

Histologie der Leber

Hintergrundinformationen zu den Präparationsabenden der MGW im März 2013
von Dr. Thomas Kann

Einleitung:

Es wurden im Rahmen der histologischen Präparationsabende folgende Dauerpräparate angefertigt:

- Präp.1: Rattenleber
- Präp.2: Schweineleber

Die Fixierung der Gewebe erfolgte in Formalin bzw. Bouin Gemisch, die Einbettung in Paraplast; geschnitten wurde am Reichert Rotationsmikrotom mit Schnittdicke 12µm.

Gefärbt wurde mit Giemsa Färbung nach folgendem Rezept:

- 1) Xylol zum „Entparaffinieren“
- 2) Absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.
- 3) Verdünnte Giemsa Lösung (1:1 mit Aqua dest.) für ca. 10 Minuten
- 4) Kurz spülen mit Aqua dest.
- 5) Differenzieren in 70 % Alk. und 96% Alk.
- 6) Terpeneol
- 7) Eindecken in Malinol

Historische Meilensteine zur Forschungsgeschichte:

- ▶ 1664 beschreibt Johannes Jacobus Wepfer in „De dubiis anatomicis epist. Ad J.H. Paulum“ erstmals den Läppchenbau der Schweineleber.
- ▶ 1665 erläutert Francis Glisson, ab 1636 Professor in Cambridge, in seinem Werk „Anatomia hepatis“ den parallelen Verlauf von Blutgefäßen und Gallengängen. Ihm zu Ehren findet sich noch heute der Begriff „Glisson`sche Trias“, (Abb.1)
- ▶ 1666: beschreibt M. Malpighi in „Exercitatio anatomica de viscerum structura“ im Kapitel: „De hepate“ bei verschiedenen Tierarten die Läppchenstruktur der Leber.
- ▶ E. Purkinje entdeckt 1838 in der Leber kernhaltige Zellen
- ▶ 1843 betont J. Müller die konstant radiäre Anordnung der Leberzellbalken auf die Zentralvene zu.
- ▶ 1854 fasst Koelliker in seiner „Mikroskopischen Anatomie oder Allgemeinen Gewebelehre“ die bisherigen Erkenntnisse über die Leber zusammen (Abb. 2)
- ▶ 1867 gelingt es Karl Ewald Hering in „Ueber den Bau der Wirbelthierleber. Arch Mikrosk Anat 1867“ die Gallenkanaliculi mittels Injektionstechnik darzustellen. Die Verbindungsstücke zwischen Canaliculi und periportalen Gallengängen werden ihm zu Ehren noch heute „Hering Kanälchen“ genannt (s. Abb.3).
- ▶ 1876 beschreibt Carl Wilhelm Ritter von Kupffer (1829 – 1902) in „Über Sternzellen der Leber, Arch Mikroskop Anat 12 (1876) 353–358“ mittels Goldchloridimprägnierung die später Ito Zellen genannten fettspeichernden Zellen. Kupffer hielt seine neu entdeckten Sternzellen für phagozytierende Sinusendothelzellen (Ueber die sogenannten Sternzellen der Säugethierleber Archiv für Mikroskopische Anatomie 1899, 54, 254–288) – eine Annahme die sich später als falsch herausstellte; trotzdem werden die Lebermakrophagen bis heute auch als Kupffer-Zellen bezeichnet.

► 1898 beschreibt der Krakauer Anatomieprofessor Tadeusz Browicz (1847-1928) die Sinusmakrophagen korrekt als phagozytierende Zellen (*Ueber intravasculäre Zellen in den Blutcapillaren der Leberacini*. Separatdruck aus dem Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau 1899. S. 6–8.). Kupffer Zellen werden daher auch als Browicz-Kupffer Zellen bezeichnet (Abb.4).

► 1890 beschreibt der deutsche Anatom Josef Disse in „Über die Lymphbahnen der Säugetierleber. *Archiv für Mikroskopische Anatomie* 36“ den perisinusoidalen Spalt zwischen Endothel und Hepatozyten.

► 1952 gelingt es T. Ito und M. Nemoto in „Über die Kupfferschen Sternzellen und die "Fettspeicherungszellen" ("fat-storing cells") in der Blutkapillarenwand der menschlichen Leber. *Okajimas Folia Anat Jpn* 24:243-258“ die fettspeichernden Ito Zellen von den Sinusoidmakrophagen abzugrenzen.

► 1972 beschreibt E. Wisse in „An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and Kupffer cells. *J Ultrastruct Res* 38: 528–562, 1972.“ erstmals elektronenmikroskopisch den Bau der sinusoidalen Endothelzellen.

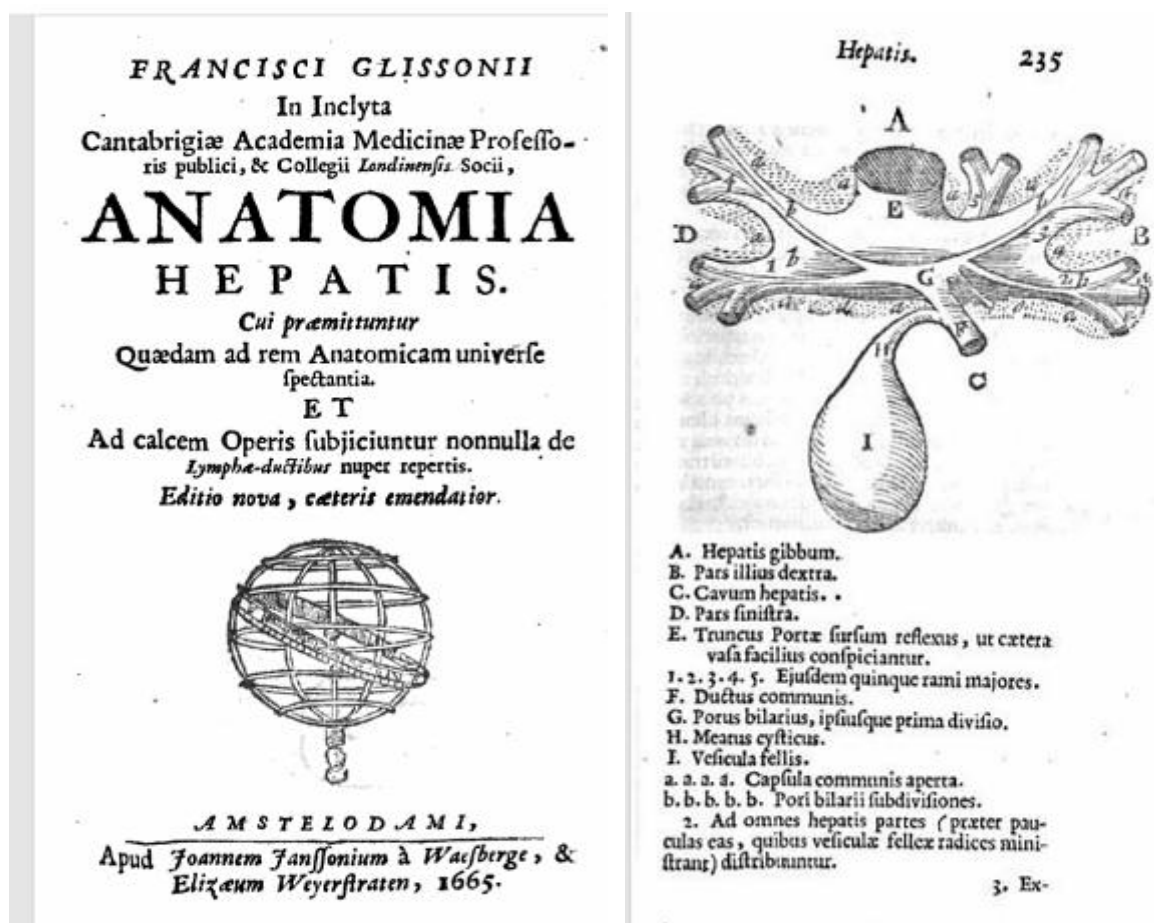


Abb.1: Anatomia hepatis von Francis Glisson, 1665

Fig. 248.

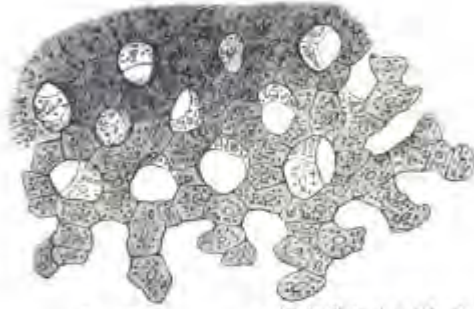
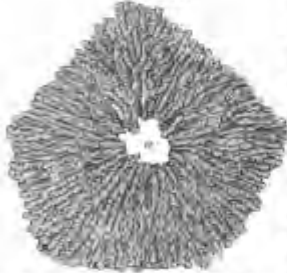


Fig. 249.



zeigt das Netz eines jeden Leberinselchens oder Läppchens, wie *J. Müller* (*Archiv* 1843) mit Recht hervorhebt, constant eine radiäre Anordnung, in der Art, dass auf Querschnitten, die durch die Centralvene gehen, von derselben aus langgestreckte und verästelte Balken von Leberzellen mit kurzen Seitenanastomosen einer dicht am andern nach allen Seiten sich ausbreiten, so dass die Maschen zwischen denselben als längere enge Spalten erscheinen, die von allen Punkten her gegen den Stamm der Centralvene convergiren. Ähnliche längere Züge von Leberzellen sieht man auf Schnitten, die die Inselchen der Länge nach durchschneiden, nur sind dieselben nicht gerade sternförmig angeordnet, sondern gehen von den

Fig. 248. Ein Theilchen des Leberzellennetzes des Menschen aus den äusseren Theilen eines Leberinselchens mit grösseren Gefässräumen, 450 mal vergr.

Fig. 249. Querschnitt eines Leberläppchens des Schweines, 30 mal vergr. a. Stelle, wo die Vene intralobulär sich befindet, mit nicht ganz natürlicher Begrenzung.

Abb.2: Koelliker 1854: *Mikroskopische Anatomie oder Gewebelehre des Menschen*

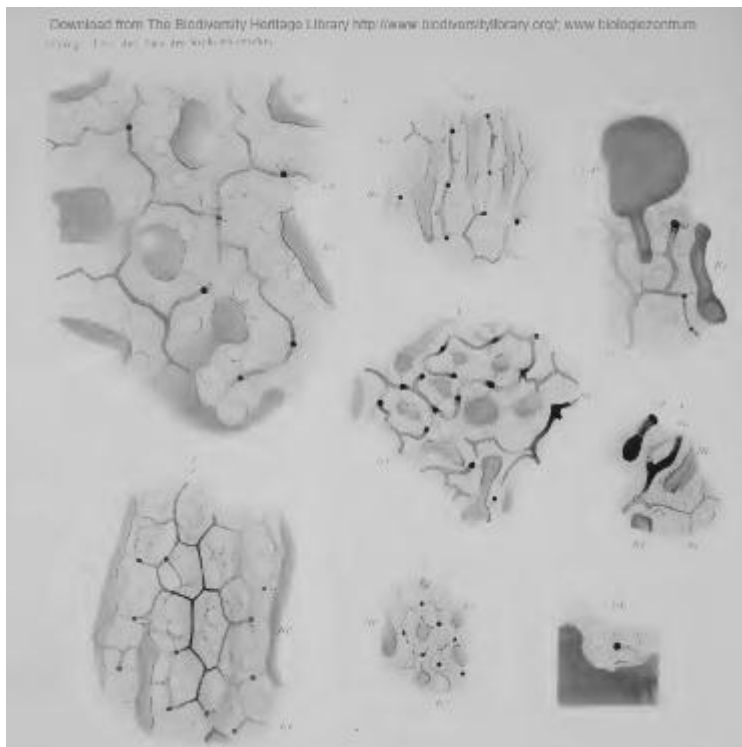


Abb.3: Hering E. Ueber den Bau der Wirbelthierleber. *Arch Mikrosk Anat* 1867; 3:88–114

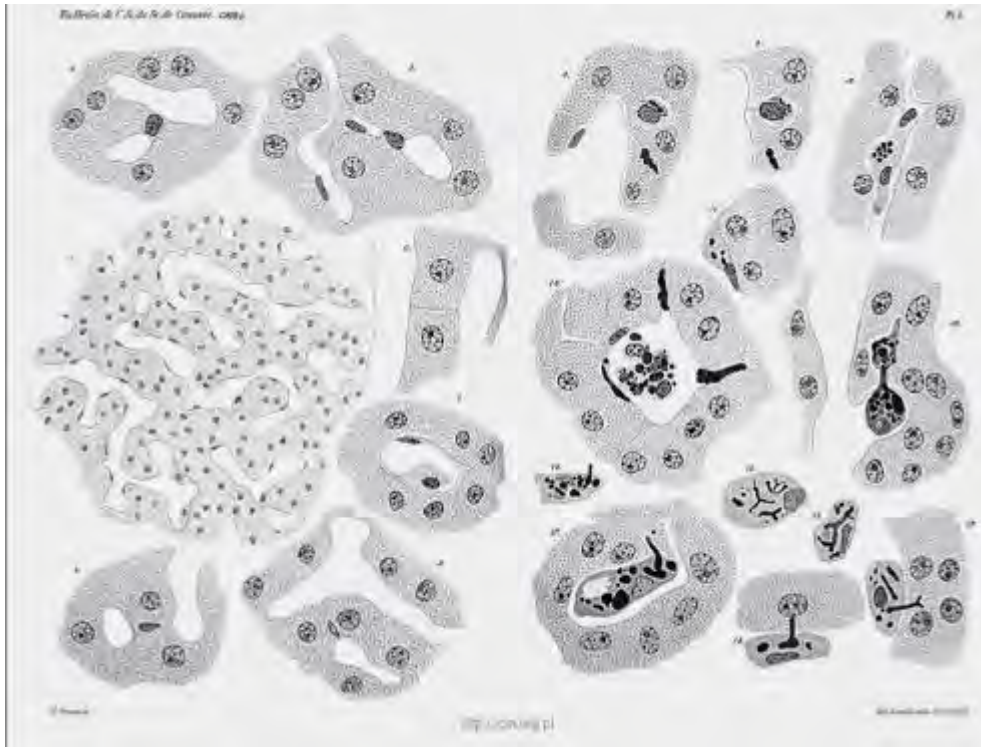


Abb.4: Browicz T: Bau der intraacinosen Blutcapillaren und ihr Verhältnis zu den Leberzellen. Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau 1900.

Histologie der Leber:

Grobe Architektur:

Die Leber besteht aus ca. 1-1,5 Millionen Leberläppchen (Lobuli), die ca. 0,7-2mm groß sind. Bei Ratte und Mensch sind die Läppchen nur durch spärliches Bindegewebe voneinander getrennt und daher nur andeutungsweise erkennbar (Abb. 5). Beim Schwein sind diese Bindegewebsgrenzen jedoch deutlich ausgebildet (Abb.6). Im Querschnitt zeigen Leberläppchen oft ein hexagonales Muster.

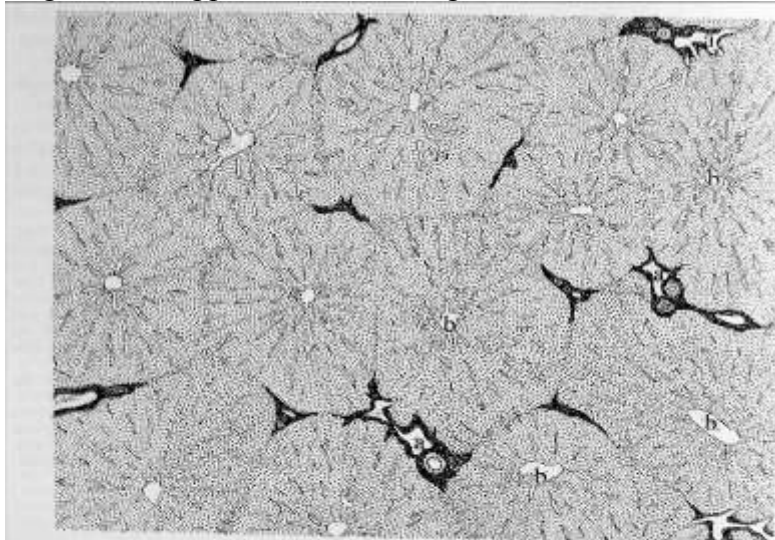


Abb. 409. Wenig deutliche Läppchenzeichnung in der menschlichen Leber. Azan-Färbung. Vergr. 40mal. (Kr.)
 a Vena interlobularis in Capsula fibrosa perivascularis (vgl. Abb. 412) b Vena centralis

Abb.5: Aus: O. Bucher, H. Wartenberg: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen Verlag Hans Huber; 11 Auflage; 1992

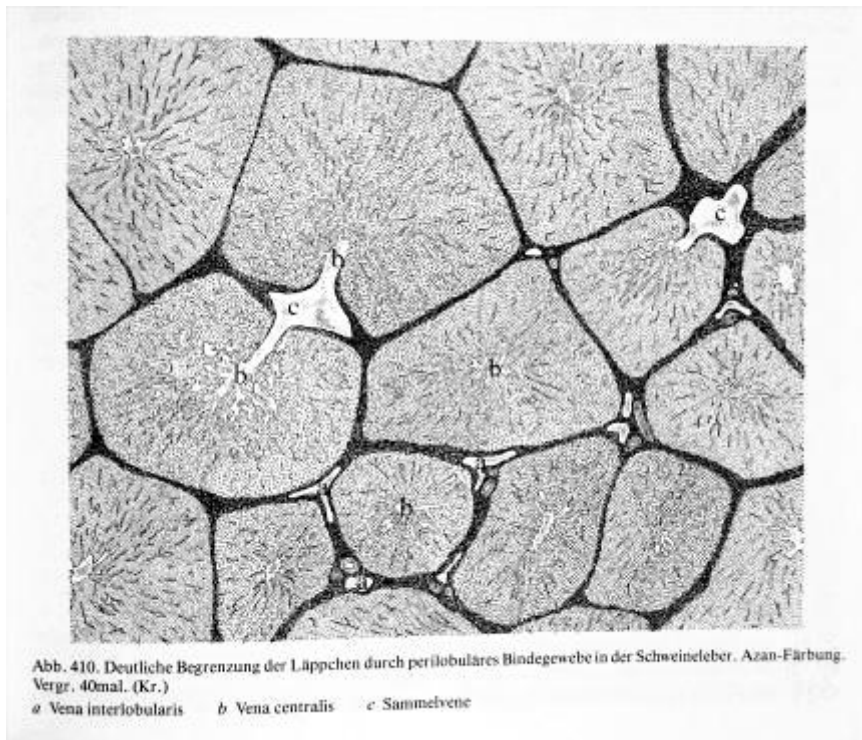


Abb.6: Aus: O. Bucher, H. Wartenberg: *Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* Verlag Hans Huber; 11 Auflage; 1992

Feinarchitektur der Leber (Abb.7-11):

Jedes Leberläppchen besteht aus :

- ▶ Leberzellen (Parenchym);
- ▶ Blutgefäßen: Gefäße der Periportalfelder, Sinusoide; Zentralvenen
- ▶ Bindegewebe
- ▶ Gallenkanälchen.
- ▶ weiteren nichtparenchymatösen Zellen wie Kupffer-Zellen, Ito Zellen

Die **Leberzellen** (Hepatozyten) bilden 90% der Organmasse und sind in radiär ausgerichteten Balken oder Platten angeordnet. Sie flankieren die Lebersinusoide, die als weitlumige Kapillaren in die Zentralvene münden. Leberzellplatten bestehen aus 1-2 Leberzellreihen.

Hepatozyten besitzen 1-2 helle Zellkerne mit unterschiedlicher Größe mit 1-2 Nukleoli. Ca. 25% der Leberzellen besitzen 2 Zellkerne. Die Größe der Zellkerne ist abhängig von der Polyploidie (Vervielfachung des Chromosomensatzes durch Unterlassung der mitotischen Kernteilung nach der DNA Synthesephase mit Verdopplung der DNA). Diploide Zellkerne sind ca. 10 µm groß; tetraploide Zellkerne ca. 15 µm groß, oktaploide Kerne ca. 25 µm. Ca. 70% aller Zellkerne sind tetraploid; 5-6% oktaploid. Die Polyploidie der Leberzellkerne nimmt beim Menschen im Laufe des Lebens zu. Polyploidie findet sich außer in der Leber noch in den Herzmuskelzellen, in der Samenblase und im Hypophysenvorderlappen.

Die Lebensdauer der ca. 25 µm messenden Leberzellen beträgt ca. 150-300 Tage. An den polygonalen Leberzellen unterscheidet man einen Gallepol und einen Blutpol. Am Gallepol (ca. 15% der Zellmembran) findet die Sekretion der Galle in die Gallenkanälchen statt. Am Blutpol findet der rege Stoffwechselfaustausch mit dem Blut der Sinusoide statt.

Blutgefäße: Im Grenzbereich dreier Leberläppchen finden sich die bindegewebsreichen Periportalfelder, die die sogenannte „Glisson`sche Trias“, bestehend aus Endästen der Leberarterie und Pfortader (A. interlobularis und V. interlobularis) sowie Gallengänge

enthalten. Zusätzlich findet sich in den Periportalfeldern noch Lymphgefäße und vegetative Nerven. Sauerstoffreiches Blut der A. interlobularis und sauerstoffarmes Blut der V. interlobularis vermischen sich in den Sinusoiden und strömen zu der in der Läppchenmitte befindlichen Zentralvene. Von den Zentralvene fließt das Blut über die Vv. Sublobulares in die Lebervenen und schließlich in die untere Hohlvene (V. cava inferior). Das „fenestrierte“ Endothel der Sinusoide gestattet durch weite Poren zwischen den flachen Endothelzellen und durch das Fehlen einer Basallamina den Stoffaustausch mit den Hepatozyten. Lebersinusoiden sind beim Menschen ca. 350-500 µm lang und ca. 4-15 µm breit.

Gallenwege: Innerhalb des Läppchens sind die feinen, ca. 0,5-1 µm messenden Gallenkanälchen (canaliculi biliferi) nur im Semidünnschnitt oder in Injektionspräparaten zu sehen. Gallenkanälchen sind feine Interzellularlücken und besitzen kein eigenes Epithel. Sie leiten die Galle über die in der Läppchenperipherie gelegenen Hering Kanäle (mit eigenem, flachen Epithel) in die mit kubischem Epithel ausgekleideten kleinen Gallengängen der Periportalfelder. Der Gallefluss läuft also entgegen der Blutflussrichtung vom Läppchenzentrum in die Peripherie.

Bindegewebe begegnet uns in der Leber an verschiedenen Stellen:

- umhüllende Kapsel (Glisson Kapsel) mit derbem Bindegewebe
- periportales Bindegewebe
- retikuläres Bindegewebe im perisinusoidalen Raum (Disse-Raum)
- Bindegewebe als Läppchenbegrenzung

Nichtparenchymatösen Zellen:

Kupffer Sternzellen, Ito Zellen. Pit Zellen; Mastzellen

Kupffer Zellen liegen als Makrophagen im Lumen der Lebersinusoiden und sind zur Phagozytose befähigt. Ito-Zellen sind fettspeichernde Zellen, die im perisinusoidalen Raum (0,5-2 µm breiter Spalt zwischen Endothelzellen und Leberzellen) gelegen sind. Im einfachen Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparat sind Ito Zellen von Kupffer Zellen kaum zu unterscheiden. Mastzellen lassen sich durch metachromatische Farbstoffe wie Kresylechtviolett oder Giemsa Färbung gut darstellen.

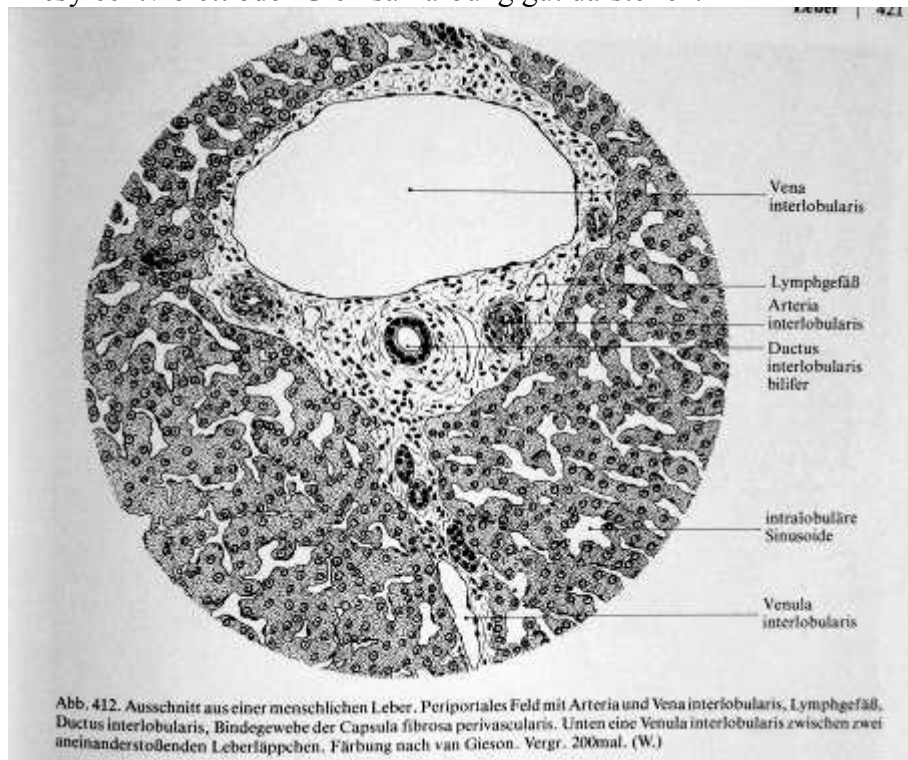


Abb.7: O. Bucher, H. Wartenberg: *Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* Verlag Hans Huber; 11 Auflage; 1992

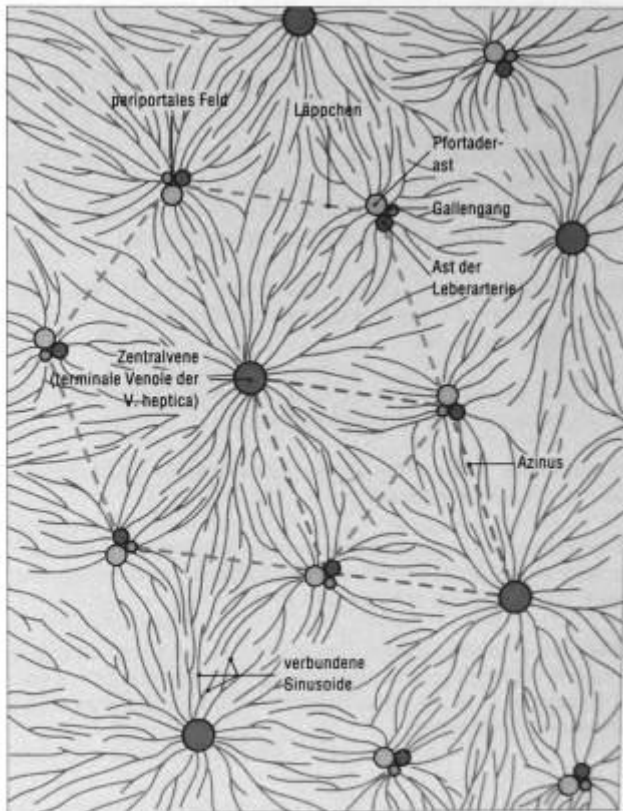


Abb. 11-7. Bauprinzipien von Leberläppchen und Azini. Der Feinbau der Leber wird durch die Richtung der Sinusoide, die Zentralvenen und die Trias in den periportal Feldern bestimmt. Das klassische Läppchen ist orange umrissen, der moderner konzipierte Azinus grün

Abb.8: Aus: A. Stevens, J. Lowe: *Histologie*; übersetzt von K. Tiedemann; VCH Verlag 1992

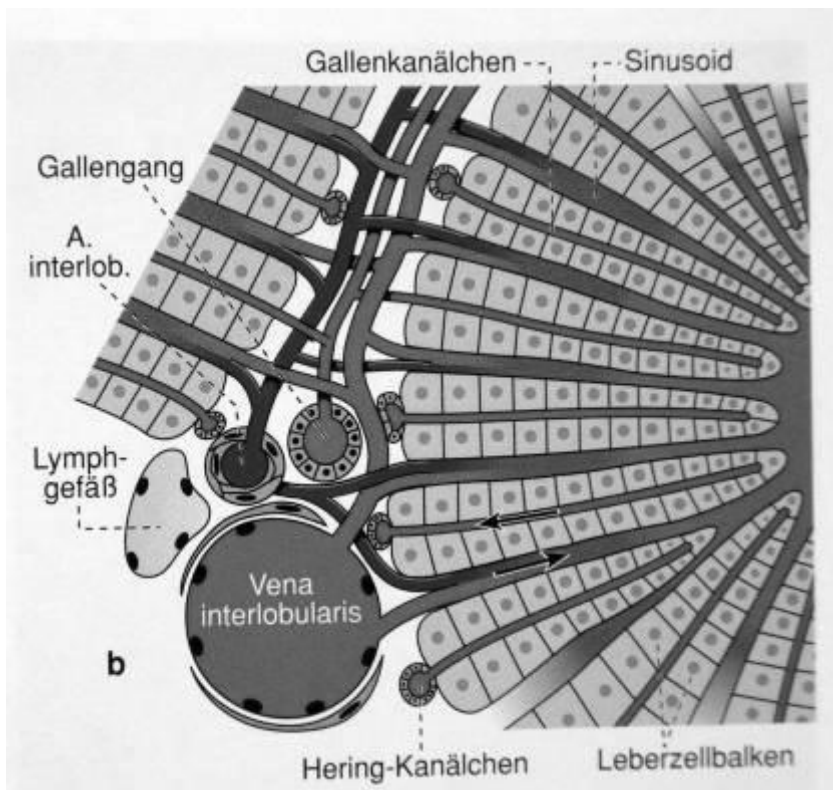


Abb.9: Sobotta-Welsch: *Lehrbuch der Histologie*; 2. Auflage; Urban & Fischer; 2006

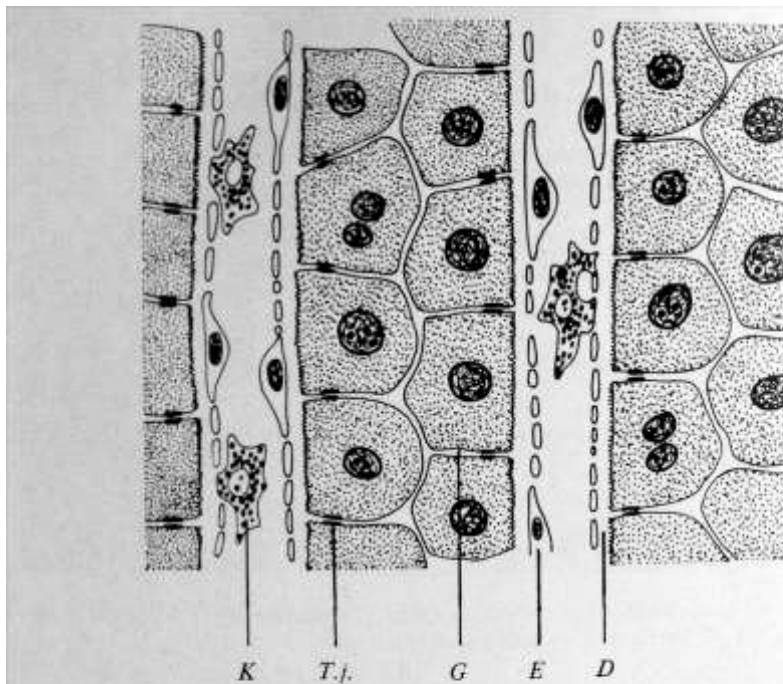


Abb. 13.44: Schema der Beziehungen von Sinus, Leberzellen und Gallenkapillaren. Leberzellbalken längs getroffen. D = Disse'scher Raum. E = Endothel des Sinus. G = Gallenkapillare. K = Kupffer'sche Sternzelle. T. j. = Tight junction

Abb. 10: Aus: *Histologie: Schwarzacher, Schnedl; Pavelka; Facultas; 5. Auflage; 1995; S. 332*

Einblick in die Histophysiologie der Leber:

Leberzellen (Hepatozyten) – Stoffwechselfunktionen:

Die beachtlichen Leistungen der Hepatozyten lassen sich in unterschiedliche Kategorien einteilen: Synthese – Entgiftung – Speicherung – Aktivierung von Hormonen – Gallenproduktion

Ad Synthese: Zu den lebenswichtigen Syntheseleistungen der Leber zählen die Bildung von Gerinnungsfaktoren und vom mengenmäßig wichtigsten Plasmaprotein Albumin, weiters die Triglyceridsynthese aus Fettsäuren, die Gluconeogenese aus Aminosäuren, Lactat und Glycerol, sowie die Ketonkörperproduktion als Notbrennstoff (Glucoseersatz) und die Bildung von Akut Phase Proteinen (CRP) bei Entzündungsreaktionen. Weiters bildet die Leber bei Zuckerüberschuss unter der Wirkung des Hormons Insulin die Kohlenhydratspeicherform Glykogen. Bei Hungerzuständen und somit drohenden Blutzuckerabfall wird unter Einfluss des Hormons Glukagon Glykogen wieder zu Zucker freigesetzt. Eine weitere Syntheseleistung der Leber ist die Bildung von Cholesterin.

Ad Entgiftung / Abbau: Neben den Nieren ist die Leber das wichtigste Entgiftungsorgan: Bilirubin aus dem Hämoglobinabbau wird über die Galle ausgeschieden; Neben dem Abbau von Ethanol und Medikamenten findet auch ein Abbau von Steroidhormonen und Aminosäuren statt.

Meist handelt es sich über eine enzymatische Oxidation und Konjugation mit Glukuronyl-, Methyl-, Acetyl- oder Sulfatgruppen. Die Entgiftung von Ammoniak über die Harnstoffsynthese ist ein weiterer lebensnotwendiger Vorgang, da es ansonsten zur hepatischen Encephalopathie mit Leberkoma kommen kann.

Ad Speicherung: Neben der Speicherung von Glykogen als Energievorrat können Leberzellen auch Vitamine, wie Vitamin B12 und fettlösliche Vitamine (A; D; E; K)

speichern. Die Bedeutung der Leber für einen konstanten Blutzuckerspiegel lässt sich aus der Tatsache erahnen dass bei entleerten Glykogenspeichern lebensbedrohliche Unterzuckerungen drohen können (z.B. hypoglykämisches Koma nach Sport). Zusätzlich können Leberzellen Triglyceride speichern – was im Extremfall zur Fettleber führen kann (Steatosis hepatis). Auch die Spurenelemente Eisen, Kupfer und Zink werden gespeichert. **Ad Aktivierung (Biotransformation)** von Hormonen: Hydroxylierung zu Vit D3 und Dejodiniierung von T4 zu T3

Ad Gallenproduktion: 80% der Gallenflüssigkeit wird von den Leberzellen produziert, 20% vom Gallengangsepithel. Beim Menschen werden ca. 700ml Galle pro Tag produziert. Von den Leberzellen werden gallensaure Salze für die Emulgierung bei der Fettverdauung, Bikarbonat für die Pufferung, Cholesterin, Lecithin und Bilirubin (aus dem Abbau von Blutfarbstoff) abgegeben.

Aufbau des Gefäßsystem: Bei der Blutversorgung der Leber sind 2 unterschiedliche Gefäßsysteme zu unterscheiden: Aus der Aorta (Hauptschlagader) erhält die Leber über die A. hepatica sauerstoffreiches Blut. Aus der Pfortader fließt der Leber venöses Blut mit dem resorbierten Stoffen aus dem Darm zu. Erst in den Sinusoiden vermischen sich die beiden Blutströme um schließlich verstoffwechselt zu werden und über die Zentralvenen der Leberläppchen in die Lebervenen und anschließend in die untere Hohlvene abzufließen.

Konzept des Leberläppchen – Leberazinus: Während das klassische, anatomisch-sechseckige Leberläppchen die Blutabflusseinheit zur Zentralvene darstellt, ist der funktionell (nicht anatomisch sichtbare) rautenförmige Leberazinus die sauerstoffreiche Blutzufloseinheit. Der Sauerstoffpartialdruck ist in der Mitte der Raute hoch und nimmt zu den Spitzen der Raute hin kontinuierlich ab: In der Literatur werden drei Sauerstoffpartialdruckzonen unterschieden, in denen unterschiedliche Stoffwechselfvorgänge stattfinden. In Zone 1 nahe der Leberarteriole des periportalen Feldes, findet Synthese von Harnstoff, Cholesterin, Glukose oxidativer Energiemetabolismus und Abbau von Aminosäuren und Glykogenabbau statt. In der sauerstoffarmen Zone 3, nahe der Zentralvene überwiegen Entgiftungsvorgänge und die Synthese von Glutamin, Gallensalzen, Lipiden, Glykogen, evt. Ketonkörpern sowie die Glykolyse.

Funktionen der nichtparenchymatösen Zellen: Kupffer Zellen, Ito Zellen, Pit Zellen; sinusoidale Endothelzellen, Mastzellen:

Kupffer Zellen sind zur Phagozytose befähigte Makrophagen. Sie liegen in den Lebersinusoiden und interagieren mit Viren, Bakterien (v.a. E. coli aus dem Pfortaderblut), Zelltrümmer und Schadstoffen. Sie können eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren wie IL-6, IL-10, TNF- α , INF- α und β , PAF, TGF- α und β sezernieren. Zytokone wie IL6 bewirken in den Hepatozyten die Bildung von Akut Phase Proteine wie CRP. Man schätzt dass nur weniger als 1% der in die Leber eingeschwemmten Darmbakterien das Filtersystem der Kupffer Zellen unbeschadet passieren.

Ito Zellen liegen im perisinusoidalen Disse Raum und können Lipide und Vitamin A speichern. Zusätzlich besitzen sie wichtige immunologische Funktionen wie Antigenpräsentation. Sie können sich unter pathologischen Bedingungen in Myofibroblasten umwandeln und so zur vermehrten Kollagenbildung beitragen, die schließlich zur Leberzirrhose führen kann.

Pit Zellen sind große, granulierte Lymphozyten mit natürlicher Killeraktivität. Sie liegen intrasinusoidal und können gegen Viren und Tumorzellen zytotoxisch wirken.

Mastzellen finden sich v.a. im periportalen Bindegewebe aber auch im Bindegewebe zwischen den Leberläppchen und selten innerhalb der Läppchen. Sie können im Rahmen der pathologischen, chronischen Fibrose und Zirrhose Fibroblasten und Ito Zellen stimulieren. Über die genaue physiologische Bedeutung von Mastzellen ist wenig bekannt.

Sinusoidale Endothelzellen sind Endothelzellen mit besonderen, einzigartigen Eigenschaften. Sie besitzen Poren ohne Basalmembran und stellen so quasi eine

Siebfunktion für den perisinusoidalen Spaltraum (Disse Raum) dar. Zusätzlich sind sie zur Endocytose befähigt und können sogar Antigene präsentieren. Im Rahmen der Entzündungsreaktion spielen sie mittels Sekretion von Prostaglandinen, Leukotrienen und Zytokinen zusammen mit Kupffer Zellen und Ito Zellen eine wichtige Rolle.

Zellerneuerung: In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Zellerneuerung: 150-300 Tage beträgt die Lebensdauer der Hepatozyten.

Blutspeicherung / Blutproduktion: Die Leber fungiert auch als Blutspeicher für ca. 15% des Blutvolumens. Die Lebersinusoiden haben hier die Funktion eines Schwammes. Beim Fetus bildet die Leber neben der Milz auch eine wichtige Rolle in der Blutbildung.

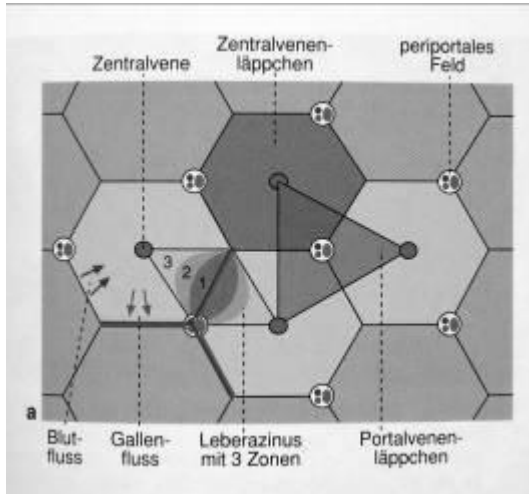


Abb.11: Aus: Sobotta-Welsch: Lehrbuch der Histologie; 2. Auflage; Urban & Fischer; 2006

Farbphotographien:

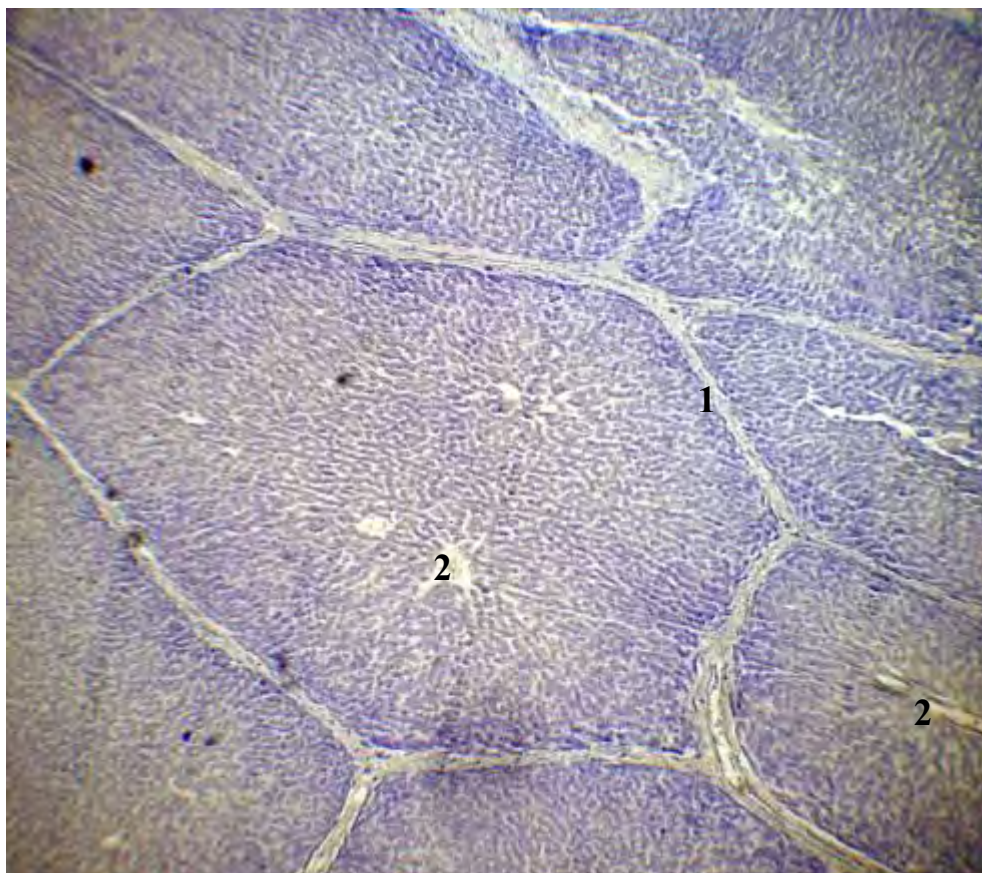


Abb.12: Schweineleber; 40x; Kresylechtviolett: 1= interlobuläres Bindegewebe; 2= Zentralvene

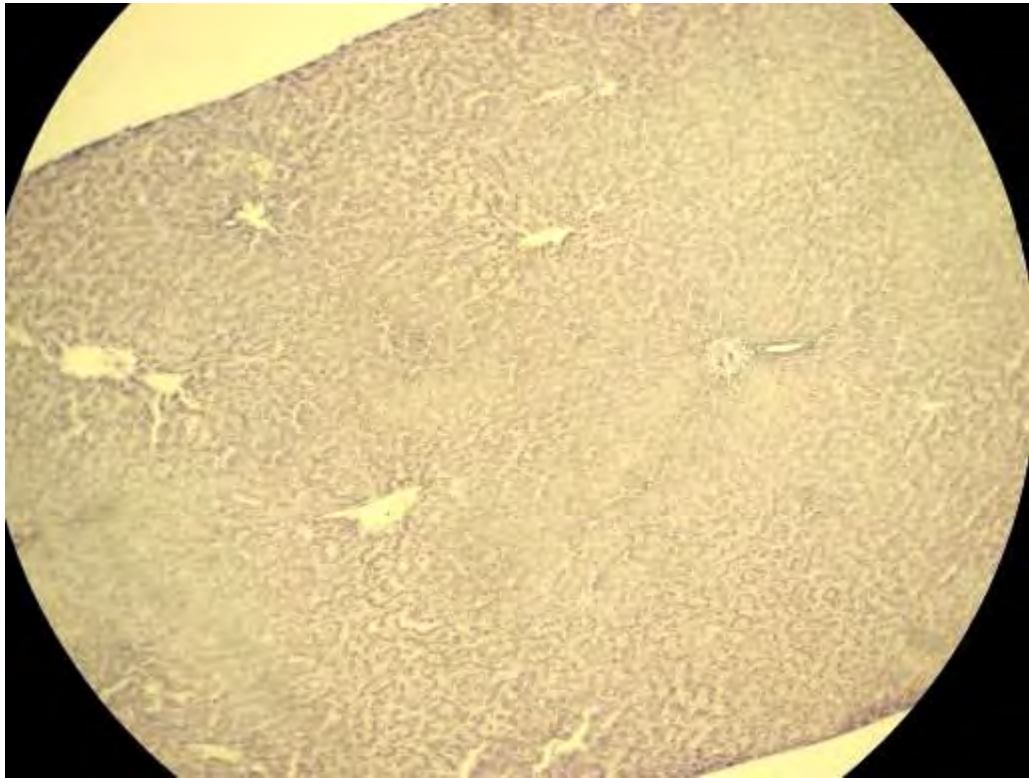


Abb.13: Rattenleber, Kresylechtviolett, 40x

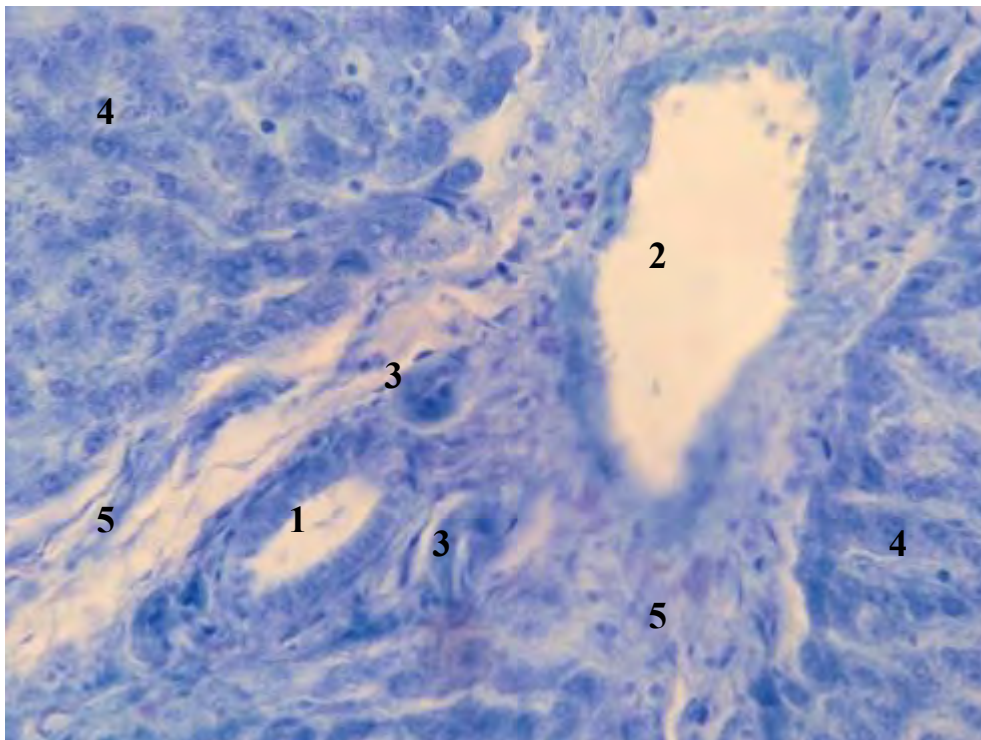


Abb.14: Schweineleber: Periportalfeld mit Glisson`scher Trias, Giemsa, 400x. 1= Gallengang; 2 = Ast der Pfortader (*V. interlobularis*); 3 = Äste der *A. hepatica* (*A. interlobularis*); 4= Leberzellbalken; 5= interlobuläres Bindegewebe

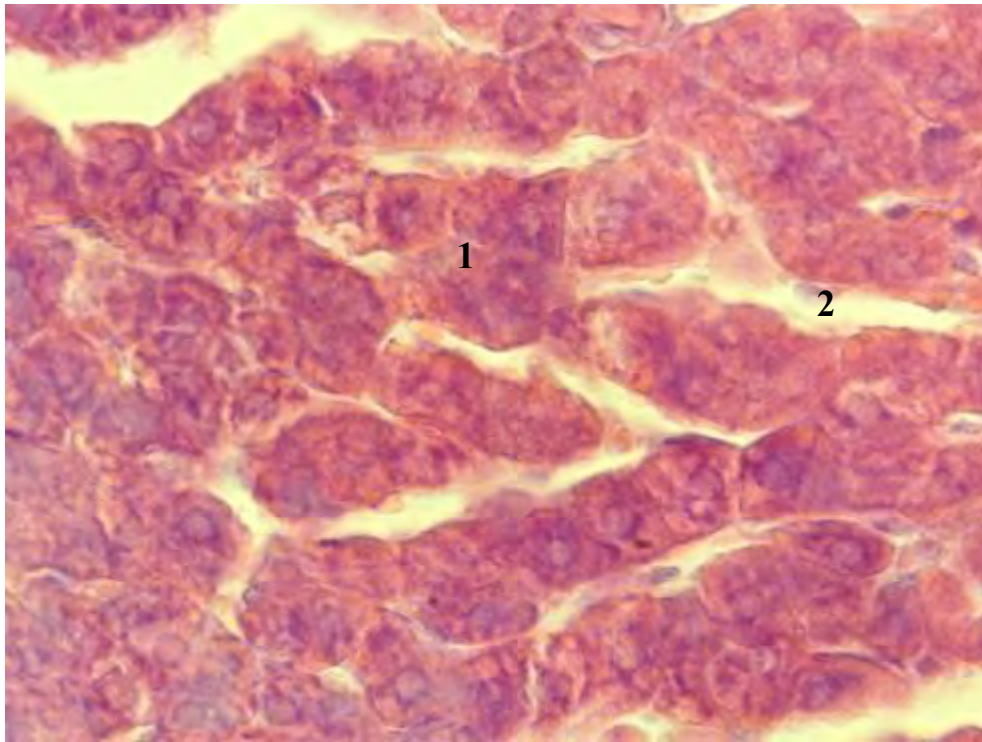


Abb.15: Schweineleber, Azan, 400x: 1= Leberzellbalken; 2= Lebersinusoid

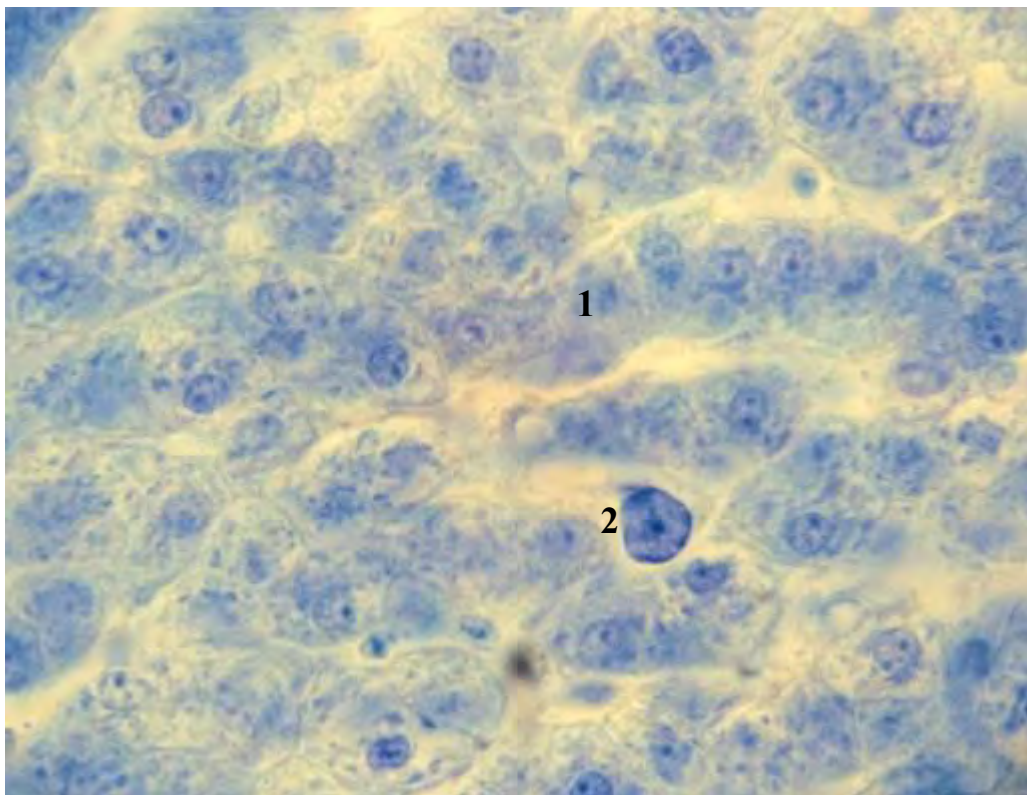


Abb.16. Schweineleber, 400x, Giemsa: 1= Leberzellbalken; 2=wahrscheinlich oktaploider Leberzellkern da doppelter Durchmesser

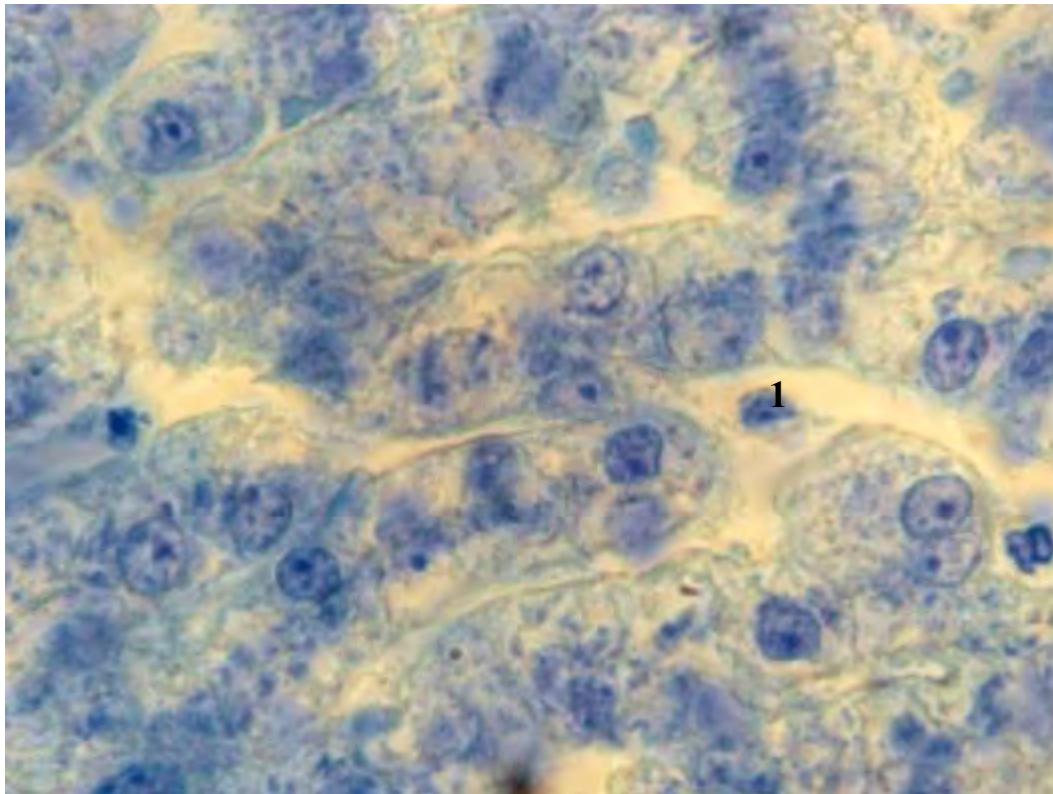


Abb.17: Schweineleber, 1000x, Giemsa: 1= wahrscheinlich Kupffer Zelle

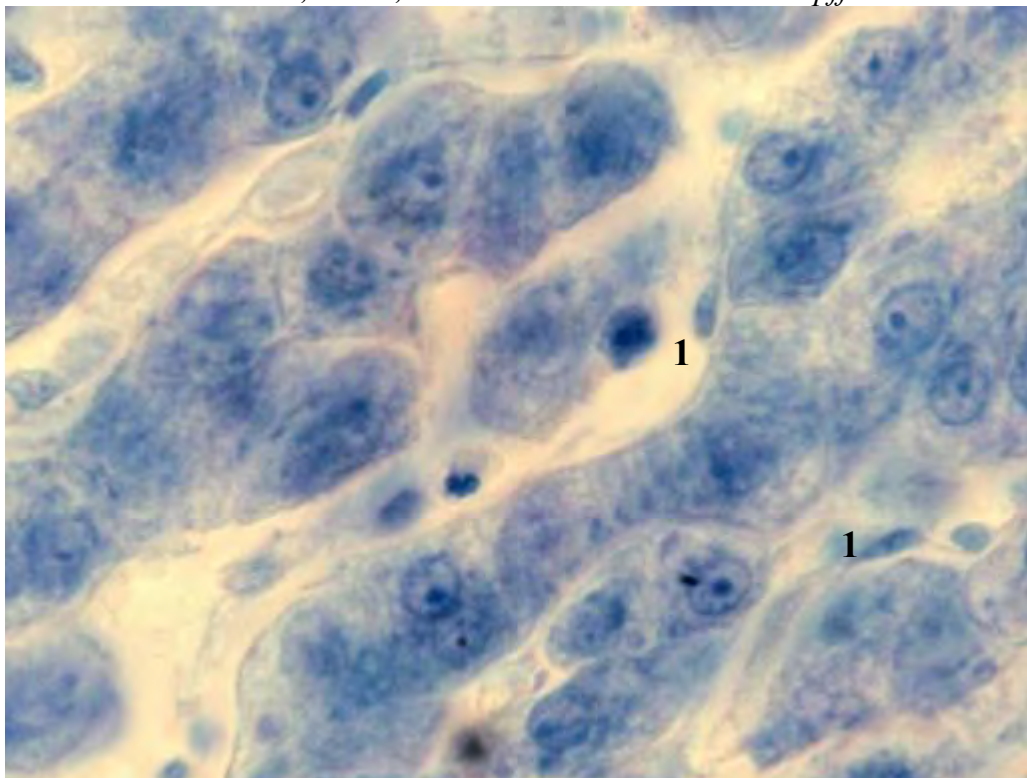


Abb.18. Schweineleber, 1000x, Giemsa: 1= Endothelzelle

Literatur:

- L.C. Junqueira; J. Carneiro Histologie: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen;; übersetzt von Th. Schiebler; 4. Auflage; Springer; 1996
 Schwarzacher, Schnedl, Pavelka Histologie;; 5. Auflage; Facultas, 1995
 O. Bucher, H. Wartenberg: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen Verlag Hans Huber; 11 Auflage; 1992
 V. Patzelt: Histologie; 2. Auflage; 1946
 Sobotta-Welsch: Lehrbuch der Histologie; 2. Auflage; Urban & Fischer; 2006
 S. Silbernagl; A. Despopoulos: Taschenatlas der Physiologie; 4. Auflage; Thieme 1991
 A. Stevens, J. Lowe: Histologie; übersetzt von K. Tiedemann; VCH Verlag 1992;