

Zur kompensatorischen Nierenregeneration. Autoradiographische Untersuchungen nach ^3H -Thymidin-Dauerinfusion¹

Mit Hilfe einer i.v. ^3H -Thymidin-Dauerinfusion (^3HTD) wurde autoradiographisch die Proliferation in den Tubulusepithelien der Rattenniere geprüft. Dabei verglichen wir die physiologische Zellerneuerung bei Kontrollen mit der kompensatorischen Regeneration in der Gegenniere nach kontralateraler Nephrektomie (kN) und nach kontralateraler, temporärer (1 h) Nierenischämie (kI).

Eben ausgewachsene, 3–4 Monate alte, im Mittel 300 g schwere männliche Sprague Dawley Ratten, linksseitige temporäre Ischämie bzw. Nephrektomie; kontinuierliche ^3HTD ² ab Beendigung der Operation bis zu 96 h nach Lösen der Gefäßligatur, bzw. von 0,5–20 d nach kN (Figur); entsprechende Kontrollkollektive, 1–3 Tiere/Zeitpunkt; mittlere Aktivitätsdosis/24 h $\approx 1,8$ mCi ^3H -Methyl-Thymidin (spez. Akt. 3,0–6,0 Ci/mM, Schwarz Bio Research); autoradiographische Technik wie bei ³.

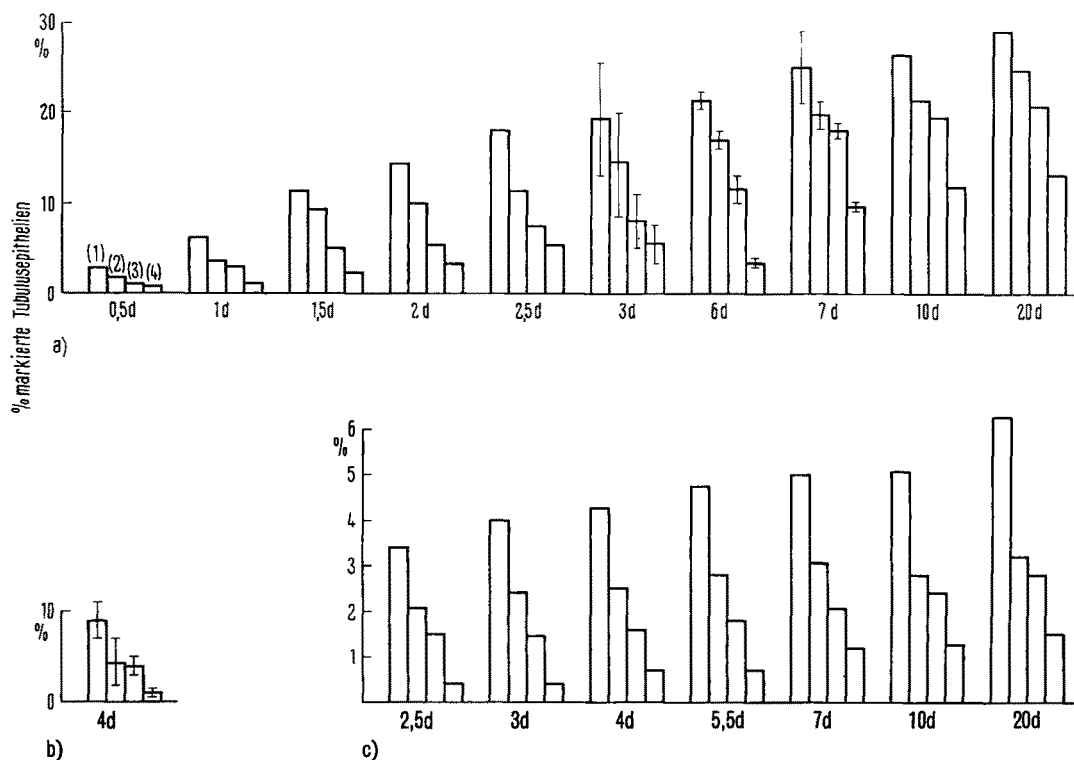
Die Figur zeigt die Ergebnisse: Der gesamte Prozentsatz markierter Tubulusepithelien steigt demnach in der Gegenniere nach kN (a) gegenüber den Kontrollen (c) etwa um den Faktor 6–7 an, was auch dem Mitoseanstieg nach kN entspricht⁴. Die prozentuale Markierung ist dabei stets im Stratum labyrinthicum und subcorticale am höchsten. Allerdings ist der Eintritt der Zellen in die DNS-Synthese bei der kompensatorischen Regeneration in den einzelnen Zonen der Niere zeitlich etwas verschoben. Denn anfänglich (1,5–6 d) führen Stratum labyrinthicum und subcorticale weitaus deutlicher als zu späten Zeitpunkten (7–20 d), an denen nun auch die Zona intermedia und basalis stärker ins Spiel treten.

Der zonale Markierungsindex steigt von 10 auf 20 d ^3HTD nach kN nicht mehr nennenswert an. Die Zellneubildung bei kompensatorischer Regeneration nach kN

scheint demzufolge nach ca. 3 Wochen weitgehend abgeschlossen zu sein⁶.

Der Umfang der kompensatorischen Regeneration ist nach 4 d ^3HTD in der nicht unterbundenen Niere nach kI (b) etwa halb so gross wie in der Gegenniere nach kN zwischen 3 und 6 d und etwa doppelt so gross wie bei Kontrollen. Das Ausmass der Proliferation ist demzufolge bei der kompensatorischen Regeneration sowohl nach kN als auch nach kI – also bei rein humoral übertragenem Regenerationsimpuls⁶ – weitaus geringer als bei der reparativen – also primär durch örtliche Schädigung induzierten – Regeneration in der unterbundenen Niere. Denn hier ergibt die ^3HTD am 4. Tag einen Wert von 90% und zwar im Stratum subcorticale, was sich mit der Topographie postischämischer Nekrosen im Nephron deckt⁷.

Die stufenförmige Abnahme der Markierung von Stratum labyrinthicum über subcorticale zur Zona intermedia und basalis⁸ lässt sich bei allen Tieren aus der Figur ablei-



Zonaler Prozentsatz markierter Tubulusepithelien. (1) Stratum labyrinthicum. (2) Stratum subcorticale. (3) Zona intermedia. (4) Zona basalis. (a) Restnieren nach kontralateraler Nephrektomie, ^3HTD bis 20 d. (b) Nicht unterbundene Niere nach einstündiger kontralateraler Ischämie, ^3HTD 4 d. (c) Kontrollen, ^3HTD bis 20 d.

¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

² BRIGITTE SCHULTZE, A. LÖBBECKE und W. MAURER, 12. Symp. Ges. Histochem. Gent 1967, Suppl. Acta histochem., im Druck.

³ E. STÖCKER und W.-D. HEINE, Beitr. path. Anat. 131, 410 (1965).

⁴ R. J. GOSS, *Adaptive Growth* (Logos Press, London, distributed by Academic Press, New York, London 1964).

⁵ K. HÜBNER, Verh. dt. Ges. Path. 48, 273 (1964); Ergebn. Path. Anat. 48, 1 (1967).

⁶ H.-W. ALTMANN, Verh. dt. Ges. Path. 50, 15 (1966).

⁷ E. STÖCKER, Verh. dt. Ges. Path. 50, 53 (1966); 12. Symp. Ges. Histochem., Gent 1967, Suppl. Acta histochem., im Druck.

⁸ H. NOLTENIUS, H. KEMPERMANN und W. OEHLERT, Naturwissenschaften 51, 63 (1964).

ten. Hinsichtlich der Topik DNS synthetisierender Zellen in den einzelnen Zonen der Niere besteht dabei zwischen der physiologischen Zellerneuerung bei Kontrollen und der kompensatorischen Regeneration nach kN und kI nur ein quantitativer Unterschied.

Summary. By continuous infusion of ^3H -thymidine, autoradiographic studies were performed to compare cellular proliferation in the compensatory regenerating kidney of rats after contralateral nephrectomy or contralateral temporal (1 h) ischaemia with physiological cell renewal in controls. Under each experimental condition,

the highest labelling index is observed within the stratum labyrinthicum and then a gradual decrease occurs from there to the stratum subcorticale, zona intermedia and basalis. As to the topic of DNA synthesizing cells in the different zones of the kidney, there are only quantitative differences between physiological cell renewal of the controls and compensatory regeneration following contralateral nephrectomy and contralateral ischaemia.

E. STÖCKER, E. NEUMANN-REDLIN und W.-D. HEINE

*Pathologisches Institut der Universität,
87 Würzburg (Deutschland), 6. Dezember 1967.*

Catecholamines and Granular Vesicles in Adrenergic Axons of the Developing Pineal Body of the Rat¹

The pineal body of the rat is innervated exclusively by sympathetic post-ganglionic fibers from the superior cervical ganglion². These fibers contain agranular vesicles, and granular vesicles of 2 types, large and small³⁻⁶. There is now considerable evidence that the small granular vesicles (SGV) contain norepinephrine (NE)⁵⁻⁸. In this report the development of the sympathetic innervation of the pineal body was studied by correlating histochemical fluorescence with electron microscopic observations. Special attention was given to the sequence of appearance of the 2 types of granular vesicles in the developing axons and its bearing on the intra-axonal distribution of catecholamines.

For fluorescence histochemistry, pineals from Holtzman rats of both sexes were treated according to the method of FALCK and HILLARP⁹ (cf. FALCK and OWMAN¹⁰).

The ages and the number of specimens per group were: 19-day-old fetuses, 2; 2 h post-partum, 3; 22-24 h, 4; 2-day, 5; 3-day, 5; 6-7 day, 6; 10-11 day, 3; 21 day, 4.

In 2-hour-old animals, bright green nerves were observed in the capsule, especially at the apex and dorsal side of the gland below the vena cerebri magna (Figure 1a). At 24 h a few isolated nerve bundles penetrated the pineal, and at 2 days typical green varicose terminals were seen around vessels or among the pineal cells in some areas of the gland (Figure 1b). Their number increased and at 21 days was similar to that observed in the adult gland⁹. The green fluorescence observed in the nerves of the developing pineal body indicates the presence of a catecholamine, most probably NE^{9,10}.

To investigate binding sites for NE in young adrenergic nerves, sympathetic fibers of the rat pineal body were studied by electron microscopy. The animals were the following ages: 2-24 h, 15; 2-3 days, 9; 5-8 days, 9; 15 days, 3; 21 days, 3. The pineal bodies were fixed by immersion or perfusion in 3% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer adjusted to pH 7.3. The specimens were embedded in epoxy resin, sectioned, double stained and studied with a Hitachi HU 11A electron microscope.

On the day of birth most of the nerve bundles studied were in the capsule and there is no doubt that they correspond to those seen in the fluorescence microscope. The axons in these bundles contained neurotubules, neurofilaments, multivesicular bodies, glycogen particles, abundant smooth endoplasmic reticulum, mitochondria, agranular and granular vesicles. Granular vesicles, however, were only of the large type (Figure 2a) with a mean diameter of 820 Å. At day 2 a few SGV were seen in axons of small and large nerve bundles situated inside the gland or in its capsule (Figure 2b). The number of

these vesicles was considerably larger at day 7, and, at 2 weeks, clusters of more than 100 granular vesicles were occasionally seen (Figure 2c). The absence of the SGV from adrenergic axons of the pineal body during the first 24 h after birth does not seem to be due to inadequate fixation since glutaraldehyde, followed by osmium tetroxide, is an excellent fixative for the demonstration of granular vesicles in the rat pineal body⁴.

These data show that the large granular vesicle (LGV) precedes the SGV during development. Apparently the 'granules' recently described by WECHSLER and SCHMEKEL¹¹ in sympathicoblasts of the chick embryo are LGV indicating that those vesicles appear very early in development. The function of the LGV is unknown. Their presence in adrenergic fibers, even before contacts with effector cells are established, indicates that their function might not be related to neuroeffector transmission. On the other hand, the SGV appear only after the nerves have penetrated and branched inside the pineal gland and

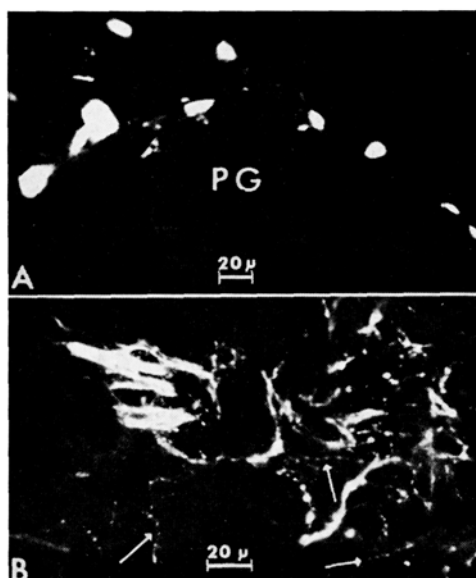


Fig. 1. Fluorescence photomicrographs of rat pineal bodies treated according to the method of FALCK and HILLARP. (A) 2 h of age. Cross section of the pineal gland (PG) showing large nerve in the capsule displaying intense green fluorescence. No nerve is seen inside the gland at this age. (B) 2 days of age. Nerve terminals with typical varicosities (arrows) inside the gland at its dorso-apical portion.