

Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin  
(Direktor: Prof. Dr. med. WILHELM DOERR).

## Histologische und manometrische Untersuchungen über die Zellatmung in der Niere\*.

Von

**VOLKER BECKER und ELSA RIEKEN.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. November 1953.)

Das mikroskopische Bild des Protoplasma von Parenchymzellen wird wesentlich durch deren Stoffwechselleage bestimmt. Wenn es gelänge, durch definierte Störungen einer Stoffwechselsituation Zellveränderungen zu reproduzieren, so ließe sich über die „Momentaufnahme“ des histologischen Bildes hinaus noch etwas über das „Woher“ aussagen: Bestimmten Giftwirkungen könnten histologische Äquivalentbilder zugeordnet werden.

In früheren Untersuchungen hatten wir durch die Injektion von Giften der Zellatmung z. B. in die Nierenarterien von Kaninchen Zustände des histotoxisch bedingten Sauerstoffmangels erzeugt (DOERR und BECKER). Dabei hatte sich ergeben, daß, wenn die Zellatmungskette am Gliede der eisenhaltigen Fermente — durch Kaliumcyanid — unterbrochen wurde, eine krümelige Lockerung des Protoplasma z. B. der Harnkanälchenepithelien entstand, die sich nach 2 Tagen in eine vacuoläre Entmischung umwandeln oder zu einer Nekrose entwickeln konnte. Bei der Hemmung der Zellatmung an der Bernsteinsäurehydrase durch Malonsäure dagegen trat schon nach Minuten eine vacuoläre Entmischung des Protoplasma der Harnkanälchenepithelien auf. Prinzipiell gleichartige Veränderungen konnten an der Bauchspeicheldrüse (DOERR) und am Herzmuskel nach intracoronarer Vergiftung erzielt werden (BECKER und FREY). Nach diesen Untersuchungen können wir sagen, wie das histologische Bild nach der Blockade bestimmter Glieder der Zellatmungskette aussieht. Wie aber der Stoffwechsel — in diesem Falle die Atmung — der Zelle abläuft, läßt sich nicht ohne weiteres bestimmen, weil es durchaus möglich ist, daß die Zelle nach einer Blockade der Atmungskette durch Malonat (in einem Ausmaß von etwa 25—40 %) über Ausgleichsmechanismen verfügt. Diese laufen nicht über die allein blockierte Bernsteinsäuredehydrase (Stoffwechselumleitung). Wenn auch die Wirkungsweise der verwendeten Stoffe, ihr Hemmung und ihre Aktivität aus biochemischen

\* Ausgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Versuchen bekannt ist, so ist damit noch nicht gesagt, wie sie in der lebenden Zelle, die über Stoffwechselausgleichsmechanismen vielfältiger Art (z. B. Glykolyse bei gehemmter Atmung) verfügt, wirken würde.

*Theoretisch* gibt es drei Möglichkeiten, die eine andere Wirkungsweise in der lebenden Zelle gegenüber den in vitro-Untersuchungen erklären könnten:

1. Das injizierte Gift dringt nicht in die Zelle ein, stört also den Stoffwechsel der Zelle nicht, obwohl es durch den arteriellen Blutstrom an die Zelle herangebracht wird (z. B. Bienengift; eigene unveröffentlichte Untersuchungen).

2. Die Zelle kann sich rasch des eingedrungenen Giftes entledigen, der Spüleffekt ist so groß, daß offenbar zur Entstehung einer morphologisch und manometrisch faßbaren Veränderung die Zeit nicht ausreicht.

3. Die Zelle verfügt über genügend Kompensationsmöglichkeiten, so daß ihre Struktur trotz eines blockierten Stoffwechselweges intakt gehalten werden kann.

*Aus diesen Überlegungen heraus leitete sich die Notwendigkeit ab, die früheren histologischen Untersuchungen durch manometrische Bestimmungen der Atmungsgrößen im Warburg-Apparat zu ergänzen.*

Schon oft wurde versucht, durch Feststellung der Atmungsgröße die Stoffwechselsituation der Zelle bei verschiedenen morphologischen Bildern zu bestimmen. An derartige Untersuchungen von GROLL und seinen Mitarbeitern knüpften sich lange Diskussionen über den Begriff der Degeneration, der trüben Schwellung und der Entzündung. Die Ergebnisse dieser Forschungsrichtung waren nie eindeutig, einmal, weil gemäß dem Prinzip der „Monotonie der morphologischen Symptomatik“ (LETTERER) ein gleiches Protoplasmabild nicht unbedingt gleiche Stoffwechseländerungen zur Voraussetzung haben muß, zum anderen, weil große methodische Schwierigkeiten zu überwinden sind. Diese methodischen Hindernisse hofften wir, zum Teil wenigstens durch die Anwendung der Technik der isolierten Organvergiftung zu umgehen. Dennoch traten auch bei unserer Methodik Komplikationen auf, deren Auflösung jedoch, wie wir glauben, den Schlüssel zum Verständnis vieler Mißerfolge auch früherer Untersucher abgeben können.

#### *Material und Methode.*

Nach längeren Vorversuchen, die zur Einstellung der Methodik auf einen günstigen Modus dienten, kamen wir zu folgender Technik, die wir an 15 Ratten und 30 Kaninchen anwendeten:

Die Methodik war ähnlich derjenigen in früheren Untersuchungen. Die Bauchhöhle wurde eröffnet, der linke Nierenstiel sichtbar gemacht und mit Novocain umgossen. Nach einigen Minuten wurde der rechte Nierenstiel freigelegt, ebenfalls mit Novocain umspült und abgeklemmt. Dann erfolgte die rasche Exstirpation der rechten Niere, Entkapselung und Einlage in Krebs-Ringer-Lösung. In die linke Nierenarterie wurde darauf mit einer sehr dünnen Kanüle, die durch einen (Fahrradventil-) Schlauch mit einer Injektionspritze verbunden war, das jeweilige gelöste Fermentgift langsam eingespritzt. Während der Injektion wurde die

Nierenoberfläche extrem blaß. Das Blut der Nierenvene zeigte je nach Giftart nach kurzer Zeit eine hellrote Farbe, als Zeichen dafür, daß die Niere den Sauerstoff des arteriellen Blutes nicht mehr „abnahm“. Wir warteten 10 min und spritzten je nach Versuchsanordnung in einigen Fällen ein zweites Mal. Danach erfolgte die sofortige Exstirpation der linken Niere. Nach der Entkapselung wurde auch sie in Krebs-Ringer-Lösung eingelegt. Von jeder Niere wurde eine Hälfte zur histologischen Untersuchung teils in 10%igem Formalin, teils in CARNOYSCHER Flüssigkeit fixiert. Die andere Hälfte wurde zur manometrischen Untersuchung geschnitten. Es wurde streng darauf geachtet, daß nur Rindenanteile zur Verwendung kamen. Die äußersten Rindenschichten wurden verworfen. Die Schnitte durften nur bis 0,3 mm entsprechend der Grenzschnittdicke (WARBURG) stark sein und mußten stets mit Krebs-Ringer-Lösung in Berührung bleiben. Die Schnittdicke wurde später am getrockneten Schnitt nach folgenden Formeln kontrolliert:

$$\text{Trockengewicht} \times 5 = \text{Volumen};$$

$$\text{Dicke} = \frac{\text{Volumen}}{\text{Fläche}}.$$

Das Trockengewicht wurde nach dem Versuch durch Trocknen der einzelnen Schnitte über Kalilauge bis zur Gewichtskonstanten bestimmt. Die Fläche wurde vor dem Trocknen über Millimeterpapier ausgezählt (WARBURG); sie betrug zwischen 30 und 50 mm<sup>2</sup>.

*Es standen also zur manometrischen und histologischen Untersuchung linke und rechte Niere zum Vergleich.*

Als Hemmstoffe verwandten wir die gleichen Gifte wie in unseren früheren Untersuchungen, nämlich Kaliumcyanid und Kaliummalonat. Um einen Vergleich mit den früher erhobenen Befunden zu haben, wollten wir die gleichen Dosierungen anwenden, nämlich 5—10 mg Kaliumcyanid und 20 mg Kaliummalonat. Bei dieser Dosierung erhielten wir regelmäßig die früher beschriebenen histologischen Veränderungen. Ergänzend zu diesen Untersuchungen verglichen wir auch die Atmung und das histologische Bild von supravitalen Nierenstücken, die, bevor sie in die Krebs-Ringer-Lösung gebracht wurden, zunächst 10 min in 2—5—10%iger Malonatlösung inkubiert worden waren.

Die Messung des Sauerstoffverbrauches hielte sich an die Methode von WARBURG. Als Nährlösung diente die von KREBS und HENSELEIT angegebene Lösung (Krebs-Ringer-Lösung). Die NaHCO<sub>3</sub>-Menge veränderten wir so, daß sie der von WARBURG für die Atmungsmessung angegebenen Menge entsprach. Glucosekonzentration 0,2%. Das entstehende Kohlendioxyd wurde durch 0,3 cm<sup>3</sup> einer 10%igen Kalilauge im Seitenansatz absorbiert. Vor Versuchsbeginn wurden die Reaktionsgefäß 10 min mit reinem Sauerstoff durchströmt. Die Zeit zwischen der Exstirpation bzw. dem Abbinden der Nierenarterie und dem Versuchsbeginn betrug im Mittel 30 min. In den ersten 20 min des Versuches wurde jeweils alle 5 min abgelesen, dann in Abständen von je 10 min. Die Versuchstemperatur betrug 37,5°, Versuchsdauer bis zu 2 Std.

### Ergebnisse.

Bei der *manometrischen* Untersuchung der gleichen Nieren, die histologisch starke Veränderungen zeigten, stellte es sich heraus, daß *die Atmung in keiner Weise beeinflußt war*. Dieser für uns zunächst überraschende Befund wurde in vielfacher Wiederholung und mannigfaltiger Modifikation bestätigt. Besonders verblüffend war dieses Ergebnis bei den Versuchen mit Kaliumcyanid, bei denen aus der Niere nach der

Zerschneidung ein intensiver Geruch von Blausäure entwich, ja bei denen sogar der Rindenschnitt von 0,3 mm Dicke stark nach Blausäure roch. Wenn man nach einstündigen Versuchen das Gewebestück aus dem Reaktionsgefäß nahm, dann roch auch die Spülflüssigkeit schwach, aber doch deutlich nach Blausäure. Dies beruhte darauf, daß die geringe Menge des Giftes, die sich in dem dünnen Schnitt befand, durch die praktisch ungehinderte Durchflutung im Atemgefäß in die umgebende Krebs-Ringer-Lösung hinaus diffundierte und so stark verdünnt wurde, daß eine Atemhemmung nicht mehr eintrat.

Ein kurzes *Zahlenbeispiel* möge unsere Auffassung veranschaulichen: Der Schnitt im Atemtrog besitze eine Dicke von ungefähr 0,3 mm (Grenzschnittdicke). Sein Trockengewicht, das von der Fläche abhängig ist, betrage 6 mg. Es kann eine Atemausschaltung erst manometrisch erfaßt werden, wenn es gelingt, auf intrarteriellem Wege diesen 6 mg Gewebe so viel des Giftstoffes mitzugeben, daß in der Umgebung von  $3,0 \text{ cm}^3$  Krebs-Ringer-Lösung nach Diffusion des Giftes eine atembehindernde Konzentration entsteht. Diese liegt für Kaliumcyanid nach WARBURG bei  $270 \gamma/\text{cm}^3$ . Also muß das 6 mg schwere Nierenscheibchen 0,81 mg KCN enthalten. Das ist aber unmöglich, weil die Niere nicht in der Lage ist, eine solche Menge Cyankalium festzuhalten: Die größere Menge des Giftes fließt an den Zellen vorbei und gelangt in den allgemeinen Blutkreislauf; das Tier stirbt während der Injektion unter Krämpfen.

*Die manometrisch nicht erfaßbare Atemhemmung beruht also auf der geringen Haftfähigkeit und Haftdauer des Giftes und der dadurch bedingten Konzentrationsminderung.*

Ganz ähnlich wie bei dem Cyankalium ist es bei der ebenfalls leicht auswaschbaren Malonsäure. Hier ist es zwar möglich, größere Mengen des Giftes ohne Schaden für das Tier langsam zu injizieren, die Niere selbst nimmt aber, auch wenn während der Injektion die Nierenvene abgeklemmt wurde, nur eine beschränkte Menge auf. Immerhin gelang es, bei den hohen Dosen von Malonat — 100—200 mg — eine auch manometrisch erfaßbare Atembehinderung zu erzielen.

Um diese Verhältnisse zu klären, wurde ein weiteres Fermentgift in die Untersuchungen einbezogen, das fester an der Zelle haftet und deshalb nicht so rasch in die Umgebung abdiffundiert, das Monojodacetat. Die Atemhemmung, die damit erzielt worden ist, entsprach den theoretischen Erwartungen. Wir mußten daher bei der Dosierung zwei verschiedene Werte unterscheiden, nämlich einmal jene Dosis, die bereits histologisch erkennbar eine Protoplasmaveränderung zustande brachte, und zum anderen diejenige — meist bis 5—10fach höher gelegene (!) —, bei der die Stoffwechseländerung nicht nur histologisch, sondern auch manometrisch zu erfassen war.

Im einzelnen ist zu den Giften noch folgendes zu sagen:

*Kaliumcyanid.* KCN blockiert die eisenhaltigen Fermente, so daß nur der Teil der Zellatmung möglich ist, der ohne eisenhaltige Fermente

abläuft. Zur Erzielung histologischer Veränderungen genügte eine Dosis von 1,0 cm<sup>3</sup> einer 1%igen KCN-Lösung, das sind 10 mg. Zur Darstellung manometrischer Veränderungen benötigten wir 100—150 mg einer 20- bzw. 30%igen Lösung, also auch in einer Menge von 1,0 cm<sup>3</sup>. Die Lösung wurde immer kurz vor der Operation frisch bereitet und unmittelbar vor der Injektion neutralisiert.

*Kaliummalonat.* Die Malonsäure blockiert nach dem Prinzip der kompetitiven Hemmung in Konkurrenz mit der Bernsteinsäure die Succinodehydrase, über die je nach Zellart 25—40% der Zellatmung laufen (MARTIUS). Die Dosis betrug hier 20 mg in 1,0 cm<sup>3</sup> einer 2%igen Lösung für die histologisch allein faßbaren, für die manometrisch und histologisch erkennbaren Veränderungen wurde 1,0 cm<sup>3</sup> einer neutralisierten 10%igen Lösung, das sind 100 mg, verwendet.

*Monojodacetat.* Die Hemmwirkung des Monojodacetat ist weniger umschrieben als die des Cyankalium und der Malonsäure. Monojodacetat hemmt unter anderem die Oxydationen des Citronensäurecyclus. Wir injizierten 1,0 cm<sup>3</sup> einer neutralen 1%igen Lösung, also 10 mg. Eine Erhöhung der Dosis war nicht nötig, da die Jodessigsäure fester an der Zelle haftet und hier also mit keiner nennenswerten Abdiffusion gerechnet werden muß.

Selbstverständlich sind die angewandten Dosen unphysiologisch. Sie wurden aber auf physiologischem Wege der Zelle angeboten, der limitierende Faktor ihrer Wirkung liegt allein in der Beschränkung ihres Blockadeeffektes.

Die Ergebnisse der manometrischen Untersuchungen der 3 Vergiftungsreihen sind in einigen Beispielen in Tabelle I zusammengefaßt. Die Atmungsgröße QO<sub>2</sub> wurde ausgedrückt durch den Quotienten:

$$\frac{\text{mm}^3 \text{ O}_2\text{-Verbrauch}}{\text{mg Gewebe} \times \text{h}}.$$

Nach intraarterieller, intravitaler Applikation von Kaliumcyanid ist supravital nur eine geringe Atemhemmung manometrisch nachweisbar. Dies ist der Ausdruck davon, daß die Niere nicht so viel von dem Gift aufnimmt, wie nötig wäre, um nach Abdiffusion noch eine Atembehinderung erkennen zu lassen. Anders bei der Malonsäure, bei der doch immerhin eine Atemhemmung von 30% durch sehr hohe Giftgaben erreicht wird. Die gleiche Hemmung wird bei relativ geringer Dosierung mit Monojodacetat erreicht, weil hier die Haftfähigkeit des Giftes eine größere ist.

Es ist also unter gewissen Voraussetzungen möglich, mit der angewandten intravitalen, intraarteriellen Vergiftung supravital im Versorgungsgebiet eine Atemhemmung zu erreichen. Dies ist besonders im Zusammenhang mit dem histologischen Bilde bedeutsam.

*Histologisch* konnten wir bei der beschriebenen Versuchsanordnung folgende Befunde erheben:

Die Veränderungen waren nach Art und Grad bei jedem der injizierten Stoffe unabhängig von der verschiedenen Dosierung. Das ist deshalb nicht verwunderlich, weil die Einzelzelle, besser noch: der Enzymapparat der Einzelzelle von dem Giftstoff auch bei der „geringen“ Dosierung überschwemmt wird. Da der Hemmstoff gezielt eingreift, wird nur eine Stufe vollständig gehemmt. Die weitere Menge des Hemmstoffes kann nicht höhergradig wirken, da ja die Hemmung eine vollständige ist. So sind die histologischen Veränderungen — und auch die Stoffwechselveränderungen der Zelle, die aus der Blockade und der Umleitung um diese bestehen — bei den verschiedenen Dosierungen gleich.

Tabelle 1.

Gift	Tier Nr.	Dosis mg	QO <sub>2</sub> normal (re.)	Fehler- breite %	QO <sub>2</sub> vergiftet Mittelwert	Fehler- breite %	Atemab- weichung nach Vergiftung %
			Mittelwert				
KCN	126	5	10,60	± 10	11,45	± 9,0	+ 7,5
	127	10	9,72	± 3,5	9,35	± 3,5	- 4,5
	130	150	10,00	± 5	9,05	± 7,0	- 9,5
K-Malonat	133	80	10,65	± 4	10,9	± 8,0	+ 2,5
	138	130	11,10	± 11	8,8	± 11,10	- 21,0
	135	150	10,9	± 4	7,5	± 6,0	- 30,5
Mono- jodacetat	132	10	9,1	± 2,5	6,1	± 2,0	- 33,5
	136	10	10,0	± 5,0	7,6	± 10,0	- 27,5
	137	10	10,5	± 6,0	7,3	± 8	- 30,5

Nach der *Cyankalium*-Vergiftung sind die Veränderungen des Protoplasma der Harnkanälchenepithelien bescheidene. Die Anfärbbarkeit des Cytoplasma ist ungleichmäßig, es ist leicht körnig aufgelockert, an einigen Stellen finden sich rundlich ovale, optisch leere Vacuolen, mehr noch konzentrische perinucleäre Höfe, dazu erkennt man krümelige Zusammenballungen.

Die Gefäßwände sind ödematos durchtränkt und aufgelockert. Die morphologischen Veränderungen des Protoplasma der Harnkanälchenepithelien nach Vergiftung mit *Malonsäure* sind im Gegensatz zu denen nach Cyankaliumvergiftung viel auffallender. In der inneren Rindschicht, besonders aber im Bereich der HENLESCHEN Schleife und der BERTINISCHEN Säulen finden sich sehr zahlreiche, nahezu in jeder Zelle, kernnahe, wie ausgestanzt erscheinende, optisch leere, fettfreie, kugelige bis ovale Vacuolen, die, wenn sie größer sind, den Kern eindrücken oder eindellen (Abb. 1). Oft sind mehrere kleine Vacuolen in einer Zelle gelegen. An anderen Stellen ist das Cytoplasma blasig aufgetrieben, das anfärbbare Protoplasma ist nur wabig über die große, geblähte Zelle

verteilt, der Kern scheint zu „schwimmen“ („Potocytose“, ZOLLINGER; HAMBURGER und MATHÉ).

Das Ergebnis der manometrischen und histologischen Untersuchungen der Kaninchennieren, die vorher supravital in Malonsäure inkubiert worden sind, bildet hierzu eine wertvolle Ergänzung.

Wie erwartet, war die Atmung bei dieser direkten Malonsäureeinwirkung immer hochgradig bis vollständig gehemmt. In diesen Fällen interessierte besonders das morphologische Bild: Während der

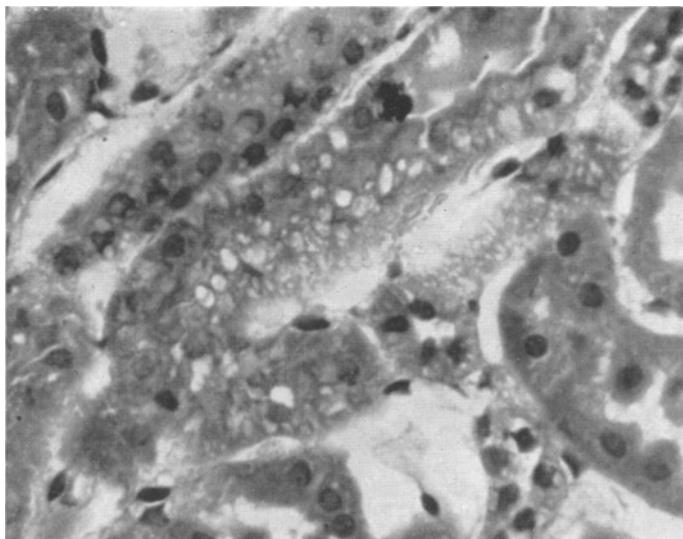


Abb. 1. Multiple Vacuolen im Protoplasma fast aller Zellen eines Abschnittes der HENLE-schen Schleife nach intraarterieller Malonatvergiftung. H.-E. Vergr.: 800mal.

Inkubation können die Ausweichsmöglichkeiten der Zelle — Stoffwechselumleitungen, von denen wir sprachen — noch wirksam werden, nicht aber die „humorale Entführung“ (ERDHEIM). Hier sind also noch reinere Versuchsbedingungen gegeben, vorausgesetzt, daß das Gewebe noch atmet und die Grenzschnittdicke gewahrt ist. In der Tat fanden sich auch hier äußerst zahlreiche kernnahe, „leere“, meist ovale Vacuolen (Abb. 2). Dagegen kam es niemals zu einem Zellhydrops, zu einem Zusammenfließen zu Blasen, zu wabigen Lockerungen, zu Zuständen, wie sie doch häufig bei der intraarteriellen Zufuhr des gleichen Giftes nachgewiesen werden können.

Wir glauben, daß dies eine wichtige Tatsache ist, die für die prinzipielle Einheitlichkeit von Vacuolen, Blasen und Zellhydrops bei gradueller Verschiedenheit spricht. Das gleiche Gift, welches in der Atmungsblockade an seine Wirkungsstufe gebunden und in dem Ausmaß der Atmungsstörung durch diese limitiert ist, erzeugt unter supravitalen

in vitro-Bedingungen prinzipiell gleichartige, doch graduell unterscheidbare morphologische Veränderungen, wie in den in vivo-Versuchen.

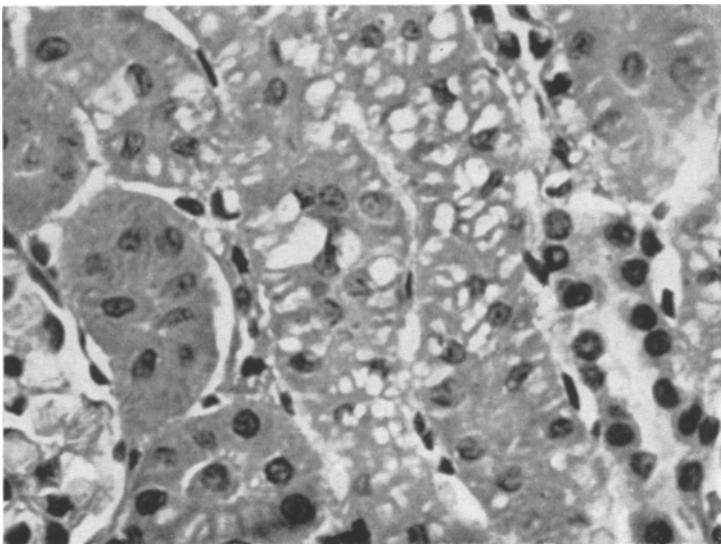


Abb. 2. Ausgeprägte Vacuolisierung des Protoplasma der Harnkanälchenepithelien nach 20 min langer Inkubation in 2 %iger Malonatlösung. H.-E. Vergr.: 600mal.

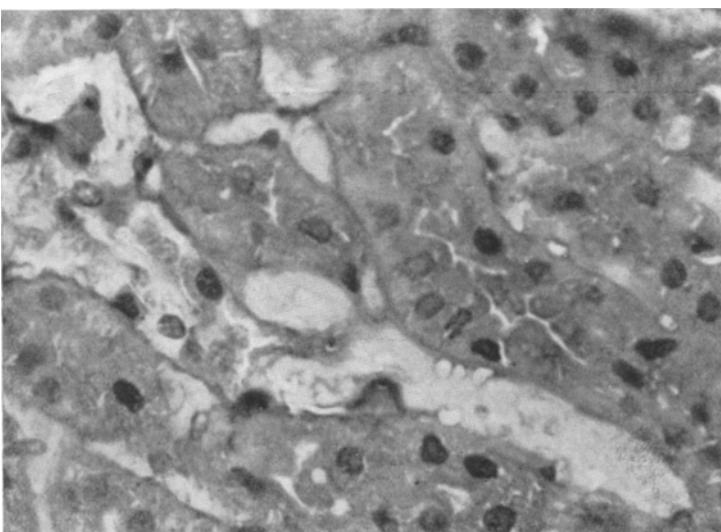


Abb. 3. Breite Plasmaausgüsse im Interstitium der Niere nach intraarterieller Monojodacetatvergiftung. Trichrom Masson-Goldner. Vergr.: 900mal.

Dies spricht für die schon früher geäußerte Ansicht (DOERR; DOERR und BECKER), daß die vacuolige Entmischung des Protoplasma nichts grund-

sätzlich Verschiedenes von der blasigen Entartung zu sein braucht, sondern daß fließende Übergänge bestehen (BECKER und FREY). Vor kurzem hat DOERR (1953) sowohl Vacuolen als auch ihre Übergänge zur blasigen Entartung bei der experimentellen Äthioninpankreatitis beschrieben.

Nach der intraarteriellen Vergiftung mit *Monojodacetat* fällt, selbst nach der Fixierung, eine außerordentliche Brüchigkeit des ganzen Organes auf. Bei der Anfertigung von Gefrierschnitten kommt es zur Lösung des ganzen Organges. Mikroskopisch findet diese Desintegration der Rinde wahrscheinlich ihre Erklärung durch die Einlagerung breiter, eosinroter Blut- und Plasmaausgüsse in den Interstitien (Abb. 3). Sie durchsetzen die Rinde und drängen die Harnkanälchen weit auseinander, so daß viele Tubuli jede nachbarliche Beziehung zu anderen Harnkanälchen verloren zu haben scheinen. In diesen Bezirken finden sich auch Plasmaausgüsse im Lumen der Harnkanälchen und im Binnenraum der BOWMANSchen Kapsel. In den Nierenkörperchen, in denen der Kapselraum frei von Ausgüssen ist, sind die Capillaren maximal dilatiert. Die Veränderungen des Cytoplasma der Harnkanälchenepithelien treten gegenüber den Veränderungen des Interstitium ganz zurück. Nur vereinzelt finden sich verschieden große, mehr multiple kleinere Vacuolen im Protoplasma der Harnkanälchenepithelien, besonders im Bereich der inneren Rindenschicht. In einzelnen Fällen finden sich auch in den Wandungen der Arteriolen hydropisch aufgetriebene Zellen (offenbar glatte Muskelfasern).

#### *Besprechung der Ergebnisse.*

Die Protoplasmaveränderungen nach Einwirkung eines so starken Giftes, wie es das Cyankalium darstellt, sind auch nach den hohen Dosen, die das Tier nach wenigen Minuten töten, enttäuschend gering. Man kann dies eigentlich nur mit einem „Zellschock“ erklären, der Unmöglichkeit, Umleitungen zu finden, um eine Atemhemmung von 95% zu überwinden. KETTLER hat betont, daß zur Entstehung von Vacuolen die Anwesenheit einer gewissen, wenn auch geringen Sauerstoffmenge notwendig ist. Man kann dies wohl verallgemeinern und sagen, daß zur Ausbildung von Protoplasmaveränderungen der Zelle ein Minimum eines Energiestoffwechsels gehört. Ist dieses nicht vorhanden, so kann es zu keiner Reizantwort durch das Protoplasma kommen („Degeneration“), sondern zu einer ausschließlichen, zeitlich allerdings nicht so rasch erfolgenden Reaktion des Gefäßbindegewebeapparates („Entzündung“), „zum Zwecke der Eliminierung“, wie RÖSSLER sagt. Im Falle der intraarteriellen Vergiftung der Zellatmung mit Cyankalium kann die Eliminierung des Giftes auf eine sehr einfache Weise geschehen, nämlich durch die Abspülung oder Abdiffusion durch den Blutstrom. Wir haben schon in früheren Untersuchungen gesehen, daß, wenn man

nach intraarterieller Cyankaliumvergiftung die Kaninchenniere *in situ* beläßt und die Tiere überleben, diese nach etwa 1—2 Std tonisch-klonische Krämpfe bekommen. Diese Krämpfe deuten die Abspülung des Giftes von der blockierten Zelle an. Oftmals kommt es zum Tode an allgemeiner Vergiftung. Wir mußten die Niere aber unmittelbar nach der Vergiftung untersuchen, wollten wir uns nicht jeder Möglichkeit begeben, den Cyankalumeffekt auf die Zellatmung manometrisch zu erfassen. Es war daher *in situ* gleichsam keine Zeit geblieben, intraprotoplasmatische Veränderungen auszubilden. Der histologische Befund mußte deshalb enttäuschen.

Ganz anders bei der Vergiftung durch Malonsäure. Die Toxizität der Malonsäure ist wesentlich geringer als die des Cyankalium. Eine mikrobiologisch (QUASTEL und Mitarbeiter) und biochemisch (MARTIUS) nachweisbare Hemmung der Zellatmung über 25—40 % hinaus gelingt nicht. Die von KETTLER geforderte geringe Sauerstoffmenge zur Ausbildung von Vacuolen steht zur Verfügung: In kürzester Frist sind die beschriebenen optisch leeren Vacuolen entstanden.

Unsere Ansicht über die Entstehung der Vacuolen im Protoplasma während der Hypoxie haben wir schon früher — aufbauend auf den Ansichten von RÖSSELE, ALTMANN, DOERR, GRUNDMANN, KETTLER — eingehend dargestellt. Vor allem BÜCHNER und sein Schüler PICHOTKA haben den Sauerstoffmangel als Ursache der Entstehung von Vacuolen im Protoplasma der Parenchymzellen herausgestellt. *Die Tatsache der Vacuolenentstehung nach direkter Einwirkung von Zellatmungsgiften bei meßbar herabgesetzter Atmungsintensität der Nierenepithelien bildet einen neuen Beweis für die Gültigkeit der Auffassung von BÜCHNER.* Die Vorstellung von der qualitativen Gleichheit und nur stufenmäßigen Verschiedenheit von Vacuolen und Blasen werden, wie wir schon andeuteten, durch die supravitalen, in Malonsäure eingelegten Nierenstücke gestützt. Andererseits sind diese Versuche auch für den Begriff des Äquivalentbildes von Bedeutung. Die Protoplasmaveränderungen nach intraarterieller Vergiftung der Zellatmung stellen ein Bild dar, das von der Resultante aus der direkten Giftwirkung und den Anstrengungen des Zellstoffwechsels, diese Giftblockade zu umgehen, geformt wird. *Blockade und Umleitung des Zellstoffwechsels geben zusammen das Äquivalentbild der histotoxisch bedingten Hypoxydose.* Dieses Bild entsteht je nach Giftart in verschiedenen langer Zeit, im Falle der Malonsäure innerhalb von Minuten, gleichsam unter der Injektion. Je länger die vergiftete Niere *in situ* belassen wird, desto mehr tritt zu dem Block und der Umleitung als dritte Wirkkraft der Spüleffekt des Blutes als morphoedoplastischer Faktor. Der Spüleffekt ist aber bei der supravitalen Inkubation in Malonsäure ausgeschaltet, so daß er das morphologische

Bild nicht beeinflußt, und dies nur aus Blockade und Umleitung des Zellstoffwechsels entstehen kann. Hierbei konnten wir sehr zahlreiche Vacuolen, nie jedoch ein Zusammenfließen zu Blasen oder die Ausbildung eines Zellhydrops feststellen. Man darf vielleicht daraus schließen, daß die Fortentwicklung der Vacuolen zum schließlichen Zellhydrops, wie dies bei der intraarteriellen Malonsäurevergiftung *in situ* vor sich geht, eine Folge wäßrig-plasmatischer Durchtränkung ist, die durch die Blockade der Zellatmung möglich wird, vielleicht als Ausdruck des Verlustes der gerichteten Permeabilität (HOEBER, EPPINGER). Wenn auch unsere Versuche zu einer weitgehenden Deutung dieser Sachverhalte nicht geeignet sind, so fällt doch auf, daß durch die gleiche Giftart die prinzipiell gleichen Veränderungen, wenn auch in verschiedenen Stadien ihrer Ausbildung, hervorgerufen werden.

Die Veränderungen nach Vergiftung durch Monojodacetat sind ganz anders geartet. Hier fallen vor allem die Plasmaausgüsse und Umgießungen der relativ wenig beschädigten Tubuli auf. Es kommt zu einer Desintegration der Rinde durch die zwischengelagerten Plasmamassen ohne tiefere, in der kurzen Zeit der Beobachtung entstehende Schädigung der Nephrone. Offenbar steht hier die Störung der Permeabilität ganz im Vordergrund.

*Der manometrische Nachweis der Zellatmungsbehinderung dient der besseren Untermauerung unserer früher erhobenen Befunde des morphologischen Äquivalentbildes der histotoxisch bedingten Hypoxydose (DOERR und BECKER; BECKER und FREY), die an der Niere, am Herzmuskel und an der Bauchspeicheldrüse den gestaltlichen Veränderungen entsprachen, die nach BÜCHNER für den allgemeinen Sauerstoffmangel charakteristisch sind.* Darüber hinaus erlauben uns die geschilderten Versuche einige methodische Feststellungen:

Wenn wir die beschriebenen morphologischen Ergebnisse mit denen der Messung im Warburg-Apparat vergleichen, so ist bemerkenswert, daß die Protoplasmaveränderungen im histologischen Bild eher zu erfassen sind als im manometrischen Versuch. Sicher ist dies bei der intravitalen, intraarteriellen Vergiftung methodisch bedingt, es zeigt aber auch, daß die *histologisch erkennbare Protoplasmaveränderung einen sehr präzisen und empfindlichen Indicator für derartige Stoffwechselvorgänge darstellt*. Eine histologische Kontrolle lohnt sich daher bei jeder, wie auch immer gearteten, manometrischen Untersuchung und stellt nicht nur eine wertvolle, sondern eine geradezu notwendige Ergänzung der Versuche im Warburg-Apparat dar.

Die unterschiedliche Empfindlichkeit der angewandten Methoden machte die oben beschriebene doppelte Dosierung der Fermentgifte notwendig. Um einen manometrischen Effekt zu erhalten, genügt es

nicht, die Zellen *in vivo* in ihrer Atmung zu hemmen, falls der Inhibitor leicht in die Außenflüssigkeit diffundieren kann. Dies wirft ein besonderes Licht auf die Untersuchungen im Warburg-Apparat an peroral oder parenteral vergifteten oder irgendwie sonst in ihrem Zellstoffwechsel alterierten Tierorganen. In diesem Zusammenhang müssen die Untersuchungen über die *trübe Schwellung* genannt werden. Die überlebende Zelle ist mit den Giftstoffen in einem osmodynamischen Gleichgewicht, das geändert wird, wenn statt des Blutmilieus ein normotonisches Milieu geschaffen wird: Die Konzentration des Giftes in der Zelle sinkt mit dem Einbringen in die Krebs-Ringer-Lösung.

Die experimentellen Bedingungen bei *in vivo*-Versuchen sind bei intraarteriellen Organvergiftungen leichter zu übersehen als bei Gesamtkörpervergiftungen. Die gezielten Versuche lassen auch Schlüsse auf vergleichend histologische und manometrische Ergebnisse früherer Untersucher zu, besonders auf die manometrischen Arbeiten bei der trüben Schwellung.

Unsere Untersuchungen unterscheiden sich von denen GROLLS, der die trübe Schwellung der Nieren histologisch, chemisch und manometrisch untersuchte, methodisch dadurch, daß wir von einem experimentell gesetzten, einigermaßen übersehbaren histotoxischen Schaden der Zellatmung ausgingen. GROLL dagegen untersuchte Nieren 72—96 Std, nachdem das kontralaterale Organ exstirpiert worden war, um festzustellen, ob die trübe Schwellung der Nierenepithelien einer Erniedrigung oder Erhöhung der Zellatmung entspräche. Wenn wir nachweisen können, daß die leicht abspülbare Noxe — Malonat, Cyankalium — aus methodischen Gründen im Reaktionsgefäß keine Schädigung der Zellatmung mehr hervorrufen kann, so besteht die Möglichkeit der Auswaschung einer Noxe bei den Versuchen GROLLS nicht. Dennoch kann man hier eine Parallele sehen. Im Falle einer trüben Schwellung ist das normale Gefälle des Zellstoffwechsels vermutlich durch Anhäufung schädigender Stoffwechselendprodukte in Unordnung gebracht, d. h. das „stete Ungleichgewicht“ nähert sich einem mehr oder weniger stabilen Gleichgewicht. Durch die Stoffwechselendprodukte werden auch die intakten Fermentsysteme blockiert. Es läßt sich leicht vorstellen, daß durch Einbringung des Gewebes in die isotonische Krebs-Ringer-Lösung die Stoffwechselendprodukte in die umgebende Flüssigkeit diffundieren können, so daß die blockierten Fermentsysteme wieder frei werden: Auch hier ist manometrisch keine oder eine nicht reale Veränderung der Atmung meßbar. Wenn wir auch keine Erfahrung mit Organschnitten bei der trüben Schwellung haben, halten wir es doch für möglich, daß die Verschiedenheit der Ergebnisse der früheren Untersucher auf dieser methodischen Schwierigkeit beruht, die wir mit unserer

Methode besser erfassen können. Dafür spricht, daß die Ergebnisse der manometrischen Zellatmungsbestimmung bei der Entzündung (GROLL; TILK; BENDA, LOCKER und RISSEL, dort weitere Literatur) und bei wachsendem Gewebe (WARBURG; BORGER; NEUHAUS) immer eindeutig eine Erhöhung der Atmung zeigten. Hier sind die atmenden Ferment-systeme vermehrt, so daß keine Abdiffusion eingebrachter Stoffe oder Stoffwechselprodukte stattfinden kann. Hier kann der Spüleffekt keiner atembeeinflussende Wirkung haben.

Wenn GROLL (1925) aus seinen Untersuchungen schließt, daß „wir in der Messung des Sauerstoffverbrauches des überlebenden Gewebes eine wichtige Methode zur Feststellung solcher Zellschädigungen vor uns haben, die dem morphologischen Nachweis entgehen“, so haben wir nach unseren Untersuchungen den Eindruck, daß sehr häufig das histologische Bild einen viel empfindlicheren und zeitlich früher ansprechbaren Indicator für Zellstoffwechseländerungen darstellt.

#### *Zusammenfassung.*

Bei der Injektion eines Giftes der fermentativ gesteuerten Zellatmung entstehen, wie wir schon früher zeigen konnten, Protoplasma-veränderungen, die von dem Sitz und dem Grade der Blockade in der Zellatmungskette abhängig sind. Qualitativ entsprechen sie in vieler Hinsicht denen, die bei der allgemeinen Hypoxie (Unterdruckversuche) von BÜCHNER und seinen Schülern ausgearbeitet worden sind. Daß diese Veränderungen, die nicht mit der Vergrößerung der Giftdosis zunehmen, sondern durch die Wichtigkeit des blockierten Stoffwechselweges limitiert sind, einer Verminderung der biologischen Oxydation entsprechen, geht aus unseren manometrischen Versuchen hervor.

Unter Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen, die von der Haftfähigkeit des jeweiligen Giftes abhängen, gelingt es, eine manometrische Atembehinderung im Warburg-Apparat festzustellen, so daß die morphologischen Bilder als Äquivalente der gestörten Zellatmung angesprochen werden dürfen. Die Empfindlichkeit der histologisch sichtbaren Veränderungen — vacuolige Entmischung des Protoplasma — als Indicator für Störungen des Zellstoffwechsels wird betont.

#### *Literatur.*

- ALTMANN, H. W.: Verh. Dtsch. Path. Breslau 1944. Ref. Zbl. Path. **83**, 57 (1945). — Frankf. Z. Path. **60**, 376 (1949). — BECKER, V., u. R. FREY: Arch. Kreislaufforsch. **19**, 252 (1953). — BENDA, L., A. LOCKER, E. REISETBÄUER u. E. RISSEL: Z. exper. Med. **118**, 583 (1952). — BORGER, G.: Krkh.forsch. **7**, 104 (1931). — BÜCHNER, F.: Verh. Dtsch. Path. Breslau 1944, S. 20. Ref. Zbl. Path. **83**, 53 (1945). — Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946, Bd. 70. — DOERR, W.: Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl. **1949**. —

**14** V. BECKER und E. RIEKEN: Untersuchungen über die Zellatmung in der Niere.

Verh. dtsch. Ges. Path. **36**, 316 (1952); **37** (1953). — DOERR, W., u. V. BECKER: Verh. dtsch. Ges. Path. **35**, 222 (1951). — EPPINGER, H.: Die Permeabilitäts-pathologie. Wien 1948. — GROLL, H.: Verh. dtsch. Ges. Path. **20**, 424 (1925). — Krkh.forsch. **2**, 195 (1926); **5**, 126 (1929). — GRUNDMANN, E.: Beitr. path. Anat. **111**, 36 (1950). — HAMBURGER, J., u. G. MATHÉ: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 277. — HOEBER: Zit. nach EPPINGER. — KETTLER, L. H.: Virchows Arch. **315**, 587 (1948). LETTERER, E.: Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946, Bd. 70. — Allgemeine Pathologie, Bd. I, S. 6. — MARTIUS, C.: Erg. Enzymforsch. **8**, 246 (1939). — NEUHAUS, C.: Dtsch. med. Wschr. **1929**, Nr 17. — PICHOTKA, J.: Beitr. path. Anat. **107**, 117 (1942). — QUASTEL, I. H., and WOOLDRIDGE: Biochem. J. **15**, 689 (1923). — RÖSSLER, R.: J.kurse ärztl. Fortbildg **9**, 3 (1918). — TILK, E.: Krkh.forsch. **7**, 94 (1931). — WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926. — ZOLLINGER, H. U.: Amer. J. Path. **24**, 545 (1948).

Dr. VOLKER BECKER, Berlin,  
Pathologisches Institut der Freien Universität.

---