

Abbau ölicher Substanzen in der Kaninchenlunge

K. Hofmann, P. Brunner und A. H. Tulusan

Pathologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. V. Becker)

Eingegangen am 18. November 1975

Reduction of Oily Substances in Rabbit Lungs

Summary. Artificial fat embolism in rabbits was caused by injection of olive oil and Lipiodol Ultrafluid® into the ear vein. Electron-microscopic and histochemical observations of the lung were made. The content of nonspecific esterase was evaluated.

Serious defects of blood vessels and pneumocytes as well as an increase in alveolar macrophages and capillary thrombosis were noted. The endothelial cells became considerably larger and necrosis of endothelial cells and capillary destruction even occurred. Fat appeared interstitially and in the alveolus.

Tissue reaction is much greater in olive oil than in contrast medium. This is due to their different chemical composition. The strong tissue reaction in olive oil is caused by glycerol and unsaturated fatty acids occurring in hydrolysis.

Fat emboli are primarily eliminated by enzymatic splitting. Normally alveolar macrophages and endothelial cells contain little nonspecific esterase. After application of fatty fluids they react with an increase in the content of esterase. Alveolar epithelium seems to participate in enzymatic fat splitting.

Key words: Fat embolism — Reduction — Lung.

Zusammenfassung. Nach artifizierter Fettembolie mit Olivenöl oder mit dem jodhaltigen Röntgenkontrastmittel Lipiodol Ultrafluid® treten an Kaninchenlungen ausgeprägte Schäden an Blutgefäßendothelien und an Pneumocyten auf. Die Zahl der Makrophagen steigt stark an; es treten Thromben auf. Die Endothelschäden bestehen aus: Zellverbreiterungen, Schlingenbildung, Zellerstörung und Capillarrupturen. Durch diese gelangt embolisches Fett in die Alveole oder in das zum Teil ödematös verquollene Interstitium.

Die gewebsschädigende Wirkung von Olivenöl ist wesentlich ausgeprägter als die des Kontrastmittels. Dies ist durch die unterschiedliche chemische Zusammensetzung der beiden Substanzen zu erklären. Bei der Hydrolyse von Olivenöl treten als stark endothelschädigende Agentien Glycerin und freie Fettsäuren auf.

Die Eliminierung des embolischen Fettes aus der Lunge erfolgt hauptsächlich durch enzymatische Spaltung. Makrophagen und Endothelzellen bilden die zum Fettabbau notwendige unspezifische Esterase. Die Mitbeteiligung von Alveolardeckzellen an der enzymatischen Fettspaltung ist wahrscheinlich.

Ätiologie, Pathogenese und Epidemiologie der Fettembolie sind seit langem Gegenstand eingehender Untersuchungen¹. In einer umfangreichen Studie hat sich Beneke 1897 der Frage der *Eliminierung* embolischen Fettes aus der Lunge gewidmet. Er vermutete, daß „Zellen imstande sind, die (embolischen) Fettkörper, denen sie sich anlagern, unter verschiedenen chemischen Umwandlungen (etwa mit Hilfe eines Fermentes...) zu lösen und in dieser Form zu resorbieren“.

1 Monographien zur Fettembolie: Collard, 1973; Sevitt, 1962; Szabo, 1971; Wehner, 1968.

Sieber führte 1908 methodische Untersuchungen zur Fettspaltung in der Lunge aus. In Homogenisaten aus Lungengewebe, die in einer sterilen wäßrigen Lösung mit Fetten versetzt waren, fand er nach mehrstündiger Inkubation einen Anstieg des Säuregehaltes und führte diesen auf eine fermentative Freisetzung von Fettsäuren zurück. Neuere Untersuchungen zum Lipasegehalt des Lungengewebes nach Fettembolie erfolgten mit biochemischen Methoden (Armstrong *et al.*, 1967).

Wir untersuchten Kaninchenlungen nach intravenöser Gabe ölgiger Substanzen zur Klärung der Frage, welche Zellen embolisches Fett eliminieren und welche ultrastrukturellen Veränderungen erkennbar sind.

Material und Methode

Verwendet wurden 9 männliche Albinokaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 1,8 kg. Davon blieb 1 Kontrolltier unbehandelt, die anderen wurden in 2 Versuchsgruppen zu je 4 Tieren unterteilt. Die eine Gruppe erhielt Olivenöl², die andere das jodhaltige ölige Röntgenkontrastmittel Lipiodol Ultrafluid®² in die Ohrvene appliziert. Die Dosierung schwankte zwischen 0,3 und 0,5 ml/kg Körpergewicht. Die Tiere mit längerer Überlebenszeit erhielten die geringere Dosis.

10 min, 1 Std, 4 und 11 Tage nach der Ölgabe erfolgte die Tötung eines Tieres aus jeder Untersuchungsgruppe durch Genickschlag. Nach Ausbluten Entnahme und Fixation von Material aus Lunge, Leber, Herz und Niere. Zur *lichtoptischen* Untersuchung Fixation in Formalin (10%ig), Paraffineinbettung, Hämalaun-Eosin-Färbung.

Zur *elektronenoptischen* Untersuchung 1–2 Std Fixation von Lungengewebe (Blöcke von 1 mm³ Größe) in 1%igem Osmiumtetroxid gelöst in Millonigpuffer. Anschließend Spülung in Pufferlösung, Entwässerung über die aufsteigende Acetonreihe und Einbettung in Durcupan AMC. Für orientierende Untersuchungen Anfertigung von 0,5 µ dicken Semidünnschnitten, nachfolgend Toluidinblau-Färbung. Die Kontrastierung der Ultradünnschnitte erfolgte mit Uranylacetat und Bleicitrat.

Für die *histochemischen* Untersuchungen wurde Material aus Lunge, Leber und Niere in flüssigem Stickstoff tiefgekühlt, davon Kryostatschnitte angefertigt und diese für 2 Std nach der von Holt und Hicks (1966) angegebenen Methode zur Darstellung unspezifischer Esterase inkubiert. Die Gegenfärbung erfolgte mit Hämalaun (2 min) und Sudanrot (6 min). Zur Kontrolle wurde eine Enzymhemmung mit E 600 in einer Konzentration von 10⁻⁵ mol/l vorgenommen.

Für die *ultrahistochemischen* Untersuchungen verwendeten wir gleichfalls die Methode nach Holt und Hicks (1966). Lungen-, Leber- und Nierengewebe wurden 4 Std bei 4° C in Glutaraldehydcacodylatpuffer bei pH 7,3 fixiert, davon 80 µ dicke Gefrierschnitte angefertigt, diese in Sucrose-Pufferlösung gespült und dann bei 0° C 2 Std inkubiert. Nach nochmaligem Spülen 1 Std Nachfixation in 1%igem Osmiumtetroxyd, dann Entwässerung und Einbettung in Durcupan AMC.

Ergebnisse

Makroskopisch fand sich bei den behandelten Tieren regelmäßig eine Dilatation des rechten Herzventrikels. In den Lungen speziell sub- und intrapleurale, teilweise auch im Parenchym, flächige oder petechiale Blutungen und herdförmige Atelektasen.

Histologisch lassen sich 10 min nach der Ölinjektion ausgedehnte fettembolische Verlegungen der Capillarlumina der Lungenstrombahn und fettreiche Mikrothromben beobachten. Zu diesem Zeitpunkt sind nach der Olivenölgabe bereits

² Bestandteile: *Olivenöl*: (Fieser *et al.*, 1968). Glycerinester: 6,0% Palmitinsre C16 ges; 4,0% Stearinsre C18 ges; 83% Ölsre C18 1fach unges; 7,0% Linolsre C18 2fach unges. *Lipiodol Ultrafluid*®: (Fischer, 1969). Äthylester: 88% mono und dijodierte Octadecansre C18 ges.

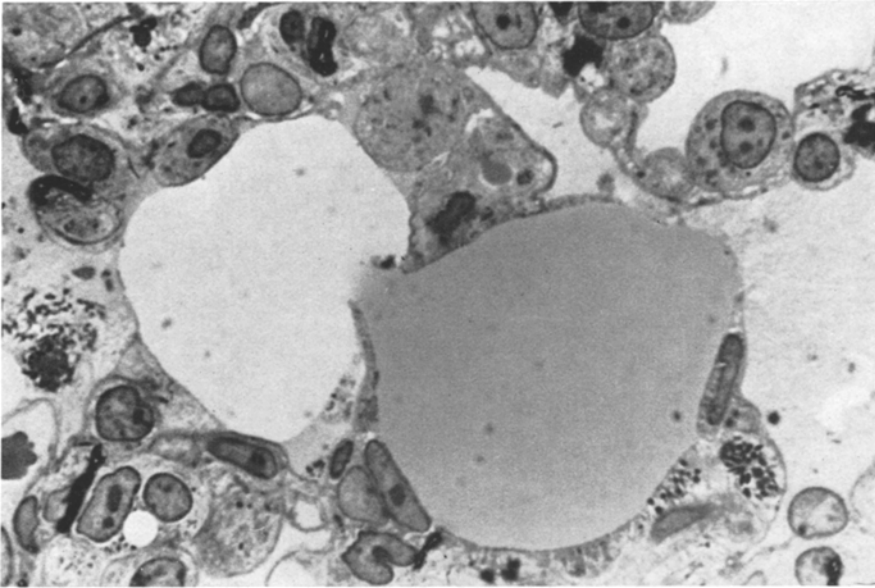


Abb. 1. Capillarruptur in der Lunge mit Ausströmen von Fett in die Alveole. Semidünnschnitt, Toluidinblaufärbung, Ölimmersion

ausgedehnte ödematöse Verquellungen der Pulmonalarterienmedia erkennbar, nach 4 Tagen auch Ödeme in der Alveole, die bis zum 11. Tag persistieren. Bei dem mit Lipiodol Ultrafluid® behandelten Tier haben wir derartige Veränderungen nur in geringem Ausmaß gesehen.

1 Std post injectionem finden sich in der Umgebung embolischen Olivenöls vor allem neutrophile Granulocyten, an embolischem Kontrastmittel Makrophagen.

4 Tage nach Versuchsbeginn ist die entzündliche Reaktion am stärksten ausgeprägt und nimmt bis zum 11. Tag wieder ab. Die Makrophagen können granulomartige Formationen bilden. Rupturierte Capillaren, aus denen Fett in die Alveole austritt, sind unabhängig von der Verweildauer embolischen Fettes zu finden (Abb. 1). Fettembolische Verschlüsse in den Blutgefäßen der Nieren als Ausdruck einer systemischen Fettembolie waren bei den Tieren 4 und 11 Tage nach der Injektion nachweisbar, nicht aber bei den Tieren mit 10 min und 1 Std Überlebenszeit.

Histochemische Untersuchungen zum Nachweis unspezifischer Esterase erfolgten an der Lunge. Leber und Niere wurden als enzymreiche Organe zur Kontrolle mitinkubiert. In der Lunge des Kontrolltieres findet sich eine geringe Esteraseaktivität in den Zylinderepithelien der Bronchialschleimhaut und in einzelnen im Parenchym verstreuten Makrophagen. Zahl und Enzymaktivität der esterasepositiven Zellen ändern sich gegenüber dem Kontrolltier 10 min und 1 Std nach der Ölinjektion nicht.

4 Tage nach der Fettapplikation ist die Esteraseaktivität in der Bronchialschleimhaut eindrucksmäßig gleich stark. Im Lungenparenchym steigt jedoch die

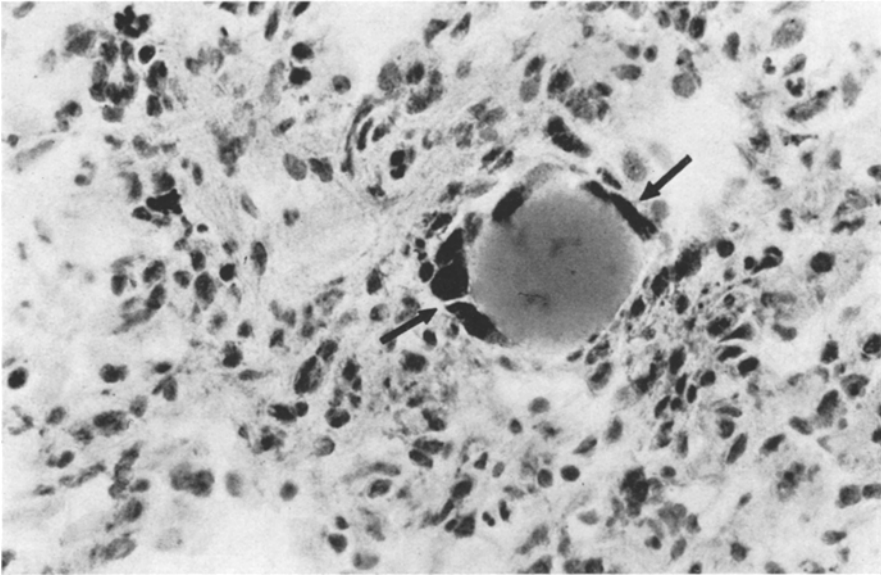


Abb. 2. Fettembolus mit anliegendem esterasepositivem Gefäßendothel (→), 4 Tage nach Versuchsbeginn. Kryostatschnitt, Esterasedarstellung nach Holt und Hicks, Gegenfärbung mit Sudanrot und Hämalaun, Ölimmersion

Zahl enzymatisch aktiver Makrophagen deutlich an; sie enthalten zum Teil auch sudanophile Partikel. Auch Alveolardeckzellen sowie Endothelzellen (Abb. 2), die unmittelbar an embolisches Fett grenzen, zeigen jetzt eine deutliche Esteraseaktivität.

Die Gesamtzahl esterasepositiver Zellen und deren Enzymgehalt steigt kontinuierlich bis zum 11. Tag nach Versuchsbeginn. Enzymreiche Makrophagen sammeln sich an fettembolisch verschlossenen Blutgefäßen; die zuvor glatt konturierten Fettemboli erscheinen zunehmend aufgesplittert.

Ultrahistochemisch ist die Esterase in allen untersuchten Zellen (Makrophagen, Endothelzellen, Alveolardeckzellen) im endoplasmatischen Reticulum (ER), den Cytosomen und an einigen Stellen auch angrenzend an Fetteinschlüsse in der Zelle zu erkennen. Die Bronchialschleimhaut wurde ultrahistochemisch nicht untersucht.

Elektronenoptisch finden sich nach 10 min sowohl bei mit Olivenöl als auch bei mit Lipiodol Ultrafluid® behandelten Versuchstieren im Bereich embolischen Fettes flach ausgewalzte Endothelzellen, deren lumenseitige Zellmembranen bei dem mit Olivenöl behandelten Tier häufig zerstört sind. In den nicht fettembolisch verschlossenen Gefäßabschnitten ist das Endothel durch die Zunahme des ER und der Cytosomen verbreitert. Die Zellkerne sind vergrößert. Nach der Olivenölgabe treten zusätzlich größere Endothelvacuolen und -schlingen auf. Diese Gefäßwandschäden bilden bevorzugte Anlagerungsstellen für Thromben heterogenen Aufbaus, bestehend aus embolischem Fett, Fibrin, Thrombocyten, Erythrocyten und Granulocyten (Abb. 3). Davon unabhängig liegen intravasal viele Makro-

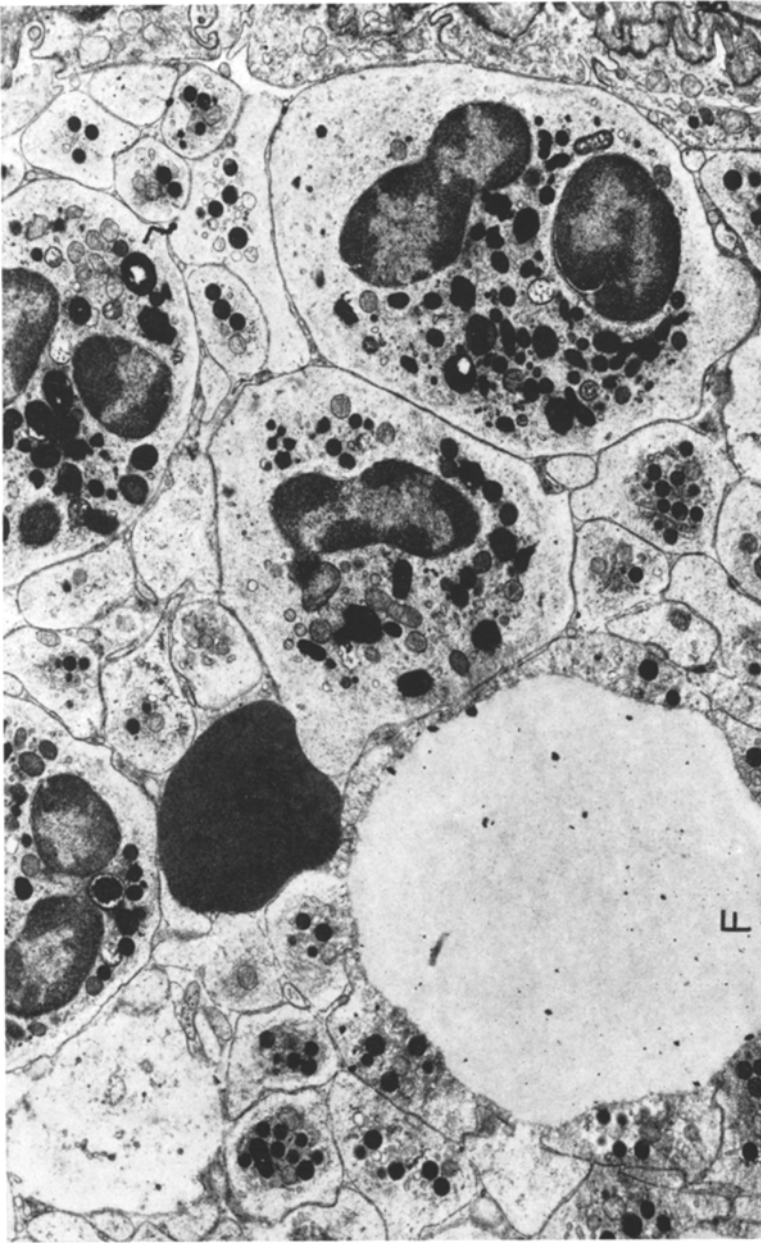


Abb. 3. Heterogener Thrombus, an der unteren Bildkante ein Fettropfen (F); hieran angrenzend dicht gepackte Thrombocyten, Granulocyten und angeschnitten ein Erythrocyt; 10 min nach Fettgabe, Endvergr. 16000

phagen, die bei diesen beiden Tieren eine große Zahl vacuolendurchsetzter, kreisrunder und ovaler Einschlußkörper mit der elektronenoptischen Dichte von Lipiden aufweisen. Gleichartige Zellen sind jetzt auch in geringerer Anzahl intraalveolär an Fettropfen nachweisbar. In den Pneumocyten 1. Ordnung kommt es zu einer

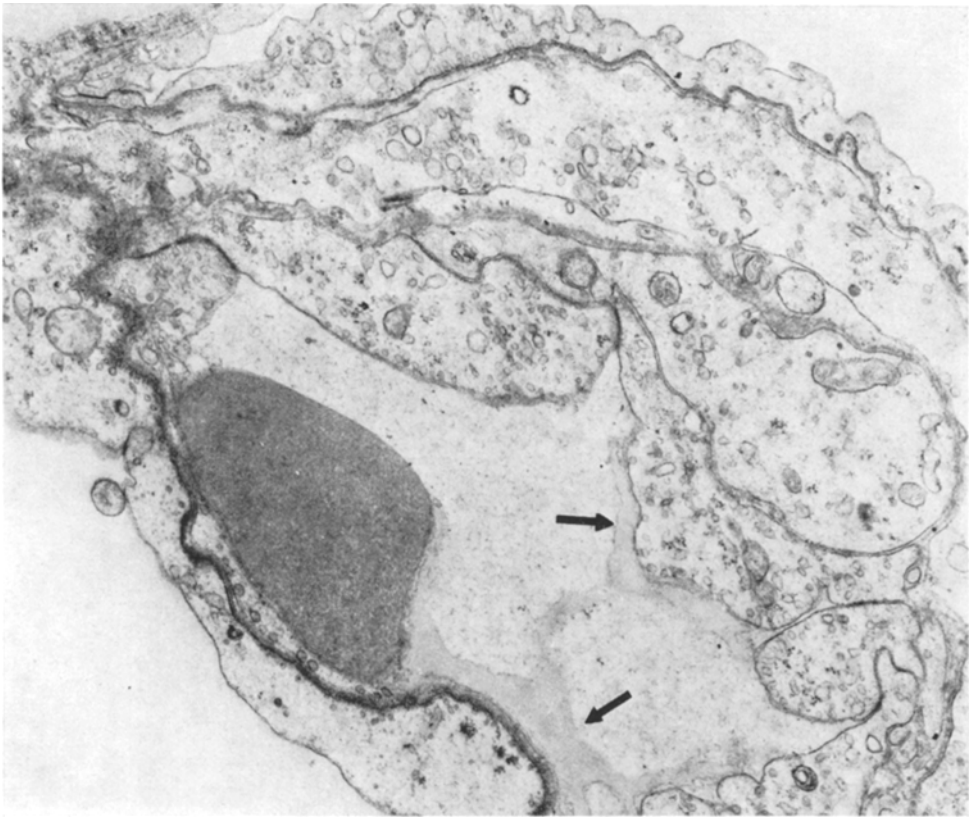


Abb. 4. Marginaler Fettfilm am Endothel (→) 1 Std nach Lipiodol-Injektion, Endvergr. 16000

Proliferation des ER. Im Vergleich zum Kontrolltier treten nach 10 min in den Pneumocyten 2. Ordnung vermehrt Einschlußkörper mit osmiophilem Randsaum auf.

Nach einer Stunde haben sich bei dem mit Lipiodol Ultrafluid® behandelten Tier keine wesentlichen Veränderungen ergeben. Neben Fettemboli fallen jetzt schmale an das Endothel grenzende Fettsäume auf (Abb. 4). Die Endothelzellmembranen sind in diesen Bereichen intakt und zeigen neben zahlreichen Pinozytosebläschen tief in die Zelle hineinreichende schlauchförmige Invaginationen. Der Endothelzellverband ist erhalten, das Interstitium unauffällig.

Weit ausgeprägtere Veränderungen sind 1 Std nach der Olivenölapplikation vorhanden. In einzelnen Endothelien finden sich Fettpartikel, die von einer einfachen Membran umgeben sein können. Andere zeigen hochgradig ödematöse Auflockerungen des Cytoplasma; diese führen bis zum Bild der optisch leeren Zelle (Abb. 5). Teilweise schwinden die langen, flachen Ausläufer der Endothelien, die Zellen verlieren die Haftung zur Nachbarzelle und runden sich ab (Abb. 6). Einige Endothelien sind zerstört; erkennbar sind nur noch Reste der Zellmembran und

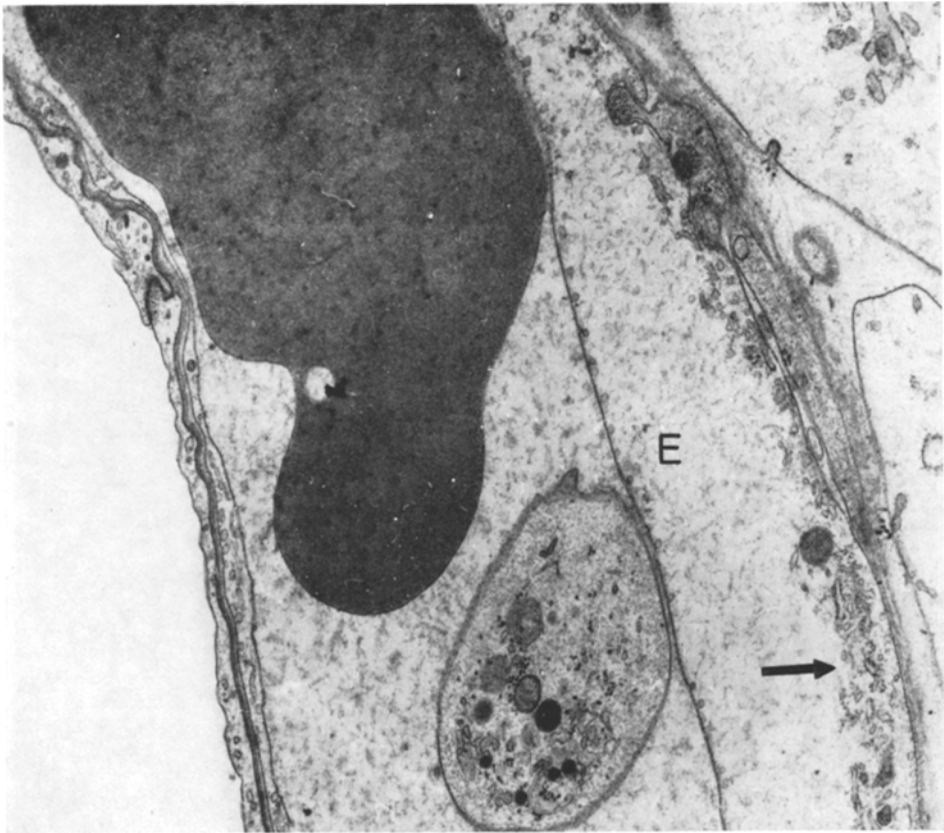


Abb. 5. Endothelzellödem (E) mit randständig verdrängten Zellorganellen (→) 1 Std nach Olivenölgabe, Endvergr. 16000

einzelne im Capillarlumen liegende Zellorganellen. Abschnittsweise liegt die Basalmembran frei. In diesen Bezirken grenzt das embolische Fett unmittelbar an die aufgelockerte Basalmembran und ist an einzelnen Stellen in das ödematös aufgelockerte Interstitium eingebrochen.

4 Tage nach Versuchsbeginn treten neben den schon beschriebenen Veränderungen bei beiden Tieren ausgeprägte Alveolardeckzellödeme auf (Abb. 7), bei dem mit Olivenöl behandelten Tier auch Ödeme in der Alveole. Auch nach Kontrastmittelgabe sind jetzt erhebliche Endothelschäden erkennbar. Das Capillarlumen kann durch ausgeprägte Endothelblasen- und -schlingenbildung manschettenartig eingeengt sein.

Bis zum 11. Versuchstag ergeben sich keine weiteren grundsätzlichen Veränderungen. Bei dem mit Lipiodol Ultrafluid® behandelten Tier haben sich die ödematösen Verquellungen der Zellen etwas zurückgebildet, alle anderen Zellschäden sind in gleicher Intensität nachweisbar.

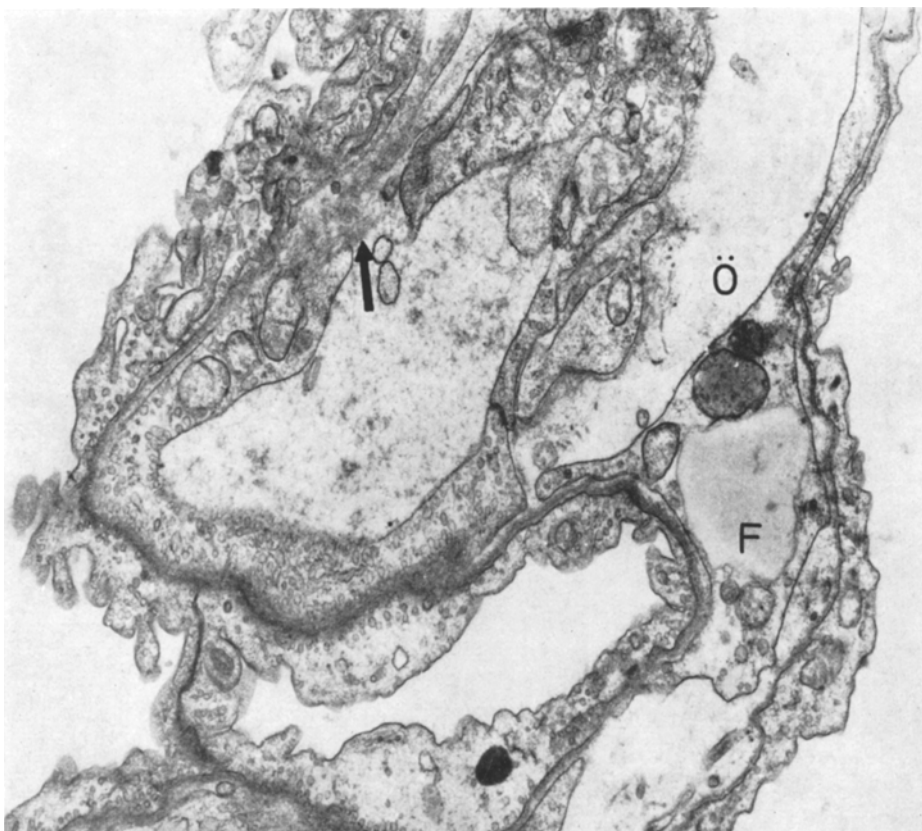


Abb. 6. Endothelzellabrundung mit breiter Intercellularspalte (\rightarrow) und freiliegender aufgelockerter Basalmembran. Interstitielles Ödem (Ö) und Fett (F) in einer Zelle des Interstitium, Endvergr. 16000

Diskussion

Die Eliminierung körpereigenen und körperfremden embolischen Fettes aus der Lunge nimmt etwa 21 Tage in Anspruch (Schubert, 1971). Threefoot (1968) fand für radioaktiv markiertes embolisches Triolein eine biologische Halbwertszeit von 2,2 Tagen.

Als Mechanismus einer Eliminierung des Fettembolus aus der Lunge kommen der Austritt über Capillarrupturen in die Alveole, die Ausschwemmung in den großen Kreislauf und der enzymatische Abbau des Fettes in Frage.

Über die *Capillarrupturen* gelangt das Fett in die Alveole und wird dort entweder von Makrophagen aufgenommen oder expektoriert. Dieser Mechanismus kommt nur für die Eliminierung eines kleinen Teiles der embolischen Substanz in Frage. Preiss spritzte Kaninchen Silikon über die Ohrvene und fand Rupturen der Lungencapillaren, durch die Silikon in die Alveole austrat. Trotzdem hatte noch 13 Monate nach Versuchsbeginn die Silikonmenge eindrucksmäßig nicht abgenommen.

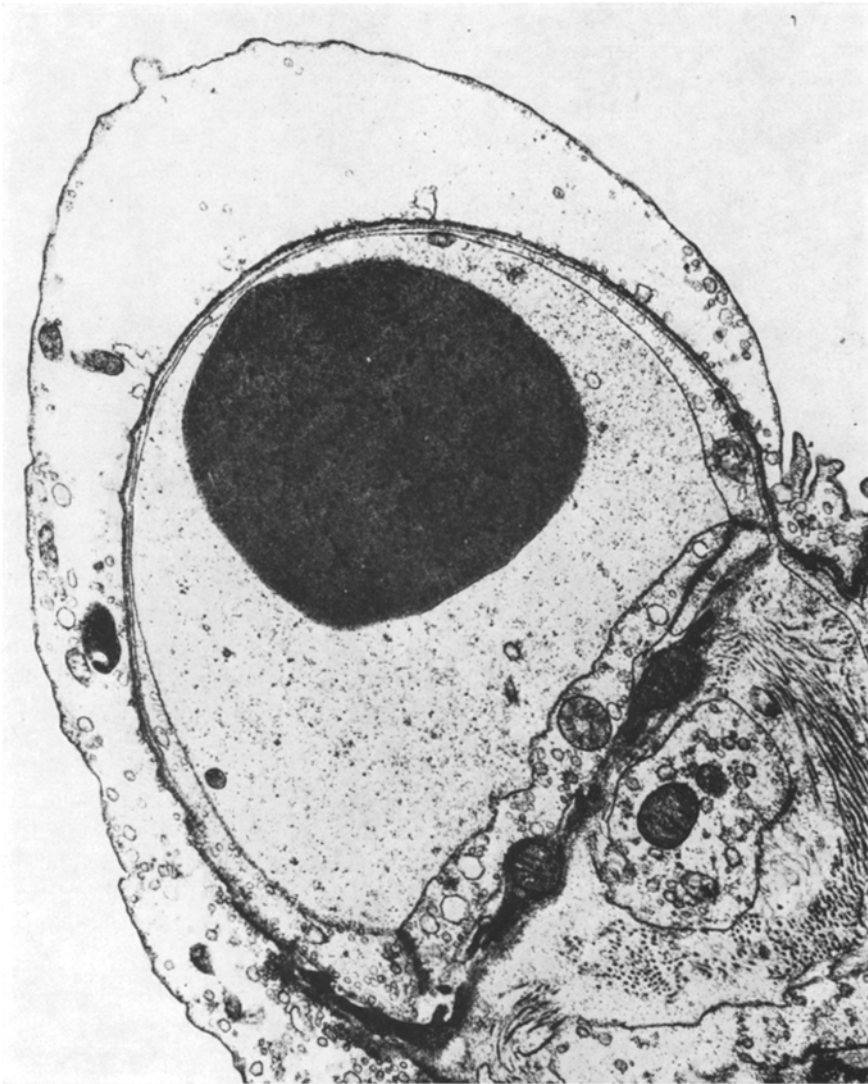


Abb. 7. Alveolardeckzellödem 11 Tage nach Olivenölgabe, Endvergr. 20000

Nach artifizieller Fettembolie sind derartige Capillarrupturen mehrfach beschrieben, wobei es gleichgültig scheint, ob arteigenes (David, 1967), artfremdes Fett oder eine chemisch inerte Substanz injiziert werden. Offensichtlich sind diese Capillarrupturen abhängig von der Viskosität der applizierten Substanz und damit mechanischen Ursprungs.

Ein anderer Teil des embolischen Fettes wird durch die *vis a tergo* aus der pulmonalen Strombahn in den großen Kreislauf *ausgeschwemmt* und in geringer Menge über die Nieren ausgeschieden (Scuderi, 1941). Dieser Vorgang setzt aller-

dings nicht unmittelbar ein. Wir fanden fettembolische Verschlüsse in den Nierenblutgefäßen der untersuchten Tiere erst 4 und 11 Tage nach Versuchsbeginn.

Die Hauptmenge des embolischen Fettes wird *enzymatisch abgebaut*. Die Bedeutung der Lunge als Stoffwechselorgan wurde frühzeitig erkannt (Beneke, 1897; Sieber, 1908; Aschoff, 1926). In biochemischen Untersuchungen an Homogenisaten von Rattenlungen ist mehrfach ein Anstieg des Lipasegehaltes im Lungengewebe nach artifizieller Fettembolie beobachtet worden (Hess, 1948; Armstrong *et al.*, 1967). Unsere morphologischen Untersuchungen zeigen, daß der Esterasegehalt der Lunge nach artifizieller Fettembolie zeitabhängig steigt.

In der regelhaften Lunge des Menschen beschränkt sich die Esteraseaktivität auf wenige Alveolarmakrophagen und auf Zellen der Bronchialschleimhaut (Suzuki, 1966). Das Kontrolltier unserer Untersuchungsreihe zeigte einen gleichartigen Befund. Eine deutliche Zunahme der Zahl enzymhaltiger Zellen ist erst 4 Tage nach Versuchsbeginn zu beobachten; sie liegen vor allem in der unmittelbaren Umgebung embolischen Fettes. Die Esteraseaktivität beschränkt sich nicht mehr nur auf die Makrophagen, sondern ist auch in einzelnen Blutgefäßendothelien zu sehen. Die Mitbeteiligung von Alveolardeckzellen an der Enzymproduktion ist wahrscheinlich, aber es gelang an den Kryostatschnitten keine exakte Abgrenzung gegenüber Makrophagen. Verschiedene Autoren (Gomori, 1946; Pliess, 1959) haben jedoch lichtoptisch lipasepositive Alveolarwandzellen gefunden.

Der Anstieg der unspezifischen Esterase ist also abhängig von der Zeit und der Lokalisation der Zellen. Es liegen ihm verschiedene Mechanismen zugrunde. Zum einen steigt die Zahl der Makrophagen, die — auf dem Blutwege herant transportiert — „einen wesentlichen Anteil an der Kapazität des Reinigungsmechanismus der Lunge darstellen“ (Rasche *et al.*, 1965) und auch im Normalzustand Esterase enthalten. Zum anderen bilden nach einer Fettembolie auch die Gefäßendothelien Esterase. Der Enzymgehalt dieser Zellen ist im Regelfall nur gering und „unergiebig“ (Doerr, 1970). Er zeigt aber funktionsbedingte und ortsabhängige Unterschiede (Hort, 1958). Wir sahen esterasepositive Endothelzellen unmittelbar an embolischem Fett, das die Enzymproduktion der Endothelzelle offenbar induziert.

Elektronenoptisch treten in Abhängigkeit von der applizierten Substanz Endothelschäden verschiedener Intensitätsgrade auf: es sind Zellverbreiterungen, Endothelschlingenbildung, Ödeme und — im Extremfall — ein völliger Zerfall der Endothelien zu erkennen. Zerfallende Zellen und Bezirke mit nackter Basalmembran sind ausschließlich nach Olivenölgabe zu beobachten. Diese extremen Schäden treten bereits im Zeitraum zwischen 10 min und 1 Std nach Versuchsbeginn auf. Nach Kontrastmittelembolie waren sie nie zu sehen. In nicht embolisierten Capillarbezirken zeigen sich Gewebsschäden erst später. Ödematöse Verquellungen der Endothelien treten bei beiden Versuchsgruppen auf, entwickeln sich aber bei den mit Lipiodol Ultrafluid® behandelten Tieren verzögert. Die schwersten Endothelschäden der Kontrastmittelgruppe zeigen sich erst nach 4 Tagen und bestehen in einer ausgeprägten Endothelschlingenbildung.

Die unterschiedliche Reaktion des Lungengewebes auf die beiden applizierten Substanzen ist durch ihre chemische Zusammensetzung und damit durch die bei der enzymatischen Hydrolyse entstehenden Produkte zu erklären. Bei der Hydrolyse von Olivenöl werden ungesättigte Fettsäuren und Glycerin frei. Dieses

führt nach intravenöser oder subcutaner Gabe zu schwerer Hämolyse (Cameron *et al.*, 1956; Oken *et al.*, 1966 zit. in Kaufmann, 1970). Eine allgemein membranschädigende Wirkung des Glycerin ist nicht auszuschließen und könnte den nach der Olivenölgabe beobachteten Zellzerfall erklären.

Peltier (1956) hat in lichtoptischen Untersuchungen die Toxizität von Neutralfetten und freien Fettsäuren auf das Lungengewebe bestimmt und gefunden, daß die schädigende Wirkung freier Fettsäuren mit der Zahl der Doppelbindungen steigt. Bei der Hydrolyse von Lipiodol Ultrafluid® entstehen nur gesättigte Fettsäuren; dieser Umstand kann das im Vergleich zu Olivenöl gewebsfreundliche Verhalten erklären.

Untersuchungen von Robertson (1941) deuten einen weiteren Schädigungsmechanismus durch freie Fettsäuren an. Er zeigte, daß die intercelluläre Kohäsion vom Vorhandensein freier Ca-Ionen abhängig ist. Diese bilden mit den bei der enzymatischen Hydrolyse der applizierten Öle entstehenden langkettigen Fettsäuren wasserunlösliche Salze. Über einen lokalen Mangel an Ca-Ionen (Peltier, 1956) soll es zu einem Aufbruch der in der Regel „kontinuierlichen Capillarauskleidung“ (Bargmann *et al.*, 1956) kommen. Dieser Mechanismus ist elektronenoptisch belegbar, da nach Olivenölgabe breite Lücken im Endothelzellverband erkennbar sind. An diesen Stellen ist die Basalmembran unmittelbar den Schadstoffen ausgesetzt und meist aufgelockert (Abb. 6). Im Bereich dieser Interzellularlücken gelangt Fett bevorzugt ins Interstitium; auch die beobachteten interstitiellen Ödeme sind so erklärbar.

Literatur

- Armstrong, H. J., Kuenzig, M. C., Peltier, L. F.: Lung lipase level in normal rats with experimentally produced fat embolism. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **124**, 959—961 (1967)
- Aschoff, L.: Bemerkungen zur Physiologie des Lungengewebes. *Z. exp. Med.* **50**, 52—63 (1926)
- Bargmann, W., Knoop, A.: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lungenkapillaren. *Z. Zellforsch.* **44**, 236 (1956)
- Beneke, R.: Die Fettresorption bei natürlicher und künstlicher Fettembolie. *Beitr. path. Anat.* **22**, 343—411 (1897)
- Cameron, G. R., Finckh, E. S.: The production of an acute haemolytic crisis by subcutaneous injection of glycerol. Zit. in: Kaufmann, E., Experimentelle Lungenembolie mit jodhaltigen Röntgenkontrastmitteln bei der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **152**, 201—222 (1970)
- Collard, M.: Die Fettembolie. Baden-Baden, Brüssel: Witzstrock 1973
- David, H., Marx, I., Krastev, H.: Elektronenoptische Befunde bei der experimentellen Fettembolie der Kaninchenlunge mit arteigenem Fett. *Exp. Path.* **1**, 185—192 (1967)
- Doerr, W.: Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufs. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie III/4. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970
- Fischer, H. W.: Contrast media. In: (Fuchs, A. W., Davidson, J. W., Fischer, H. W., eds.) Recent results in cancer research, lymphography in cancer. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969
- Fieser, L. F., Fieser, M.: Organische Chemie. Weinheim: Verlag Chemie 1968
- Gomori, G.: The microtechnical demonstration of sites of lipase activity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **58**, 362—364 (1945)
- Gomori, G.: Distribution of lipase in the tissues under normal and under pathologic conditions. *Arch. Path.* **41**, 121—129 (1946)
- Geyer, G.: Ultrahistochemie. Stuttgart: Fischer 1973
- Hess, W.: Fettembolie und Lipasen. *Helvet. chir. Acta* **15**, 163—168 (1948)
- Holt, S. J., Hicks, R.: The importance of osmiophilia in the production of stable azoindoxyl complexes of high contrast for combined cytochemistry and electron microscopy. *J. Cell Biol.* **29**, 361—366 (1966)

- Hort, W., Hort, H.: Beiträge zur Histochemie der Blutgefäßendothelien und der Capillargrundhäutchen. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 591—615 (1958)
- Kaufmann, E.: Experimentelle Lungenembolie mit jodhaltigen Röntgenkontrastmitteln bei der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **152**, 201—222 (1970)
- Oken, D. E., Arce, M. L., Wilson, D. R.: Glycerol induced hemoglobinurie acute renal failure in rats (micropuncture). In: Kaufmann, E.: Experimentelle Lungenembolie mit jodhaltigen Röntgenkontrastmitteln bei der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **152**, 201—222 (1970)
- Peltier, L. F.: Fat embolism: The toxic properties of neutral fat and free fatty acids. *Surgery* **40**, 665—670 (1956)
- Pliess, G., Suhr, A.: Histochemische Befunde an der Rattenlunge nach Cortisonmedikation. *Beitr. path. Anat.* **12**, 406—425 (1959)
- Preiss, G., Brunner, P., Tulusan, A. H.: Die pulmonale Silikonembolie. Enzymhistochemische und elektronenoptische Untersuchungen an der Kaninchenlunge (in Vorbereitung)
- Robertson, J. D.: The function and metabolism of calcium in the invertebrate. In: (Peltier, L. F., eds.) *Fat embolism: The toxic properties of neutral fat and free fatty acids. Surgery* **40**, 665—670 (1956)
- Rubia, F., Schulz, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Blut-Luft-Weges bei der experimentellen Fettembolie der Lunge. *Beitr. path. Anat.* **128**, 78—102 (1963)
- Schubert, G. E.: Zur Histopathologie der Fettembolie. In: Koslowski, L., *Posttraumatische Fettembolie*. Stuttgart-New York: Schattauer 1971
- Seuderi, C. S.: Fat embolism: A clinical and experimental study. *Surg. Gynec. Obstet.* **72**, 732—746 (1941)
- Sieber, N.: Die Fettsplaltung durch Lungengewebe. *Z. Physiol. Chem.* **55**, 177—206 (1908)
- Suzuki, T.: A. Histochemical studies on enzymes in lung tumors. I. Enzyme activity in human lung cancer. *Gann* **57**, 55—67 (1966)
- Suzuki, T.: B. Histochemical studies on enzymes in lung tumors. II. Enzyme activity in mouse and rat lung tumors. Induced by 4-nitroquinoline-1-oxide. *Gann* **57**, 69—184 (1966)
- Szabo, G.: *Die Fettembolie*. Budapest: Akademiai Kiado 1971
- Threefoot, S. A.: Pulmonary hazards of lymphography. In: *Progress in lymphography* (ed. A. Rüttimann). Stuttgart: Thieme 1967
- Wehner, W.: *Die Fettembolie*. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1968

Dr. Dr. P. Brunner
Pathologisches Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg
D-8520 Erlangen
Krankenhausstr. 8—10
Bundesrepublik Deutschland