

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. J. LINZBACH)

Über den gestaltlichen Abbau großer Fetttropfen in Leberzellen*

Von

F. PRINZ

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. August 1958)

Während über die Entstehung großer Fetttropfen in den Leberzellen viele Beobachtungen vorliegen, wissen wir nicht, wie sich ihr gestaltlicher Abbau vollzieht. Bekannt ist, daß eine Leberverfettung reversibel ist (TERBRÜGGEN, SCHÜMMELFEDER u. a.). Eine großtropfige Leberzellverfettung kann schwinden oder in eine kleintropfige übergehen. Erfahrungen, die wir an Leberbiopsien des Menschen bei Mehrfachpunktionen sammeln konnten (PRINZ, PRINZ-BOCK u. Mitarb.) zeigen bei wiederholten Punktionen nicht selten einen Wechsel der Verfettungstypen.

Bei 65 Mehrfachpunktionen konnten wir in 31 Fällen einen gleichbleibenden Verfettungstyp und in 34 Fällen einen Typenwechsel feststellen. So fanden wir beispielsweise in der ersten Leberpunktion (J.-Nr. 2797/52) bei einer 27jährigen Frau, die an Peritonealtuberkulose litt, eine großtropfige, diffus über die Läppchen verteilte Verfettung der Leberzellen. Elf Wochen später, in einer zweiten Punktion (J.-Nr. 4644/52), dagegen nur noch vereinzelte kleine Fetttropfen.

Der Rückgang einer Leberverfettung ist, wie ALTMANN betont, bis jetzt im wesentlichen nur quantitativ zu erfassen. JAFFÉ u. Mitarb. fanden bei ihren Tierexperimenten, daß unter gewissen Bedingungen die Zahl der großen Fetttropfen in den Leberzellen abnehmen kann bei gleichzeitiger Zunahme der kleinen Tropfen.

Eigene Befunde

Wir haben versucht, bei dem Rückgang einer großtropfigen Leberzellverfettung gestaltliche Veränderungen an den Fetttropfen zu erfassen.

Bei unseren Untersuchungen erwies sich von allen Fettfarbstoffen der Oxazin-Farbstoff *Nilblausulfat* am geeignetsten. Über seine Eigenschaften als Dia- und Fluorochrom haben wir (PRINZ) berichtet. Bei Anwendung dieses Farbstoffes ist eine gewisse histochemische Unterscheidung zwischen veresterten und in Abbau befindlichen Fetttropfen möglich. Veresterte Fetttropfen zeigen bei Färbung mit Nilblausulfat eine rosarote Farbe, in Abbau begriffene Fettstoffe sowie Fettsäuren, Seifen und Phosphatide dagegen, je nach der Dichte der wasserlöslichen Abbaustufen eine violette bis blaue Farbtönung. Da Nilblausulfat ein wasserlöslicher, auch an Frischgewebsschnitten gut anwendbarer Fettfarbstoff ist und

* Auszugsweise vorgetragen in der Medizinischen Gesellschaft Marburg a. d. Lahn.

sich die Färbung von Fett und Gewebe in nur einem Arbeitsgang vollzieht, ist der Farbstoff gewebsschonend. Außerdem erweist sich die fluoreszierende Eigenschaft des Oxazon-Derivates (goldgelb im UV-Licht) als besonders nützlich, da selbst kleinste Fetttropfen zur Darstellung kommen.

An Biopsien und Leichenlebern des *Menschen* bemerkten wir öfters große Fetttropfen, deren Rand und Oberfläche nicht rund und scharf konturiert waren, sondern mehr oder weniger unregelmäßig erschienen. Solche Tropfen sehen bei Färbung mit Nilblausulfat und Betrachtung

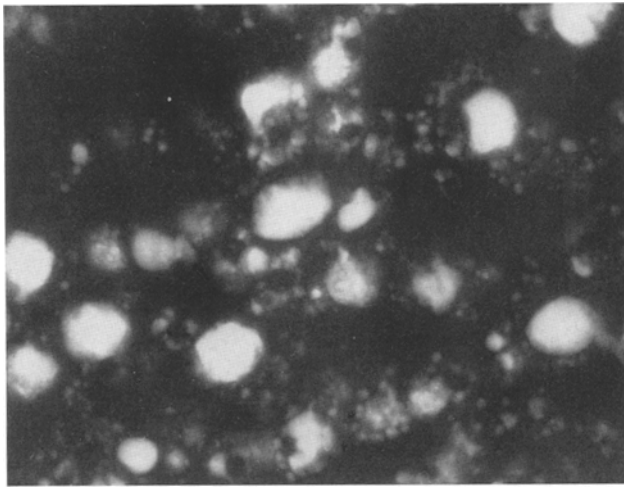


Abb. 1. Großtropfige Leberzellverfettung. Neben unregelmäßig gestalteten großen Fetttropfen mit „angegagten“ Rändern viele kleine. Nilblausulfat — UV-Licht, Vergr. 400fach

im UV-Licht wie angengagt aus (Abb. 1). Hinsichtlich der Verfettung erscheint das mikroskopische Bild nicht gleichförmig. Neben den veränderten großen Fetttropfen sind viele kleine und mittelgroße Tropfen zu finden. Der in der Abbildung gezeigte Leberschnitt stammt von einem 7jährigen Jungen (S.-Nr. 34/58), der über zwei Jahre an einer zuletzt generalisierten Lymphogranulomatose litt und stark abgemagert war. (Lebergewicht: 1920 g, Körpergewicht: 22 kg, Körperlänge: 126 cm.)

Betrachtet man mikroskopisch die Nilblausulfat gefärbten, jedoch nicht gewässerten und nicht differenzierten nativen Leberschnitte, dann fallen an den Fetttropfen angedeutete *Farbnuancen* auf, die von rosarot nach violett und blau spielen. Sie sind der subjektiven Deutung jedoch zu sehr unterworfen und schwinden nach Wässern und Differenzieren der Schnitte auch wieder. Wahrscheinlich werden die wasserlöslichen, blau gefärbten Fettstoffe oder ihre Abbauprodukte an der Oberfläche der Tropfen durch den Wässerungs- und Differenzierungsprozeß abgewaschen. Die Fetttropfen erlangen dann ihre rosa-

rote Farbe wieder, die lediglich durch das Blau der Ab- und Umbau-stufen überdeckt war.

Um diese geringgradigen Abbauveränderungen an großen Fetttropfen darstellen zu können, haben wir einen Kunstgriff angewandt. Durch Einwirkung des Verdauungsfermentes *Pankreatin* — es enthält neben geringen Mengen Lipase die dreifache Menge an Trypsin — läßt sich das Cytoplasma der Leberzellen weitgehend entfernen, so daß die Abbauvorgänge an den Fetttropfen infolge der Lipaseeinwirkung

besonders klar und deutlich hervortreten. Nach der üblichen Nilblausulfat-Färbung werden nicht zu dünne (etwa $15\ \mu$ dicke) Lebergewebsschnitte für 1—2 Std bei 37°C einer Lösung von 6 Pankreatin-Dragees (Brunnengräber) auf $100\ \text{cm}^3$ Wasser ausgesetzt. Histologisch erkennt man an den so behandelten Schnitten Fetttropfen, die von Cytoplasma fast völlig befreit sind und isoliert im Blickfeld liegen. Die Farbe der Tropfen, die vor der Fermentbehandlung rosarot war, schlägt infolge der Lipaseeinwirkung in violett oder blau

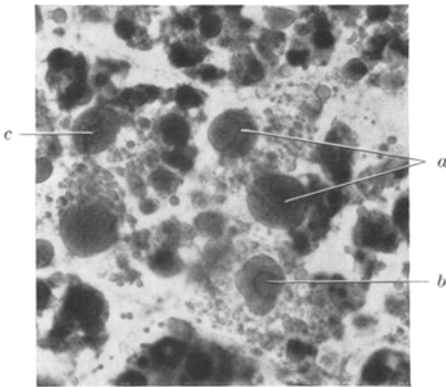


Abb. 2. Von Cytoplasma weitgehend befreite große Leberzellfettropfen mit unregelmäßiger Oberfläche. *a* Einkerbungen; *b* kugelige Vorsprünge; *c* kleine Tropfen, der Oberfläche eines größeren unmittelbar anliegend. Nilblausulfat—Pankreatin, Vergr. 400fach

um. Bei Betrachtung der Tropfenoberfläche sieht man, daß diese nicht glatt ist. Es finden sich Tropfen, die deutliche Einschnürungen oder Einkerbungen aufweisen. Wiederum andere Tropfen zeigen kugelige Vorsprünge, oder es liegen ihrer Oberfläche unmittelbar kleine Fetttropfchen an (Abb. 2). Es liegt nahe, anzunehmen, daß es sich bei diesen Oberflächenbefunden nach Lipaseeinwirkung um ähnliche gestaltliche Veränderungen handelt, die auch an großen Fetttropfen der Leberzellen bei spontanem Abbau ohne Lipaseeinwirkung nachweisbar sind (s.o.).

Diesem Problem sind wir nachgegangen und haben im *Tierexperiment* Werden und Vergehen einer großtropfigen Leberzellverfettung untersucht. Es ist bekannt, daß bei der akut hungernden Maus die Leber verfettet. Durch Entzug der Nahrung kann bei den Tieren eine Leberverfettung erzeugt werden (s.a. KETTLER). In den ersten Hungertagen treten kleine, anfänglich pericapillär gelagerte Fetttropfchen in den Leberzellen auf. Sie nehmen mengenmäßig am 3. und 5. Hungertag etwas ab, wie es auch SCHLICHT beschrieben hat. Am 8. bis 10. Hunger-

tag finden sich dann aber große Fetttropfen, die als solitäre Tropfen die ganze Leberzelle ausfüllen. Sie zeigen einen glatten Rand und eine gleichmäßige Oberfläche. Während die Fettdepots weitgehend entleert sind, ist die Leber der Tiere hochgradig verfettet. Entzieht man den Tieren 14 Tage lang die Nahrung, nicht aber das Wasser, und füttert

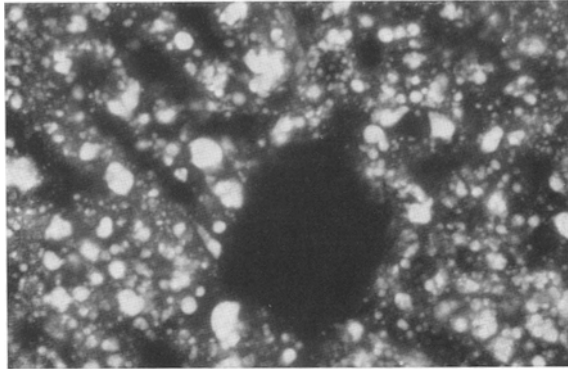


Abb. 3. In Rückbildung befindliche großtropfige Leberzellverfettung der Maus. Unregelmäßige Gestalt der großen Fetttropfen. Nilblausulfat — UV-Licht, Vergr. 400fach

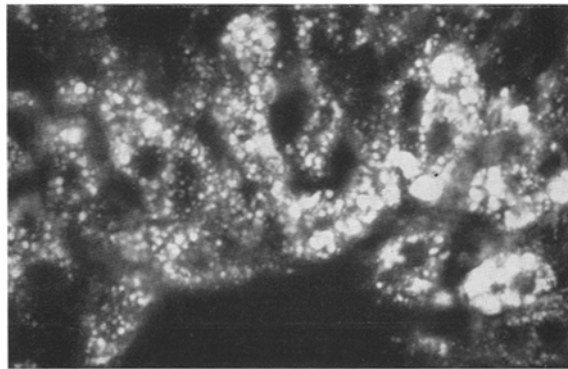


Abb. 4. Weitgehend rückgebildete großtropfige Leberzellverfettung der Maus. Neben vereinzelten großen Fetttropfen zahlreiche um die Kerne gelegene kleine Tropfen. Mitte unten: Zentralvene. Nilblausulfat — UV-Licht, Vergr. 600fach

sie anschließend wieder normal, so erkennt man bei fortlaufenden Untersuchungen, wie allmählich in den Leberschnitten histologisch die Zahl der großen Fetttropfen abnimmt. In diesem Stadium der Rückbildung der großtropfigen Leberzellverfettung lassen sich sowohl *gestaltliche Veränderungen* als auch *Farbumschläge* an den Fetttropfen nachweisen.

Bei Färbung mit Nilblausulfat sieht man in nur kurz gewässerten und differenzierten Frischgewebsschnitten Gruppen von Fetttropfen mit

violetten bis blauen Farbtönen. Oft sind sie von vereinzelten doppeltbrechenden Kristallen umlagert. Bei diesen Kristallen handelt es sich, nach dem Wärmeversuch zu urteilen, um Fettsäuren und Lipotide. Im UV-Licht (Abb. 3) erkennt man, daß die großen Tropfen durchweg unregelmäßig und höckerig gestaltet sind. An gut gewässerten und differenzierten Frischgewebsschnitten sind im Hellfeldbild an den Oberflächen der Fetttropfen Schleier und Brücken des Cytoplasmas dort nachweisbar, wo sich Einkerbungen oder Einschnürungen befinden; vorspringende und kugelige Teile der Tropfen sind frei von Cytoplasma, da sie durch den Schnitt gekappt wurden. Nach einigen Tagen normaler Fütterung sind schon viele Leberzellen histologisch frei von großen Tropfen. Die letzten schwinden nach etwa 8—10 Tagen. In den Leberzellen lassen sich dann aber viele kleine Fetttropfen in Nachbarschaft der Kerne nachweisen (Abb. 4).

Besprechung

Überblicken wir unsere Untersuchungsbefunde, dann stellen wir fest, daß bei dem Rückgang der experimentell erzeugten großtropfigen

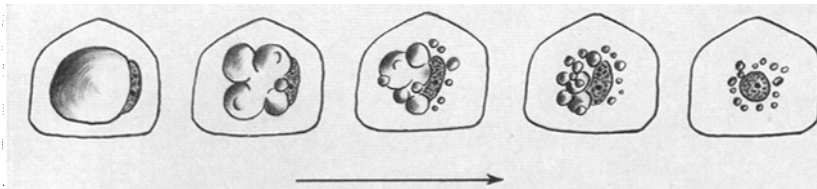


Abb. 5. Schematische Skizze über den gestaltlichen Aufbau eines solitären großen Fetttropfens in der Leberzelle

Leberzellverfettung der Maus bei Färbung mit Nilblausulfat an der Oberfläche der Fetttropfen ähnliche Veränderungen nachweisbar sind, wie an gleichartig gefärbten und nachträglich mit Pankreatin behandelten Gewebsschnitten der Menschenleber.

Es handelt sich hierbei um Oberflächenveränderungen, die uns den gestaltlichen Abbau der Fetttropfen anzeigen. Der Abbau ist 1. durch einen Farbumschlag der Tropfen von rosarot nach violett und blau gekennzeichnet und 2. durch Einkerbungen, Einschnürungen und kugelige Vorsprünge.

Das Tierexperiment zeigt, daß diese Oberflächenveränderungen im Verlaufe der Rückbildung einer großtropfigen Leberzellverfettung zu einer Aufsplitterung der großen Fetttropfen in viele kleine Tropfen führt. Eine solche Aufsplitterung großer Fetttropfen kann man als Emulgierung bezeichnen. In Abb. 5 sind die gestaltlichen Abbauvorgänge an einem großen Fetttropfen einer Leberzelle auf Grund unserer

Untersuchungen schematisch dargestellt. Der Abbau der glatten runden Tropfen wird durch unregelmäßige Einkerbungen und Einschnürungen mit kugeligem Vorsprüngen an ihrer Oberfläche eingeleitet. Im weiteren Verlauf des Abbaues lösen sich die vorspringenden Teile ab, bis schließlich am Ende des Abbauprozesses aus einem großen solitären Fetttropfen mehrere kleine entstanden sind, die rund um den Kern der Leberzelle liegen.

Das Gesamtvolumen der kleinen Tropfen ist aber weit geringer als das Volumen des ursprünglichen Tropfens. Hieraus kann man schließen, daß schon während der Emulgierung ein Teil der Fettsubstanzen in wasserlösliche Transportformen umgewandelt wurde, die entweder nach außen abdiffundieren oder in der Zelle verbrannt werden. Die gleichzeitig nachweisbare Violett- oder Blaufärbung zeigt eine temporäre Anhäufung umgewandelter wasserlöslicher Fettstoffe während der Abbauvorgänge an der Oberfläche der Tropfen an. Eine Klassifizierung der löslichen Fettstoffe z.B. in gelöste Fettsäuren und Phosphatide ist mit unserer Methode nicht möglich. Kristallisierte Fettsäuren bleiben ungefärbt. Eine chromotrope lipoidige Körnelung der Leberzellen, wie sie FEYRTER beschrieben hat, konnten wir bei unseren tierexperimentellen Untersuchungen im Verlauf der Rückbildung einer großtropfigen Leberzellverfettung nicht nachweisen. DANIELLI berichtet über den Nachweis von Aldehyden an der Oberfläche von Fetttropfen, die abgebaut werden.

Die Zeit, in der ein großer Fetttropfen in der Mäuseleber emulgiert und abgebaut wird, entspricht etwa der Zeit seiner Entstehung in 8—10 Hungertagen. Betrachtet man bei Kenntnis dieser Befunde entsprechende mit Sudan gefärbte Lebergewebsschnitte, dann erkennt man auch in solchen Präparaten bei stärkerer Abblendung an den großen Fetttropfen hier und dort die beschriebenen Oberflächenveränderungen. Ebenso lassen sich in analogen Paraffinschnitten an und in Fettvacuolen der Leberzellen oft Cytoplasmaschleier und -brücken nachweisen.

Zusammenfassung

Bei der Rückbildung einer experimentell erzeugten großtropfigen Leberzellverfettung (Maus) lassen sich histologisch mit Nilblausulfatfärbung an der Oberfläche großer Fetttropfen Veränderungen nachweisen, die auch an Gewebsschnitten der Menschenleber bei gleicher Färbung und nachträglicher Pankreatin-Behandlung zu finden sind. Die Oberflächenveränderungen zeigen einen gestaltlichen Abbau der großen Fetttropfen an. Der spontane gestaltliche Abbau ist bei Nilblausulfatfärbung 1. durch einen Farbumschlag der rosarot gefärbten Fetttropfen nach violett oder blau gekennzeichnet, 2. durch Emulgierungsvorgänge, die mit Einkerbungen, Einschnürungen sowie Ausbil-

dung von kugeligen Vorsprüngen an der Oberfläche der Tropfen einhergehen. Während der Emulgierung nimmt gleichzeitig das gesamte Volumen der Fetttropfen in der Zelle ab, weil laufend wasserlösliche Fettstoffe, deren Anwesenheit durch den violetten Farbumschlag angezeigt wird, von der Oberfläche der Tropfen abdiffundieren.

Summary

During the regression of an experimentally induced fatty degeneration of mouse liver cells, changes on the surface of the large fat droplets can be demonstrated by staining with Nile Blue sulfate. These changes can also be found in human livers stained in the same way and subsequently treated with Pancreatin. They indicate a decomposition of the large fat droplets characterized 1. by a change of the color from pink to violet or blue, and 2. by emulsification processes viz. notchings, narrowings, and the formation of ball-like projections on the surface of the droplets. As the obviously water-soluble fatty substances constantly diffuse from the surface of the droplets, the volume of the droplets are reduced.

Literatur

ALTMANN, H. W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, S. 561. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — DANIELLI, J. F.: Aldehydes in relation to absorption of fat from the intestine and metabolism of fat in the liver. Quart. J. micr. Sci. **90**, 308 (1949). — FEYRTER, F.: Über die chromotrope Körnelung der Leberzellen. Virchows Arch. path. Anat. **328**, 364 (1956). — JAFFÉ, E. R., R. W. WISSELER and E. P. BENDITT: The importance of methionine and choline in the arrest of dietary cirrhosis of the liver in the rat. Amer. J. Path. **26**, 951 (1950). — KETTLER, L. H.: Parenchymschädigungen der Leber. Ergebn. allg. Path. path. Anat. **37**, 115 (1954). — PRINZ, F.: Biopsische Untersuchungen zur Leberverfettung bei Tuberkulose. Zbl. allg. Path. path. Anat. **94**, 577 (1956). — Über den Nachweis von Fettstoffen im Gewebe mit Nilblausulfat. Virchows Arch. path. Anat. **331**, 558 (1958). — PRINZ, F., H. E. BOCK, H. G. SCHOLTZE u. A. A. MÜLLER: Zur histologisch nachweisbaren Leberverfettung bei Tuberkulose. Dtsch. med. Wschr. **1958**, 914. — SCHLICHT, I.: Experimentelle Untersuchungen über den Ablauf der Leberverfettung bei Hunger und Sauerstoffmangel. Virchows Arch. path. Anat. **326**, 568 (1955). — SCHÜMMELFEDER, N.: Die sogenannte parenchymatöse Degeneration. Dtsch. med. Wschr. **1949**, 1285. — TERBRÜGGEN, A.: Das Problem der sogenannten degenerativen Prozesse in der pathologischen Histologie. Verh. dtsch. path. Ges. **1949**, 37.

Privatdozent Dr. F. PRINZ,

Pathologisches Institut der Universität Marburg/Lahn, Robert-Koch-Str. 5