphcapillarendothel haben eher noch zugenommen (Abb. 10).

Nach 1—2 Monaten ist das Ödem geschwunden. Eine Entfaltung von Lymphcapillaren wird nur noch vereinzelt beobachtet. Die Zahl der kollagenen Fibrillen und die ihrer Bündel hat in den Glissonschen Feldern zugenommen. Nach 3—5 Mo-

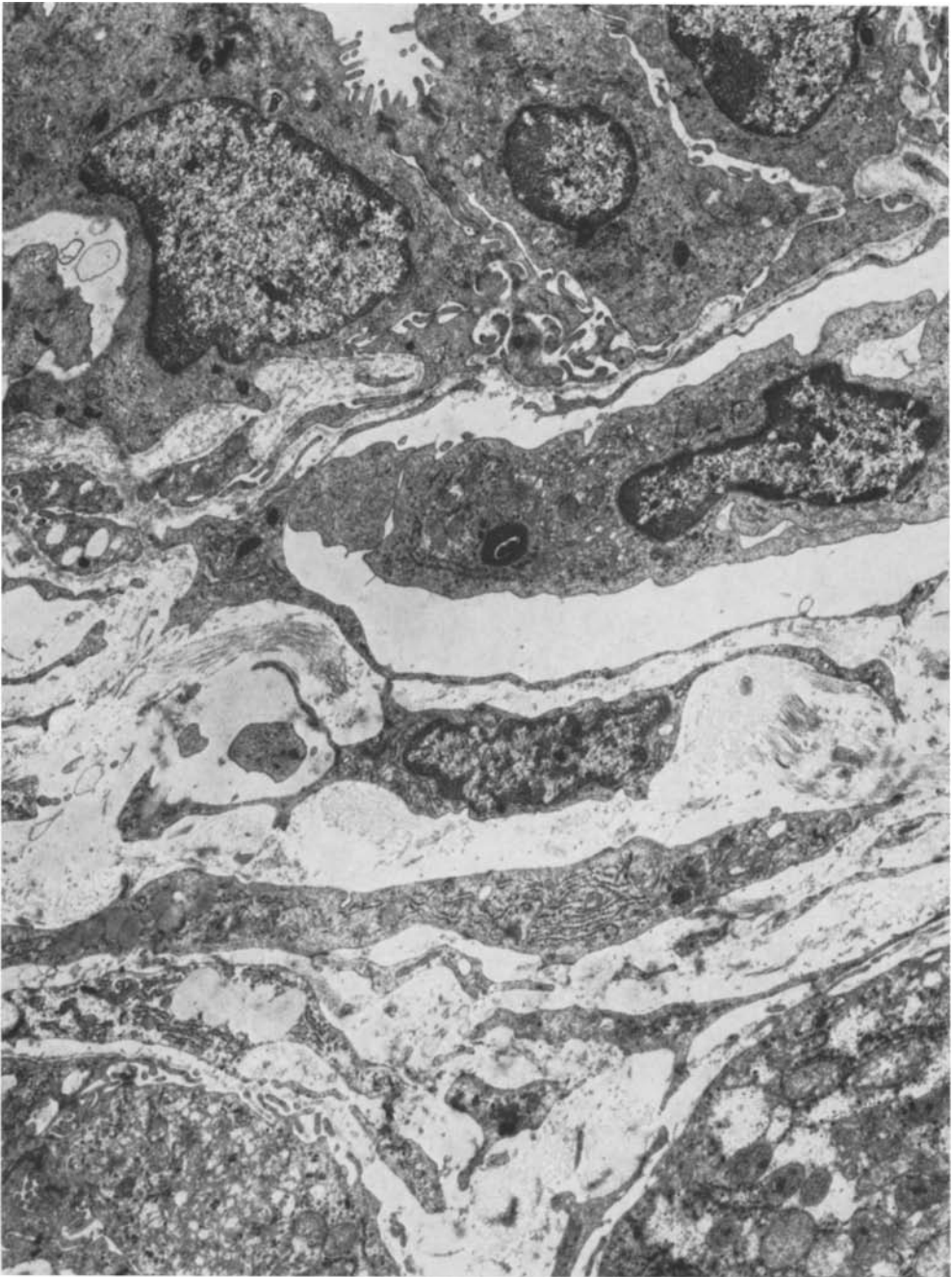


Abb. 9. Ödematös aufgelockertes Glissonsches Feld mit Entfaltung einer Lymphcapillare und beginnender Distension der Interzellularspalten des oben angeschnittenen Gallengangsepithels, 24 Std nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.: 4200 $\times$ , Gesamtvergr.: 10500 $\times$

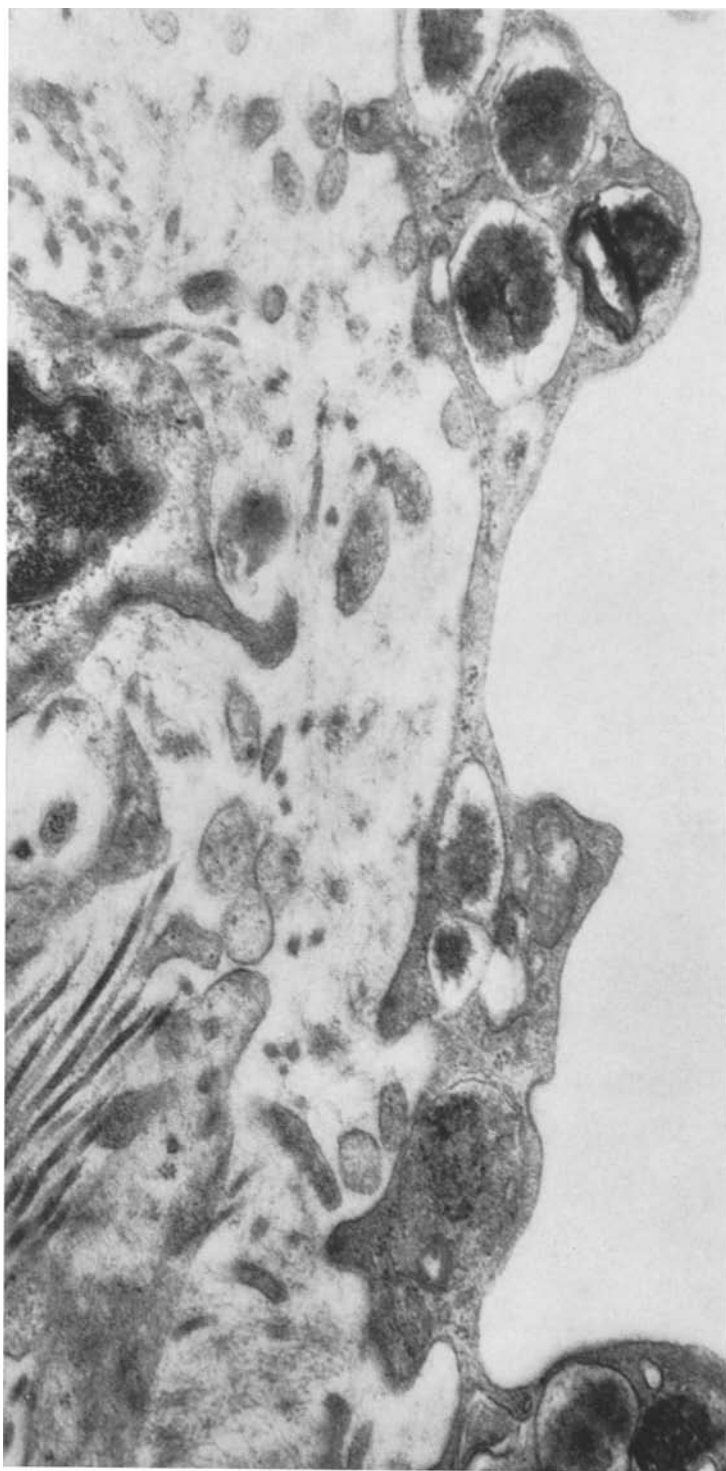
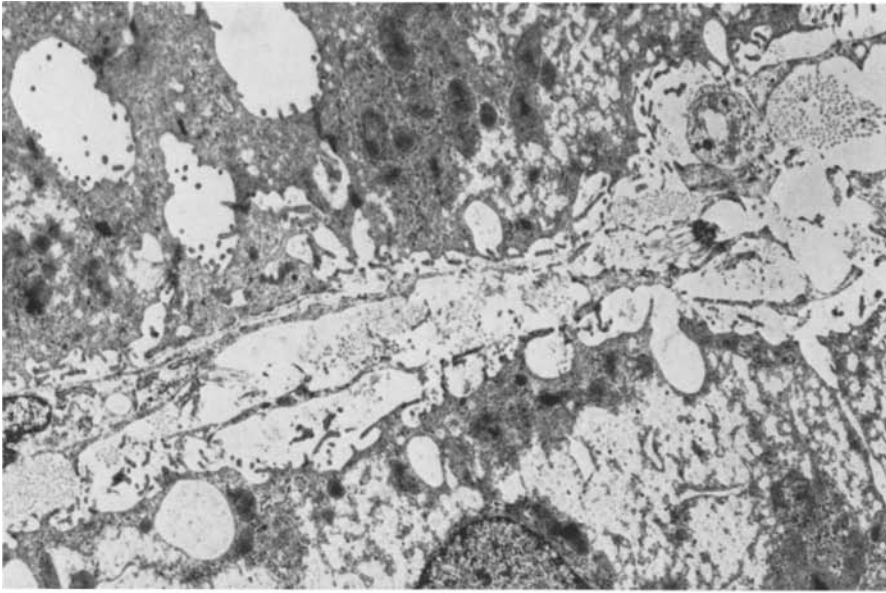
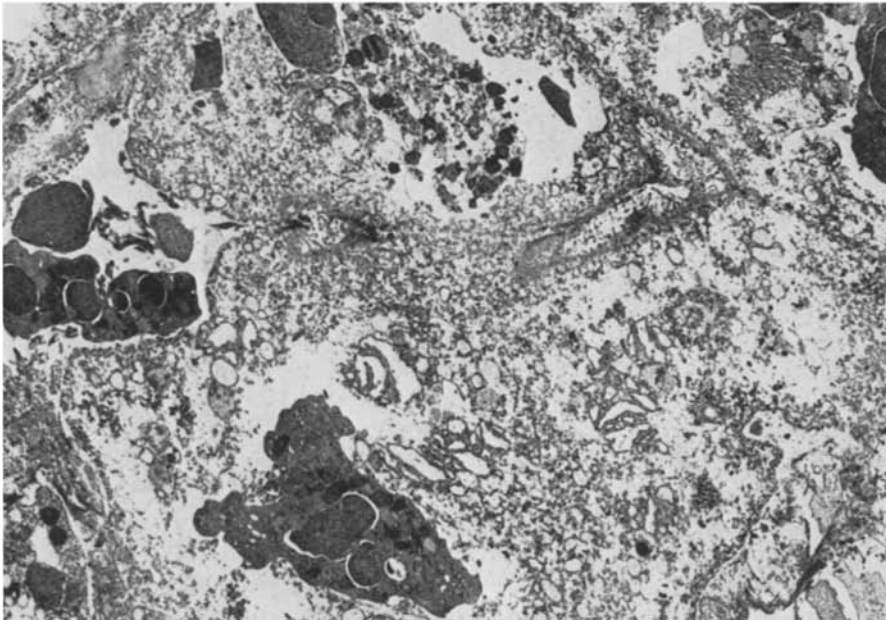


Abb. 10





a



b

Abb. 11. a Ödematös aufgelockertes Leberparenchym mit beginnender Dilatation der Gallen-capillaren 2 Tage nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.:  $2600\times$ , Gesamtvergr.:  $6500\times$ . b Komplex nekrotischer Leberzellen mit untergehenden elektronendichten Sternzellen und Leukocyten 48 Std nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.:  $1900\times$ , Gesamtvergr.:  $4800\times$

Abb. 10. Längs angeschnittenes Lymphcapillarendothel mit Aufhängung innerhalb eines feinen Netzes von Filamenten; links davon die wesentlich dickeren kollagenen Fibrillen. Im Lymphcapillarendothel zahlreiche cytosomale Einschlüsse 14 Tage nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.:  $15000\times$ , Gesamtvergr.:  $37500\times$

naten ist im Vergleich mit Kontrolltieren außer einer interstitiellen Bindegewebsvermehrung, etwas vermehrten Mastzellen und vereinzelter schütterter Lymphocyteninfiltraten kein wesentlicher Befund mehr zu erheben.

### *Gruppe 2: Nach Lymphostase und Cholestase der Leber*

Die elektronenmikroskopischen Veränderungen sind während der ersten 2 bis 3 Std denen nach ausschließlicher Lymphostase sehr ähnlich. Die Gallengänge sind schnell erweitert, die Intercellularspalten ihres Epithels werden schneller dehiszent. Die Gallecapillaren zwischen den Leberzellen sind erst später erweitert (Abb. 11a).

Nach 2—12 Std ist das Gallengangsepithel schon deutlich abgeflacht, die Mikrovilli werden kürzer. Nach 2—3 Tagen ist am Leberparenchym eine Erweiterung der Gallecapillaren deutlich (Abb. 11a). Bereits nach 48 Std kommen größere Komplexe nekrotischer Leberzellen vor, zwischen denen vielfach polymorphkernige Leukocyten liegen (Abb. 11b). Der Abtransport von Lymphocyten und Granulocyten über die weitlumigen Lymphcapillaren ist bereits nach 1 bis 2 Tagen zu belegen. Das Lymphcapillarendothel enthält zahlreiche granuläre und homogene Cytosomen. Nach 3—5 Tagen finden sich breite Infiltrate von Lymphocyten und monocytären Elementen im pericholangiolären Bindegewebe (Abb. 12). Die Sternzellen sind in zunehmendem Maße mit dichten Cytosomen bzw. Siderosomen angefüllt, daneben enthalten sie Fetttropfen. Unter den pericholangiolären Zellen finden sich zahlreiche zerfallende Leukocyten mit Verklumpung ihres Kernmaterials und osmiophiler Kondensation des Cytoplasma (Abb. 13). Nach 20—30 Tagen sind die Lymphcapillaren neben den pericholangiolären Infiltraten noch stark dilatiert, die Lymphe ist besonders eiweißreich. Die Verbreiterung der Disseschen Räume hält ebenso wie der nekrotische Zellerfall von Leberparenchym an.

Nach etwa 6 Wochen geht das verbreiterte Bindegewebe der Glissonschen Felder in das vermehrte Bindegewebe zwischen den angrenzenden Parenchymzellen über (Abb. 14). Einzelnene, manchmal besonders große Parenchymzellen liegen abgeschnürt zwischen den Bindegewebsstreifen. Neben Gallengängen mit stark abgeflachtem Epithel kommen in zunehmender Zahl Gallengangsstrukturen mit engem Lumen und auffallend dunklem Epithel vor. Die dunklen Epithelzellen sind kubisch bis zylindrisch, sie liegen manchmal zweireihig, ihre Kerne sind groß und relativ chromatindicht (Abb. 14).

Nach 2—3 Monaten kommen neben den dunkelzelligigen Gallengangsstrukturen größere Gangkomplexe vor, deren Lumen vollständig von proliferierten Epithelzellen ausgefüllt sind. Während Blutgefäße, insbesondere sinusoidale Strukturen eher abnehmen, bleiben die Lymphcapillaren auch nach Monaten noch weit entfaltet (Abb. 15). Die ektatischen Lymphgefäße zeigen dabei oft varicöse Ausbuchtungen. Nach 3—5 Monaten sind die aufgeführten Umbauvorgänge voll ausgeprägt (Abb. 15).

### **Befunde am Blutserum**

Kontrollen des Gesamtbilirubins des Serums ergeben keine wesentlichen Unterschiede zwischen den prä- und den postoperativen Werten. Bei einem Drittel der Versuchstiere mit Lymphostase steigt die alkalische Phosphatase während der ersten 18 Std auf maximal



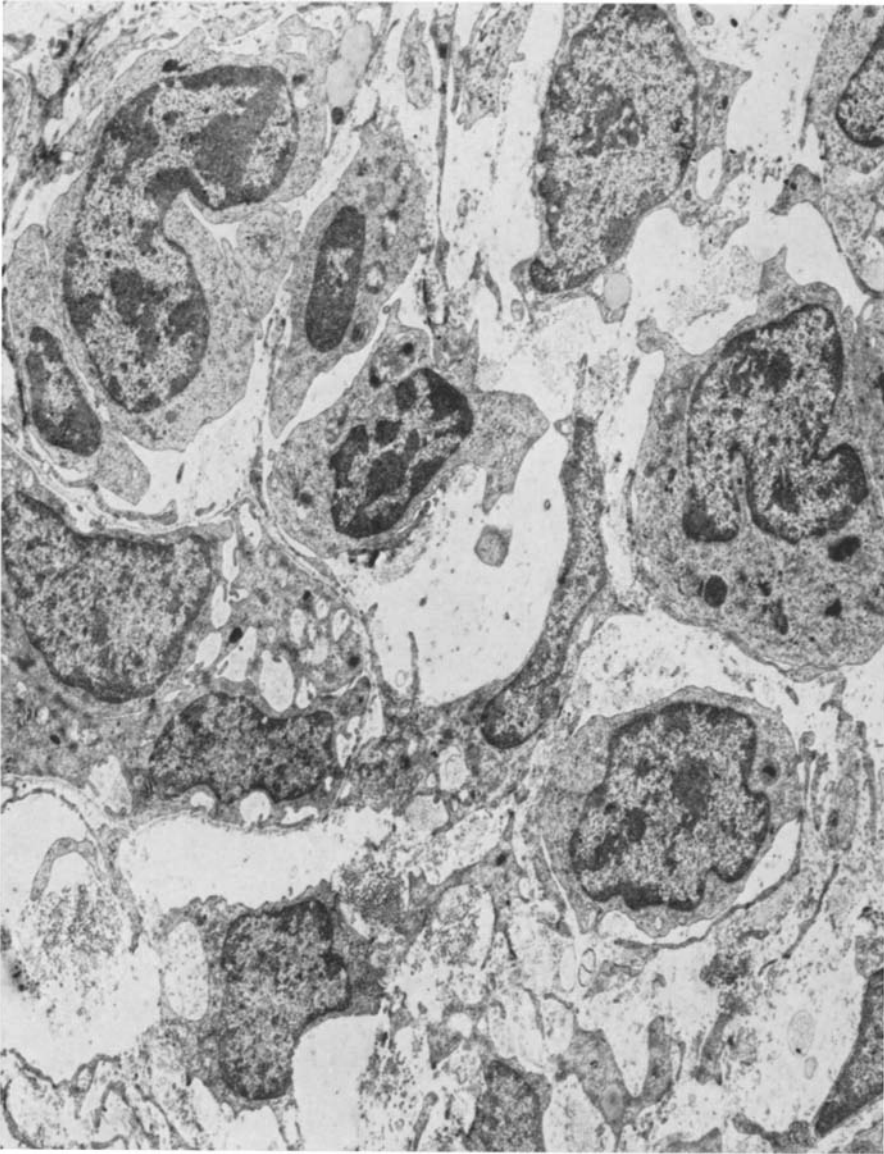


Abb. 12. Infiltration eines ödematös aufgelockerten periportalen Feldes durch Lymphocyten und Leukocyten 3 Tage nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.: 2600 $\times$ , Gesamtvergr.: 6500 $\times$

60 mU/ml an; 24 Std nach der Operation waren die Phosphatasewerte jedoch schon wieder auf Normalwerte abgefallen. Ein Anstieg der Triglyceride auf maximal 7,2574 mMol/l 48 Std nach der Operation ist bei allen untersuchten Tieren konstant, die Triglyceridwerte gehen jedoch innerhalb der ersten Woche auf normale Werte zurück. Die elektrophoretische Auftrennung der Serumproteine erbringt keine nennenswerten Verschiebungen bis auf eine uncharakteristische mäßige relative Erhöhung der  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Globuline. Die Untersuchungen der

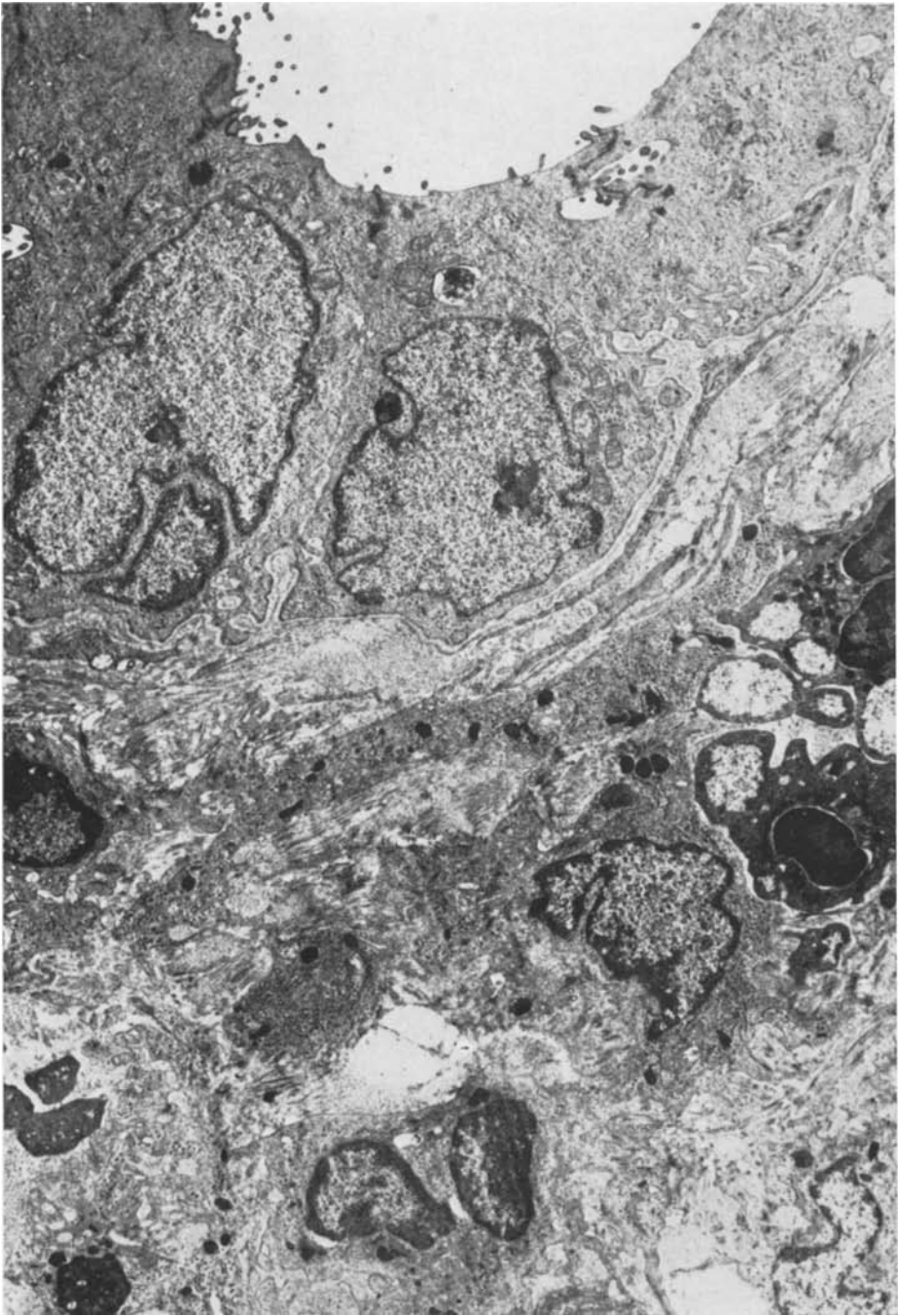


Abb. 13. Beginnende pericholangioläre Vernarbung neben untergehenden Infiltratzellen  
14 Tage nach experimenteller Lymphostase und Cholestase. Elektr.mikr.:  $3400\times$ ,  
Gesamtvergr.:  $8800\times$

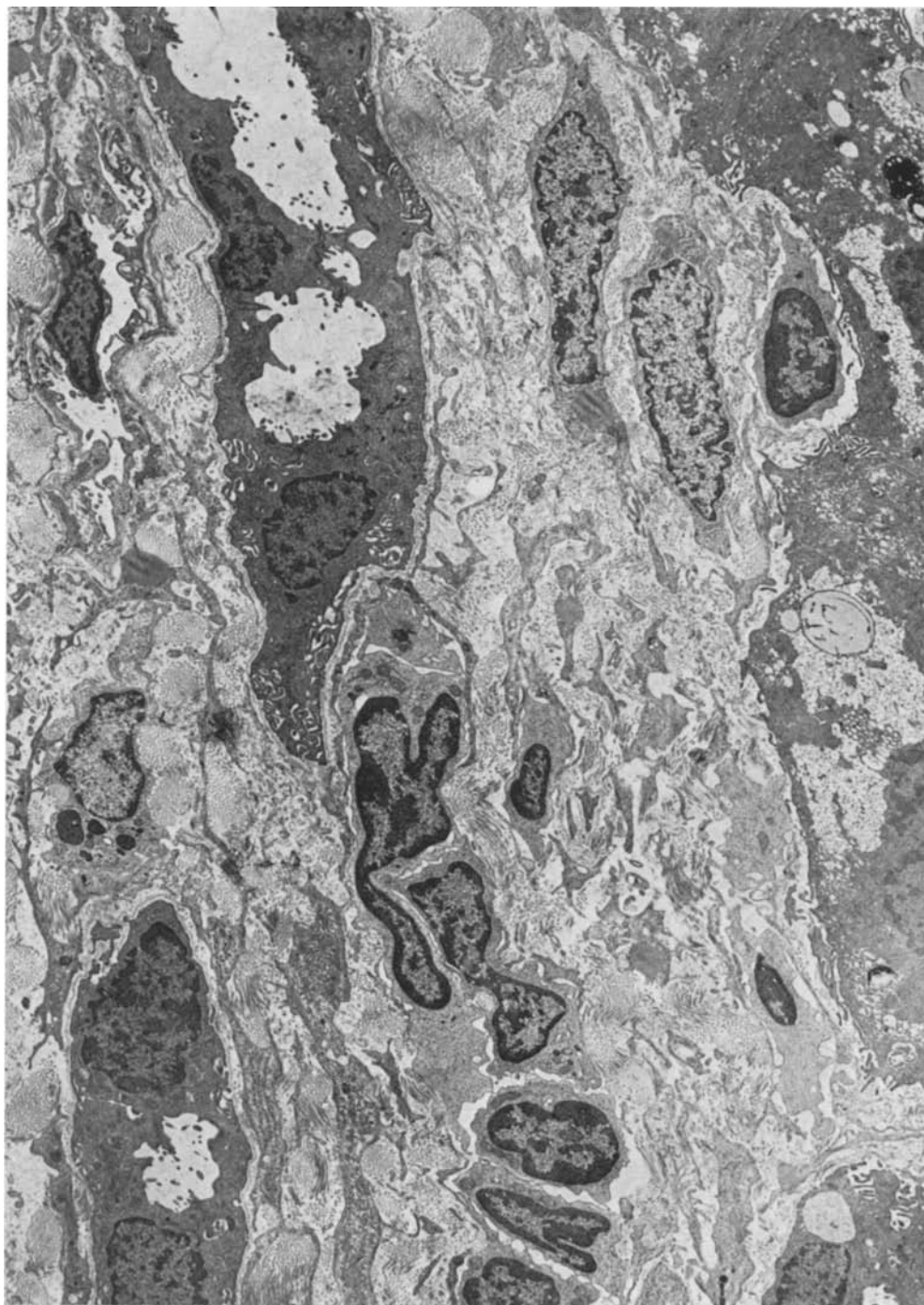


Abb. 14. Größeres interlobuläres kollagenreiches Narbenfeld neben vernarbtem Parenchym.  
 Im Narbengewebe neben Cholangiolen mit atrophischem Epithel solide Aussprossungen des  
 Gallengangsepithels, 6 $\frac{1}{2}$  Wochen nach experimenteller Lymphostase und Cholestase.  
 Elektr.mikr.: 1900  $\times$ , Gesamtvergr.: 4700  $\times$

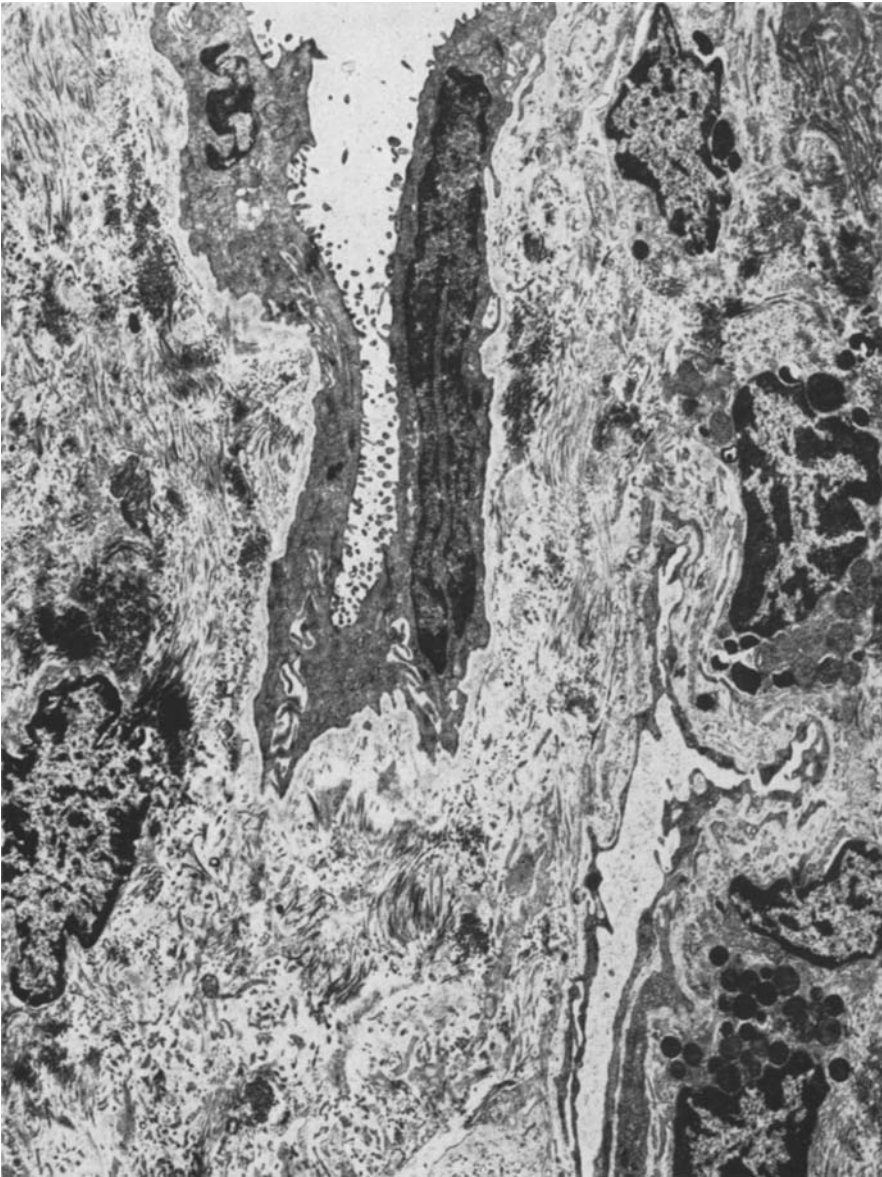


Abb. 15. Kollagenreicher Narbenstreifen mit atrophischem Gallengang, kleiner Lymphcapillare und granulierten Mastzellen (rechts) 3 Monate nach Lymphostase und Cholestase.  
Elektr.mikr.:  $3400\times$ , Gesamtvergr.:  $8500\times$

Serum-Transaminasen (SGOT und SGPT) ergibt Werte zwischen 15,7 und 245,0 mU nach der Ligatur der Lymphgefäße im Leberhilus. Bei den Tieren mit Lymphgefäßligatur steigt die SGOT unmittelbar postoperativ an, mit einem Maximum 24 Std nach der Operation. Die SGOT fällt dann im Verlauf der nächsten 3 Tage bei allen Tieren zur Norm ab. Die SGPT steigt erst nach den ersten 12 Std an, fällt aber relativ langsamer ab (Abb. 16). Bei den Kon-

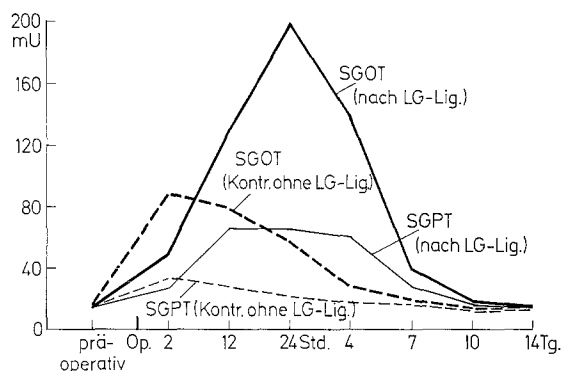


Abb. 16. Graphische Darstellung des Verhaltens der Serum-Transaminasen bei Kaninchen nach experimenteller Lymphgefäßligatur und nach Scheinoperationen ohne Ligatur der Lymphgefäße

trolltieren ohne Lymphgefäßligatur kommt es ebenfalls unmittelbar nach der Operation zu einem kurzen und geringen Anstieg von SGOT auf maximal 100 mU, nach 24 Std sinkt die SGOT bei den scheinoperierten Tieren wieder zu Normwerten ab (Abb. 16).

### Röntgenologische Befunde

24 Std nach intravenöser Injektion einer Aufschwemmung von Tantalumstaub kommt es zu einer Darstellung der Leber und der Milz im Röntgenbild, die während der nächsten Tage noch intensiver wird. Nach mehreren Wochen nimmt der Röntgenshatten allmählich wieder ab, es werden nun die Lymphknoten des Leberhilus sichtbar. Entsprechende Befunde ergeben auch die lichtmikroskopischen Untersuchungen der röntgenologisch dargestellten Organe. Nach Lymphostase oder Cholestase bleibt die Tantalumspeicherung der Leber und der Milz während der ersten beiden Wochen nach den operativ angelegten Ligaturen weitgehend aus, in den weiteren Wochen ist die Darstellung der Leber und der Milz nur in geringerem Maße (im Vergleich zu den Bildern bei nicht operierten Tieren) möglich.

### Erörterung der Befunde

Nach Ligaturen der Lymphgefäße im Leberhilus werden die intrahepatischen Aufzweigungen des Lymphgefäßsystems durch die aufgestaute Lymphe schon innerhalb der ersten 60 min entfaltet. Diese Methode der „Selbstenfaltung der Lymphgefäße“ wurde von Kaiserling u. Soostmeyer (1939) an Kaninchennieren erprobt und seither auch an anderen Organen mehrfach angewandt (Csillik, Földi, Rusznyák u. Mitarb., 1962—1969; Gerlach u. Mitarb., 1968; Huth, 1967/68). Für das Studium der Lymphgefäße in der Leber ist die Darstellung des Gefäßsystems durch experimentelle Lymphstauung anderen Methoden wie retrograder Injektion (Hass, 1936), Stauung von Galle oder Venenblut (Szabó u. Magyar, 1963; Csillik, Földi, Rusznyák u. Mitarb., 1965—1969), Einhüllung der Leber in einem Kollodiumfilm (Hankiss, 1959) und Verlagerung der Leber (Aiello u. Mitarb., 1959) vorzuziehen, da es unter der Lymphstauung zu den geringsten Veränderungen des Leberparenchyms kommt.

Nach Entfaltung der Lymphgefäße stellt sich in der Leber ein besonders dichtes Lymphgefäßnetz dar. Die Lymphgefäße liegen im septalen Bindegewebe,

dringen aber nicht in die Leberläppchen ein. In den Glissonschen Feldern kommen oft mehrere Lymphcapillaren vor. Die capillären Aufzweigungen besitzen eine dünne Endothelwand, eine Basalmembran und Poren fehlen. Die einander überlappenden Endothelfortsätze können vereinzelt Schlußleisten bilden. Unter der zunehmenden Entfaltung klaffen aber auch zahlreiche Intercellularspalten, so daß offene Verbindungen zwischen Capillarlumen und angrenzendem Bindegewebe entstehen. Die Befunde stimmen mit Beobachtungen an Lymphcapillaren anderer Organe überein (Rhodin, 1965; Huth, 1967/68) und entsprechen der ersten Darstellung von Lymphcapillaren der Leber durch Hampton (1958) und Tanikawa (1968). Die Endothelzellen sind in einem Netz feiner Filamente fixiert. Die Filamente, die erstmals von Burke u. Leak (1965—1968) beschrieben wurden, sind wesentlich dünner als kollagene Fibrillen.

Die Lymphgefäße der Leber haben schon unter physiologischen Bedingungen eine große Bedeutung. Nach Bollman u. Mitarb. (1951) strömen innerhalb eines Tages fast die Hälfte aller Plasmaproteine des Organismus durch das Lymphgefäßsystem der Leber. Eine besondere Bedeutung erlangt dieses Gefäßsystems jedoch unter pathologischen Belastungen des Organs, vor allem bei cirrhotischem Umbau der Leber (Baggenstoss u. Mitarb., 1952—1967; Benedetti u. Mitarb., 1965; Bollman, Nix u. Mitarb., 1936—1956; Dumont und Witte, 1960—1969; Kalk u. Mitarb., 1951—1962; Müller, 1967). Bei Lebercirrhose strömt nicht nur vermehrt Lymphe aus der Leber ab, es kommt auch zu einer Vermehrung und einer varicösen Erweiterung von Lymphgefäßen (Volwiler u. Mitarb., 1950; Hyatt u. Smith, 1954; Leger u. Mitarb., 1957—1962; Shieber, 1965; Godart, 1967; Ludwig u. Mitarb., 1968).

Die Lymphstauung der Leber ist nicht nur zur Darstellung des intrahepatischen Lymphgefäßsystems geeignet, wir konnten auch akute pathologische Veränderungen des Lebergewebes verfolgen, die von Interesse für pathogenetische Betrachtungen von Lebererkrankungen sein können. Nach 1—2 Std sahen wir ödematös erweiterte Dissesche Räume, vereinzelte Nekrosen von Leberzellen und eine erhebliche ödematöse Verbreiterung des periportalten Bindegewebes mit schütterter entzündlicher Zellinfiltration. Andere Untersucher fanden unter ähnlichen Versuchsbedingungen Ausfälle von Leberzellfermenten und eine intrahepatische Cholestase (Csillik, Földi, Rusznyák u. Mitarb., 1962—1969; Gerlach, Themann u. Zoltan, 1968). Wir konnten längere Versuchszeiten als andere Untersucher einhalten und bemerkten nach ausschließlicher Lymphstase der Leber keine wesentlichen bleibenden Schäden des Parenchyms, es persistierte lediglich eine leichte Bindegewebsvermehrung der periportalten Septen. Dieser Befund wird durch das eiweißreiche Ödem bei Lymphstase eingeleitet. Die lymphogen-ödematös durchtränkte Grundsubstanz des Bindegewebes ist unter verschiedenen experimentellen Bedingungen und bei menschlichen Erkrankungen als Matrix für einsprossendes Bindegewebe erkannt worden (Rössle, 1933/1944; Rusznyák u. Mitarb., 1969).

Das schnelle Abklingen der übrigen Veränderungen der Leber findet seine Erklärung darin, daß die Lymphgefäße nach 1—2 Wochen regenerieren. Außerdem dürfte es im Experiment kaum gelingen, den Lymphabfluß eines Organs vollständig zu blockieren. Die regenerative Aktivität des Leberparenchyms war durch den Nachweis der bekannten Mitosewellen der Leberzellen nach Nekrosen

zu belegen, am 5.—7. Tag nach der Ligatur der Lymphgefäße sahen wir besonders häufig zweikernige Leberzellen.

Der morphologische Nachweis vereinzelter nekrotischer Leberzellen und auch das schnelle Abklingen der pathologischen Leberveränderungen sahen wir fast vorweggenommen durch die Bestimmung der entsprechenden Fermente im Blutserum: Wenige Stunden nach Ligatur der Lymphgefäße im Leberhilus stiegen die Transaminasen (SGOT, SGPT) steil an, um nach etwa einer Woche wieder auf normale Werte zurückzugehen. Bei den scheinoperierten Tieren ohne Ligatur der Lymphgefäße waren die Fermentwerte bereits nach 1—2 Tagen wieder auf normale Werte gesunken.

Eine länger anhaltende Einschränkung der Leberfunktion ergab sich aus der Untersuchung der Speicherkapazität des Organs für Tantalpulver. Die Speicherung war erheblich verzögert und insgesamt deutlich vermindert. Für die röntgenologisch auswertbare Speicherkapazität ist damit eine größere Empfindlichkeit gegenüber lymphostatischem Ödem zuzuerkennen als für die fermentative Aktivität der Leberzellen. Die Hemmung der Tantal-Speicherung dürfte in der Leber vornehmlich durch die ödematöse Verbreiterung der Disseschen Räume und die daraus folgende Abdrängung der speichernden Sternzellen vom Leberparenchym bedingt sein. Die Belastung der Leber durch die Lymphostase ist hinsichtlich der Speicherkapazität schwerer anzusehen als z.B. die Alkoholintoxikation, die keine wesentliche Verminderung der Speicherkapazität zur Folge hat (Hübner, 1968).

Partielle oder komplette Lymphstauungen der Leber sind in der Humanmedizin bei entzündlicher oder metastatisch-tumoröser Kompression bzw. Verlegung der großen ableitenden Lymphwege zu erwarten. Auch chronisch-fibrosierende Prozesse im Leberhilus wie bei Pericholecystitis, größere Resektionen von Gewebe im Bereich des Leberhilus und seltener ein parasitärer Befall der Lymphgefäße wie bei Filariasis können als Ursachen einer Blockade des Lymphabflusses aus der Leber angesehen werden.

Da wir die Bedeutung der Lymphostase der Leber nicht ausschließlich in den beschriebenen relativ passageren Alterationen des Lebergewebes sehen konnten, setzten wir in einer zweiten Untersuchungsgruppe einen weiteren Belastungsfaktor für die Leber, indem wir gleichzeitig mit der experimentellen Lymphostase eine Cholestase durch Ligatur des Ductus choledochus einleiteten. Unter dieser doppelten Belastung waren die Leberzellnekrosen neben der schnell aufschießenden Cholangitis und Pericholangitis wesentlich ausgedehnter als nach ausschließlicher Lymphostase; die Leberzellnekrosen schritten außerdem fort. Die Progredienz der Veränderungen führte bei einem Teil der Tiere, insbesondere bei Kaninchen innerhalb der ersten Wochen zu einer tödlichen Leberdystrophie. Bei den Tieren, die länger als 4—6 Wochen überlebten, setzte schnell eine zunehmende Fibrosierung der Leber ein. Die Fibrosierung ging sowohl von den untergegangenen Parenchymanteilen als auch von den cholangitisch infiltrierten und verbreiteten Glissonschen Feldern aus. Einen cirrhotischen Umbau größerer Lebergewebskomplexe beobachteten wir bereits nach 2, besonders aber nach 3 Monaten.

Der frühe cirrhotische Umbau vor allem der Lebern von Ratten dürfte zum überwiegenden Teil durch die Cholestase zustande kommen, die Neubildung von Bindegewebe bei der biliären Hepatopathie wird aber wesentlich durch das lymphostatische Ödem beschleunigt, zumal wir schon bei ausschließlicher Lympho-



stase eine Fibrosierungsneigung erkennen konnten. Angesichts der Überlebenszeiten von mehreren Monaten nach experimenteller Cholestase und Lymphostase stellt sich die Frage, ob der Ductus choledochus vollständig ligiert war, oder ob kompensatorische Abflußmöglichkeiten bestanden. Bei Ratten treten außerhalb der Leber hepatische Gallengänge zum Ductus choledochus zusammen. Es ist daher möglich, daß unsere Ligaturen nicht den gesamten Galleabfluß der Leber erfaßten. Ein zusätzlicher Abstrom von Galle könnte außerdem über die nicht ligierten Lymphgefäße erfolgen. Bei Verschluß der Gallenwege wurde ein erheblicher Abstrom von Galle über die Lymphgefäße der Leber beschrieben (Friedman u. Mitarb., 1951—1956; Braun u. Mitarb., 1959; Fischer, 1959). Sollte bei unseren Experimenten der Verschluß der Gallenwege aber inkomplett gewesen sein, so ist der pathogene Effekt der Lymphostase noch höher einzuschätzen.

Die Synopse unserer Befunde ergibt, daß eine experimentelle Lymphostase allein nur zu passageren Leberzellschäden, zu einer interstitiellen Fibrosierung und zu einer Hemmung der Speicherkapazität der Leber für Kontrastmittel wie Tantalpulver führt. Wird eine Cholestase jedoch mit einer Lymphostase im Experiment kombiniert, so ergeben sich ungleich schwerere Veränderungen als nach ausschließlicher Cholestase oder Lymphostase. Die unter dem eiweißreichen Ödem bei Lymphostase einsetzende Fibrosierung des Lebergewebes unterstützt die Umbauvorgänge bei Cholestase. Unter 2—3 Monate bestehender Cholestase und gleichzeitig hervorgerufener Lymphostase tritt ein Umbau vor allem der Lebern von Ratten im Sinne einer biliären Cirrhose ein. In der Humanmedizin dürfte sich eine dynamische Insuffizienz des Lymphgefäßsystems mit nachfolgender Lymphostase auf zahlreiche Leberveränderungen aufpfropfen. Nach Ergebnissen anderer Untersucher und unseren eigenen Befunden ist die Lymphostase ein wichtiger Teilfaktor in der Pathogenese von Lebererkrankungen mit Fibrose und cirrhösem Umbau.

### Literatur

- Abe, Y.: Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe. IX. Wirkung der spezifischen Lymphagoga auf den Pfortaderdruck. *Biochem. Z.* **165**, 261—341 (1925).
- Aiello, R. J., Enquist, J. F., Ikezono, E., Levowitz, B. S.: An experimental study of the role of hepatic lymph in the production of ascites. *Surg. Gynec. Obstet.* **111**, 77—81 (1960).
- Asher, L.: Die Bildung der Lymphe. *Biochem. Centralbl.* **4**, 1—8 (1905).
- Babics, A., Földi, M., Rényi-Vámos, F., Romhányi, G., Ruzsnyák, I., Szabó, G.: Disse's space and the lymph vascular system of the liver. *Magyar belorv. Arch.* **7**, 7—10 (1954).
- — — — — Das Lymphgefäßsystem der Leber und seine pathologische Bedeutung. *Acta Med. Hung.* **7**, 261—278 (1955).
- Baggenstoss, A. H.: The relationship of the hilar lymph vessels of man to ascites. *Arch. de Vecchi* **31**, 11—19 (1960).
- La circulation lymphatique du foie dans les cirrhoses. In: *Circulation lymphatique et artérielle en pathologie digestive abdominale*, p. 49—54. Paris: Masson & Cie. 1967.
- Cain, J. C.: The hepatic hilar lymphatics of man: Their relation to ascites. *New Engl. J. Med.* **256**, 531—535 (1957).
- Stauffer, M. H.: Posthepatic and alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* **22**, 157—180 (1952).
- Benedetti, M. J. de, Wright, P. W., Orloff, M. J.: Dynamics of liver lymph and blood flow in experimental liver disease and ascites. *Surg. Forum* **16**, 275—276 (1965).
- Benson, J. A., Lee, P. R., Scholer, J. F., Kim, K. S., Bollman, J. L.: Water absorption from the intestine via portal and lymphatic pathways. *Amer. J. Physiol.* **184**, 441—444 (1956).



- Bessey, O. A. H., Lowry, O. H., Brock, M. F.: Method for rapid determination of alkaline phosphatase with 5 cubic millimeters of serum. *J. biol. Chem.* **164**, 321—329 (1946).
- Bloom, W. M.: The role of the lymphatics in the absorption of the bile pigment from the liver in early obstructive jaundice. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **34**, 316—320 (1923).
- Bollman, J. L.: Liver lymph and intestinal lymph in experimental cirrhosis and ascites. *J. Amer. med. Ass.* **145**, 1173 (1951).
- Cain, J. C., Grindlay, J. H.: Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine, or thoracic duct of the rat. *J. Lab. clin. Med.* **33**, 1349—1352 (1948).
- Claus, B. F., Cohen, P. P.: Electrophoretic and ultracentrifugal studies of rat liver lymph. *Cancer Res.* **14**, 17—21 (1954).
- Flock, E. V., Cain, J. C., Grindlay, J. H.: Lipids of lymph following feeding of fat. An experimental study. *Amer. J. Physiol.* **163**, 41—47 (1950).
- Mann-Rochester, F. C.: The physiology of the impaired liver. *Ergebn. Physiol.* **38**, 445—492 (1936).
- Braun, P., Papp, M., Horváth, I.: Determination of transaminase activity in dogs serum and lymph after hepatic damage due to acute biliary obstruction. *Nature (Lond.)* **183**, 48—49 (1959).
- Budge, A.: Neun Mitteilungen über die Lymphgefäße der Leber. *Ber. Kgl. Sächs. Ges. Wiss. (Math.-Phys. Kl.)* 161 (1875).
- Burke, J. F., Leak, L. V.: Ultrastructure of lymphatic capillaries during the inflammatory response. *J. Cell Biol.* **27**, 129A—130A (1965) (Abstract).
- Cain, J. C.: A study of hepatic lymph. Thesis: Graduate School, University of Minnesota 1947.
- Claus, B. F., Cohen, P. P., Bollman, J. L.: Electrophoretic and ultracentrifugal studies of rat liver lymph. *Cancer Res.* **14**, 17—24 (1954).
- Csillik, B., Földi, M.: Experimental lymph stasis: Histochemistry and ultrastructure. *Experientia (Basel)*, Suppl. **14**, 159—168 (1967).
- Schneider, I., Varga, L., Joó, F.: Histochemical and histophysical changes in the liver following experimental lymph congestion. *Acta Med. Hung.* **18**, 399—403 (1962).
- Disse, J.: Über die Lymphbahnen der Säugetierleber. *Arch. mikr. Anat.* **36**, 203—224 (1890).
- Dumont, A. E.: Lymph flow in the regulation of circulatory congestion and pancreatic interstitial pressure. In: *Progress in lymphology*, S. 90—92. Stuttgart: Thieme 1967.
- Claus, R. H., Reed, G. E., Tice, D. A.: Lymph drainage in patients with congestive heart failure. Comparison with findings in hepatic cirrhosis. *New Engl. J. Med.* **269**, 949—952 (1963).
- Martelli, A.: X-ray opacification of hepatic lymph nodes following intravenous injection of tantalum dust. *Lymphology* **2**, 91—95 (1969).
- Mulholland, J. H.: Flow rate and composition of thoracic duct lymph in patients with cirrhosis. *New Engl. J. Med.* **263**, 471—474 (1960).
- Effects of thoracic duct to esophagus shunt in dogs with vena cava constriction. *Amer. J. Physiol.* **204**, 289—290 (1963).
- Witte, M. H.: Contrasting patterns of thoracic duct lymph formation in hepatic cirrhosis. *Surg. Gynec. Obstet.* **122**, 524—528 (1966).
- Eggstein, M., Kreutz, F. R.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. *Klin. Wschr.* **44**, 262—267 und 267—269 (1966).
- Eppinger, H.: *Zur Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems*. Berlin: Springer 1917.
- Fischer, A.: *Physiologie und experimentelle Pathologie der Leber*. Budapest: Verlag Ungar. Wiss. 1959.
- Fleischl, E.: Von der Lymphe und den Lymphgefäßen der Leber. *Arch. physiol. Anst. Leipzig* **4**, 24—105 (1874).
- Friedman, E. W., Weiner, R. S.: Estimation of hepatic sinusoid pressure by means of venous catheters and estimation of portal pressure by hepatic vein catheterization. *Amer. J. Physiol.* **165**, 527—531 (1951).
- Friedman, M., Byers, S. O., Omoto, C.: Some characteristics of hepatic lymph in the intact rat. *Amer. J. Physiol.* **184**, 11—17 (1956).
- Gerlach, U., Themann, H., Zoltan, T. Ö.: Untersuchungen des Leberstoffwechsels bei experimentellen Störungen der Lymphzirkulation. In: *Ikterus*, ed. K. Beck, S. 58—63. Stuttgart: Schattauer 1968.

- Godart, S.: In vivo studies of the lymphatics of the spleen, liver, and pancreas. In: Progress in lymphology, S. 384—386. Stuttgart: Thieme 1967.
- Hampton, J. C.: An electron microscope study of hepatic uptake and excretion of submicroscopic particles injected into the blood stream and into the bile duct. *Acta Anat.* **32**, 262—291 (1958).
- Hankiss, J.: Kollodiumeinhüllung der Leber zur Untersuchung des Lymphkreislaufs der Leberkapsel. *Z. ges. inn. Med.* **14**, 1018 (1959).
- Hass, H.: Die Architektur der Lymphgefäße der Leberkapsel in ihren Beziehungen zur Bindegewebsstruktur und Flüssigkeitsströmung. *Virchows Arch. path. Anat.* **297**, 384—403 (1959).
- Hübner, G.: Die pathischen Reaktionen des Lebergewebes. Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie, Heft 78. Stuttgart: Fischer 1968.
- Huth, F.: Beiträge zur Orthologie und Pathologie der Lymphgefäße der Nieren. *Beitr. path. Anat.* **136** 341—412 (1968).
- Hyatt, R. E., Smith, J. R.: Mechanism of ascites: physiologic appraisal. *Amer. J. Med.* **16**, 434—448 (1954).
- Jendrassik, L., Grof, P.: Vereinfachte Methode zur Bestimmung des Blutbilirubins. *Biochem. Z.* **298**, 74—80 (1938).
- Jossifow, J. M.: Das Lymphgefäßsystem des Kaninchens. *Anat. Anz.* **71**, 464—475 (1931).
- Kaiserling, H., Soostmeyer, T.: Die Bedeutung des Nierenlymphgefäßsystems für die Nierenfunktion. *Wien. klin. Wschr.* **52**, 1113—1117 (1939).
- Kalk, H., Brühl, O.: Leitfaden der Laparoskopie und Gastroskopie. Stuttgart: Thieme 1951.
- Wildhirt, E.: Lehrbuch und Atlas der Laparoskopie und Leberpunktion. Stuttgart: Thieme 1962.
- Kisselew, J.: Über die Lymphgefäße der Leber. *Zbl. med. Wiss.* **7**, 147 (1869).
- Kreutz, F. H.: Enzymatische Glycerinbestimmung. *Klin. Wschr.* **40**, 362—363 (1962).
- Enzymatic determination of glycerol in the measurement of triglycerides. Intern. Congr. Clin. Chem. Detroit 1963.
- Kühn, A., Hildebrand, J.: Untersuchungen über die Leberlymphe. II. Mitteilung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **217**, 366—373 (1953).
- Kühn, H. A., Hildebrand, G.: Untersuchungen über die Leberlymphe. *Klin. Wschr.* **29**, 785—786 (1951).
- Leak, L. V., Burke, J. F.: Fine structure of the lymphatic capillary and the adjoining connective tissue area. *Amer. J. Anat.* **118**, 785—809 (1966).
- Ultrastructural studies on the lymphatic anchoring filaments. *J. Cell Biol.* **36**, 129—149 (1968).
- Leger, L., Guyet, P.: La stase lymphatique dans les cirrhoses du foie. *Presse méd.* **65**, 1930—1932 (1957).
- Premont, M., Devissaguet, P.: Le drainage du canal thoracique dans les cirrhoses ascites étude du débit lymphatique. *Presse méd.* **70**, 1643—1646 (1962).
- Ludwig, J., Linhart, P., Baggenstoss, A. H.: Hepatic lymph drainage in cirrhosis and congestive heart failure. *Arch. Path.* **86**, 551—562 (1968).
- McCarrel, J. D., Thayer, S., Drinker, C. K.: The lymph drainage of the gall bladder together with observations on the composition of liver lymph. *Amer. J. Physiol.* **133**, 79—81 (1941).
- Mall, F. P.: On the origin of the lymphatics in the liver. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **12**, 146—148 (1901).
- Müller, K.: Laparoskopische Betrachtungen über den Lymphstrom der Leber. *Med. Klin.* **39**, 1500—1502 (1967).
- Nix, J. T., Flock, E. V., Bollman, J. L.: Influence of cirrhosis on proteins of cisternal lymph. *Amer. J. Physiol.* **164**, 117—118 (1951).
- Reitman, S., Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. clin. Path.* **28**, 56—63 (1937).
- Rhodin, J. A. G.: Fine structure of the peritubular capillaries of the human kidney. In: Progress in pyelonephritis, ed. E. H. Kass. Philadelphia: F. A. Davis 1965.
- Richterich, R., Gautier, E.: Ultramicromethods in clinical laboratories. IV. Determination of serum alkaline phosphatase. *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 781—783 (1962).

- Ritchie, H. D., Grindlay, J. H., Bollman, J. L.: Flow of lymph from the canine liver. *Amer. J. Physiol.* **196**, 105—109 (1959).
- Rössle, R.: Über die Veränderungen der Leber bei der Basedowschen Krankheit und ihre Bedeutung für die Entstehung anderer Organsklerosen. *Virchows Arch. path. Anat.* **291**, 1—83 (1933).
- Über die serösen Entzündungen der Organe. *Virchows Arch. path. Anat.* **311**, 252—284 (1944).
- Rusznayak, I., Földi, M., Szabó, G.: *Lymphologie: Physiologie und Pathologie der Lymphgefäße und des Lymphkreislaufes*, 2. Aufl. Stuttgart: Fischer 1969.
- Sappey, P.: *Anatomie, physiologie, pathologie des vaisseaux lymphatiques considérés chez l'homme et les vertébrés*. Paris: Delahaye, Lecroisnier 1874/85.
- Schellong, G., Wende, U.: A technique for standardization of methods in serum bilirubin determination. *Klin. Wschr.* **38**, 703—707 (1960).
- Schmidt, E., Schmidt, F. W.: Das Verteilungsmuster einiger Enzyme in der menschlichen Leber und seine Veränderung unter Zellschädigung. III. *Enzym. biol. clin.* **3**, 73—79 (1963).
- Sherlock, S.: *Liver disease*. London: Churchill 1951.
- Shieber, W.: Lymphangiographic demonstration of thoracic duct dilatation in portal cirrhosis. *Surgery* **57**, 522—524 (1965).
- Szabó, G., Magyar, Z.: Die Rolle der Lymphgefäße der Leber nach Verschuß der Gallenwege. *Z. ges. exp. Med.* **137**, 170—176 (1963).
- Tanikawa, K.: *Ultrastructural aspects of the liver and its disorders*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer. Tokyo: Igaku Shoin Ltd 1968.
- Teichmann, M.: *Das Saugadersystem vom anatomischen Standpunkte*. Leipzig: Engelmann 1861.
- Trzaska-Chrzonszczewsky, N. A.: Über meine Methode der physiologischen Injektion der Blut- und Lymphgefäße. *Virchows Arch. path. Anat.* **153**, 110—129 (1898).
- Volwiler, W., Bollman, J. L., Grindlay, J. H.: A composition of two types of experimental ascites. *Proc. Mayo Clin.* **25**, 31—33 (1950).
- Winkenwerder, W. L.: A study of the lymphatics of the gall bladder of the cat. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **41**, 226—237 (1927).
- Witte, C. L., Witte, M. H., Dumont, A. E., Frist, J., Cole, W. R.: Lymph protein in hepatic cirrhosis and experimental hepatic and portal venous hypertension. *Ann. Surg.* **168**, 567—577 (1968).
- Witte, M. H., Cole, W. R.: Failure of lymph flow in man and experimental animals: reversal by surgically constructed lymphatico-venous shunts. In: *Progress in lymphology*, ed. A. Rüttimann, S. 376—379. Stuttgart: Thieme 1967.
- Dumont, A. E., Cole, W. R., Levine, N., Aker, U., Clauss, R. H., Kaley, G.: The lymphatic circulation in disorders of salt and water balance resulting from hepatic venous block. *Proc. Sec. Int. Congr. Lymphol.*, ed. M. Viamonte. Stuttgart: Thieme 1970.
- — — Witte, C. L., Kintner, K.: Lymph circulation in hepatic cirrhosis: effect of porto-caval shunt. *Ann. intern. Med.* **70**, 303—310 (1969).
- Witte, C. L.: Influence of mechanical factors on ascites formation in hepatic cirrhosis. *Lymphology* **2**, 89—91 (1969).
- Wroblewski, F., Ladue, J. S.: Serum glutamic oxalacetic transaminase activity as an index of liver cell injury from cancer, a preliminary report. *Cancer (Philad.)* **8**, 1155—1163 (1955).
- — Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **91**, 569—571 (1956).

Dr. F. Huth  
Pathologisches Institut der Universität  
D-4000 Düsseldorf, Moorenstr. 5