

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. med. G. HOLLE).

**Über manometrische, histochemische, histologische
und phasenoptische Befunde bei ischämischer Hypoxydose.
(Beitrag zur Morphogenese und zur Frage des örtlichen Gewebstodes*).**

Von

G. HOLLE, R. BURKHARDT, S. ARNDT und M. BLÖDORN.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Februar 1955.)

Das auf uns überkommene Bild der Zelle entwickelte sich aus der gestaltlichen Betrachtung und wurde zunächst rein morphologisch definiert (Zellmembran, Protoplasma, Zellkern usw.). Dementsprechend sind auch Begriffe wie Degeneration und Nekrose, obwohl sie Lebensvorgänge umschreiben, aus der mikroskopischen Betrachtung anatomischer Zustände erwachsen. Gelingt es, zahlreiche und untereinander verschiedene Zustandsbilder zu beobachten, so läßt sich unter Einhaltung bestimmter Regeln durch Bildung von Übergangsreihen der Vorgang bis zu einem gewissen Grade erschließen. Insofern ist auch die morphologische Methode allein geeignet, an der Beantwortung physiologischer Fragen mitzuwirken.

Es hat sich jedoch gezeigt, daß die im Lichtmikroskop und nach vorgängiger Färbung erkennbaren Zustandsmerkmale der Zelle sowohl unter orthologischen als auch pathologischen Bedingungen zahlenmäßig begrenzt sind. Man kann in diesem Zusammenhang von einer „Monotonie der morphologischen Symptomatik“ (LETTERER) sprechen. Daraus ergibt sich, daß bestimmte, im Mikroskop erkennbare Zustandsbilder (trübe Schwellung u. a.) vieldeutig sind und keineswegs mit der wünschenswerten diagnostischen Sicherheit gehandhabt werden können. Das wirkt sich bei der praktischen Beurteilung histologischer Befunde insofern aus, als Begriffe wie etwa derjenige der „Degeneration“ neuerdings stark in Mißkredit geraten sind oder ganz abgelehnt werden (GROLL, TERBRÜGGEN), da sie keine eindeutige biologische Wertigkeit besitzen.

Im Gegensatz zu dieser Einengung und Relativierung rein gestaltlicher Erkenntnismöglichkeiten kann die physiologisch-chemische Erforschung der Zelle auf eine stürmische Entwicklung zurückblicken. Dabei ist eine große Zahl chemischer Umsetzungen, Katalysen und Stoffwechselvorgänge bekanntgeworden, denen das herkömmliche morpho-

* Aus den Mitteln eines Forschungsauftrages des Staatssekretariats für Hochschulwesen der DDR.

logische Zellbild zunächst nicht gerecht zu werden vermag. Man hat diesen Tatbestand vielfach so gedeutet, daß in der Größenordnung derjenigen Aggregate, welche als Träger der submikroskopischen Struktur des Protoplasmas gelten, gestaltliche Vorstellungen eine untergeordnete Rolle spielen. Solche Zweifel verborgen sich auch hinter Formulierungen wie der folgenden Umkehrung unserer bisherigen Definition, daß „die Zelle ein Gebilde mit Stoffwechsel“ sei, „aus dessen Art heraus die Form der Zelle resultiere“ (LETTRE).

Es hat sich jedoch gezeigt, daß die morphologische Betrachtungsweise gerade durch diejenigen Methoden erneut belebt worden ist, die sie überwunden zu haben schienen. Sowohl mit den Mitteln der Kolloidchemie als auch der Physik ist es gelungen, unterhalb der lichtoptischen Sichtbarkeitsgrenze Protoplasmastrukturen nachzuweisen (HÖBER, FREY-WYSSLING) und zu einem neuen räumlichen Gesamtbild zusammenzufügen. Dieses bildet gegenwärtig nicht nur die Grundlage zum Verständnis der meisten mikroskopischen Befunde, sondern erweist sich gleichzeitig als fruchtbare Modellvorstellung, der sich die meisten biochemischen, pharmakologischen und physikalischen Forschungsergebnisse zwanglos einordnen lassen. Insbesondere die von ganz anderen Voraussetzungen ausgehende Fermentforschung bedient sich dieses Modells in zunehmendem Maße. So sollen zahlreiche Fermente (Oxydasen, Reduktasen u. a.) an bestimmten Strukturkolloiden des Protoplasmas derart verankert sein, daß eine gewisse räumliche Reihenfolge der Stoffwechselreaktionen gesichert ist (HÖBER). GREEN spricht neuerdings in diesem Zusammenhang von einer „Organisation“ oder „Geographie“ der Fermente in der Zelle und macht für deren Wirksamkeit nicht nur die chemische Konstitution, sondern ihre Stellung im Gesamtsystem, das „Arrangement“, verantwortlich. Wir möchten auf diese Ähnlichkeit fermentchemischer Vorstellungen mit der Begriffsbildung der Morphologie nachdrücklich hinweisen. Man kann darin einen Beweis dafür sehen, daß Funktion und Gestalt auch in der Größenordnung molekularer Aggregate wesentliche und eng aufeinander bezogene Teileigenschaften der belebten Materie darstellen.

Diese neueren Vorstellungen vom Feinbau der Zelle sind im Gegensatz zur *Statik* des Zellbildes der klassischen mikroskopischen Anatomie durch die *dynamische* Natur des Protoplasmabauens ausgezeichnet. So konnte nachgewiesen werden, daß die das Zelleiweiß konstituierenden Polypeptidketten einem ständigen Auf- und Abbau unterliegen und daß die funktionelle Bedeutung bestimmter Molekülkonfigurationen in Beziehung zu diesen Austauschvorgängen steht. Daraus ergibt sich, daß auch für die Aufrechterhaltung der Struktur eine kontinuierliche Energiezufuhr erforderlich ist (OPITZ). Man kann diesen Sachverhalt auch so formulieren, daß im molekularen Bereich Funktion und Struktur

nahezu identisch sind. Die Struktur ist dabei das Ergebnis eines labilen Gleichgewichtes und kann allein auf energetischem Wege gestört werden. So läßt sich beispielsweise der Zelltod als derjenige Augenblick eines Reaktionsablaufes definieren, in dem durch Unterbrechung der Energiezufuhr oder -verwertung über einen kritischen Punkt hinaus irreversible Strukturschäden auftreten, die zu einer gesetzmäßig ablaufenden Auflösung der Zelle führen. Dabei ist sowohl der energetischen als auch der morphologischen Seite des Vorganges Rechnung getragen. Nekrose und Nekrobiose lassen sich allerdings im Rahmen einer solchen Definition nicht mehr scharf gegeneinander abgrenzen. Wir müssen es als eine zukünftige Aufgabe der mikroskopischen Anatomie und gestaltlichen Zellforschung betrachten, von der Seite der Struktur her möglichst enge Beziehungen zu bestimmten Funktionsabläufen der Zelle herzustellen, um auf diesem Wege die immer breiter werdende Kluft zwischen Morphologie und Physiologie zu überbrücken.

Wenn wir in den vorliegenden Untersuchungen regressive Zellveränderungen am Beispiel der ischämischen Hypoxydose (STRUGHOLD, BÜCHNER) studierten, so waren dafür 2 Tatsachen maßgebend. Seit den Untersuchungen BÜCHNERS und seiner Schule ist die pathogenetische Bedeutung des Sauerstoffmangels allgemein anerkannt. Es handelt sich um eine ätiologisch besonders gut charakterisierte Form der Zellschädigung. Dagegen fehlen noch immer Untersuchungen über Art und Reihenfolge der dabei auftretenden innerprotoplasmatischen Stoffwechselstörungen und ihr gestaltliches Äquivalent (BECKER). In Anbetracht der Vielfalt chemischer und fermentativer Umsetzungen ist anzunehmen, daß die Auswirkungen des Sauerstoffmangels in der Zelle bei den verschiedenen Hypoxydoseformen differieren.

Die Ischämie als Methode zur Erzeugung von Zell- und Gewebsuntergang ist alt (LITTEN), aber bis in die neueste Zeit immer wieder geübt worden (KETTLER). Dabei ist es zu Meinungsverschiedenheiten darüber gekommen, ob die beobachteten Zellschädigungen als Folge der Hypoxydose oder einer begleitenden Zirkulationsstörung zu betrachten sind. Für die Niere kompliziert sich die Fragestellung weiterhin dadurch, daß bei erhaltener oder wiederhergestellter Zirkulation (BRODERSEN, KETTLER) die Tubuluszellen zusätzlich der Einwirkung des Glomerulusfiltrates ausgesetzt sind. Enthält dieses Filtrat infolge der vorausgegangenen Ischämie „heterolytische Substanzen“, so wäre die Nierenepithelzelle nicht nur durch Sauerstoffmangel und Blutumlaufstörung, sondern noch zusätzlich durch das Auftreten schädigender Fermente in der Kanälchenlichtung bedroht. KETTLER hat in diesem Zusammenhang die Vermutung ausgesprochen, daß insbesondere das Sichtbarwerden von Nekrose („Nekrophanerose“) von der Einwirkung pathologischer Glomerulusfiltrate abhängig sei.

Wir haben uns in den eigenen Untersuchungen verschiedener Methoden bedient und den Nachdruck auf den Versuch gelegt, möglichst enge Korrelationen zwischen physiologisch-chemischen und morphologischen Tatbeständen herzustellen. Die Ergebnisse der manometrischen Bestimmung der Gewebsatmung erwiesen sich dabei als brauchbarer Maßstab zur Beurteilung sowohl fixierter und gefärbter als auch überlebender Zellen. Demgegenüber geben die histochemischen Nachweismethoden für Oxydäsen und Dehydrasen, wie sich zeigen wird, lediglich über das Verhalten begrenzter Teilabschnitte der Atmungsfermentkette Aufschluß. Diese sind gegen Schädigung offenbar wesentlich resistenter als der intracelluläre Atemmechanismus in seiner Gesamtheit.

Material und Methode.

Die vorliegenden Untersuchungen stützen sich nach Abzug zahlreicher Vorversuche auf Experimente an 44 jugendlichen Meerschweinchen mit einem Durchschnittsgewicht von 350—400 g. Die Tiere waren den gleichen Aufzuchts- und Fütterungsbedingungen unterworfen. Bei jedem Versuchstier wurde in leichter Äthernarkose eine Ligatur der linken Nierenarterie vorgenommen, während die Vene durchgängig blieb. Die Operationen erfolgten unter streng aseptischen Kautelen, ihre Dauer betrug durchschnittlich 15 min. Im einzelnen gingen wir so vor, daß nach Eröffnung der Bauchhöhle der Nierenstiel freigelegt, die A. renalis isoliert, mit dem Dechamp unterfahren und mit Catgut ligiert wurde. Dabei konnten mechanische Reizungen und Blutverlust soweit reduziert werden, daß eine stärkere Alteration der Gefäßnerven und damit Störungen der intrarenalen Blutverteilung ausblieben. Die rechte, unversehrte Niere diente mit gewissen Einschränkungen, auf die wir zurückkommen müssen, als Vergleichsobjekt. Daneben erwies es sich jedoch als notwendig, eine Anzahl von Kontrolluntersuchungen an Tieren auszuführen, die keinem operativen Eingriff unterzogen worden waren.

Die Absperrung der arteriellen Blutzufuhr bis zur Tötung der Tiere erstreckte sich über folgende Zeiträume: 15 min, 30 min, 45 min, 1, 1 $\frac{1}{2}$, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 18 und 24 Std. Zur Kontrolle der ermittelten Ergebnisse dienten für jede Zeitstufe jeweils 3 Tiere. Die Tötung erfolgte durch Nackenschlag und nachfolgender Dekapitation. Nach der Entblutung wurden beide Nieren unter Biegeln mit eisgekühlter Ringerlösung im Kühlraum bei 4° so schnell als möglich herauspräpariert, gewogen, in 4 gleiche Teile zerlegt und folgenden Untersuchungsmethoden zugeführt: 1. der manometrischen Bestimmung der Gewebsatmung nach WARBURG, 2. dem histochemischen Nachweis oxydierender und reduzierender Fermente mit Hilfe der Gewebsnadi- und TTC-Reaktion, 3. einer phasenoptischen Untersuchung aufgeschwemmter

Zellen sowie 4. der histologischen Kontrolle mit verschiedenen Färbe-methoden, die insbesondere der Darstellung der Mitochondrien dienen sollten.

Ergebnis der manometrischen Untersuchungen.

Methodische Vorbemerkung. Die zur Bestimmung der Atemgröße dienende Viertelniere wurde bei weiterer fortlaufender Kühlung mit Ringerlösung unter Beachtung der Grenzschichtdicke mit dem Rasiermesser in Schnitte zerlegt und in die vorgekühlten Reaktionsgefäße gebracht. Wir beschickten 3 Gefäße mit je 2 Schnitten der abgebundenen und 2 Gefäße mit je 2 Schnitten der unversehrten Niere. Von der Tötung bis zur Einbringung der Atemgefäße in den Thermostaten vergingen durchschnittlich 14 min. Als Suspensionsflüssigkeit in den Trögen verwandten wir die Phosphatringerlösung nach FRUNDER. Sie wurde nach den von ihm angegebenen Vorschriften hergestellt und das p_{H} mit der Glaselektrode kontrolliert. Es hielt sich während des Versuches in den Grenzen zwischen 7,3—7,4.

Nach 15 min Temperaturausgleich wurde zum erstenmal abgelesen und weiterhin 3mal nach je 15 min, so daß die gesamte Inkubationszeit im Thermostaten 60 min nicht überstieg. Damit sind die Standardbedingungen für die Messung der O_2 -Aufnahme von KREBS erfüllt. Die Schüttelgeschwindigkeit betrug 100 bis 105 Schwingungen/min bei einer Amplitude von 6 cm. Auf Grund der in der Beobachtungszeit von 45 min festgestellten Druckänderungen wurde die Atemgröße nach WARBURG errechnet. Nach Beendigung der Beobachtung verbrachten wir die Schnitte kurz in destilliertes Wasser, sodann auf Deckgläschchen zur Trocknung für 80 min bei 105°. Im unmittelbaren Anschluß daran erfolgte die Wägung, wobei die Schnitte außerdem zur Verhinderung einer neuerlichen Wasseraufnahme im Exsikator über CaCl_2 aufbewahrt wurden. Die Schnittdicke lag zwischen 0,2 und 0,3 mm.

Tabelle 1.

| Zeit-stufe | Dauer der Abbindung | $Q_{O_2} = \frac{\text{mm}^3 O_2}{\text{mg} \times \text{Std}}$ | ΔQ_{O_2} | | Frischgewicht g | | |
|------------|---------------------|---|------------------|----------------------------|-----------------|------|----|
| | | | je Zeit-stufe | Prozent des Anfangswertes* | G. | K. | |
| Nr. | Std | G. | K. | K. | K. | G. | K. |
| 1 | 0,25 | 12,6 | 12,9 | unbestimmt | 1,75 | 2,8 | |
| 2 | 0,5 | 12,9 | 13,1 | | 1,7 | 2 | |
| 3 | 0,75 | 14,5 | 12,4 | | 1,45 | 2,3 | |
| 4 | 1 | 13,3 | 11,7 | | 1,2 | 1,5 | |
| 5 | 1,5 | 13,2 | 11,3 | | 1,6 | 2,1 | |
| 6 | 2 | 13,5 | 11,4 | | 1,85 | 2,65 | |
| 7 | 3 | 13,4 | 8 | | 1,65 | 2,3 | |
| 8 | 4 | 15 | 8,5 | | 1,55 | 2 | |
| 9 | 5 | 13,1 | 6,3 | | 1,3 | 2,5 | |
| 10 | 6 | 13,8 | 3,2 | | 1,5 | 2,2 | |
| 11 | 8 | 15,7 | 3 | | 1,5 | 2,2 | |
| 12 | 10 | 15 | 2 | | 1,7 | 2,3 | |
| 13 | 12 | 13,2 | 1,8 | | 1,5 | 3 | |
| 14 | 15 | 13,9 | 0,8 | | 1,5 | 2 | |
| 15 | 18 | 14,6 | 2 | | 1,35 | 2,2 | |
| 16 | 24 | 14 | 0,4 | | 1,4 | 3,2 | |

* $\Delta Q_{O_2} = 13$.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Werte auf den 16 Zeitstufen errechnen sich aus dem Durchschnitt mehrerer, in der Regel dreier Versuche. Die Spalten 3 und 4 geben die Mittelwerte der verbrauchten Sauerstoffmengen in der unbundenen und unversehrten Niere wieder, während in den Spalten 5 und 6 derjenige Sauerstoffbetrag verzeichnet ist, um den auf jeder Zeitstufe die Atmung unter den Anfangswert einer gesunden Niere abfällt. Die Werte in Spalte 6 sind unmittelbar untereinander vergleichbar, weil sie auf die Dauer einer Stunde umgerechnet sind.

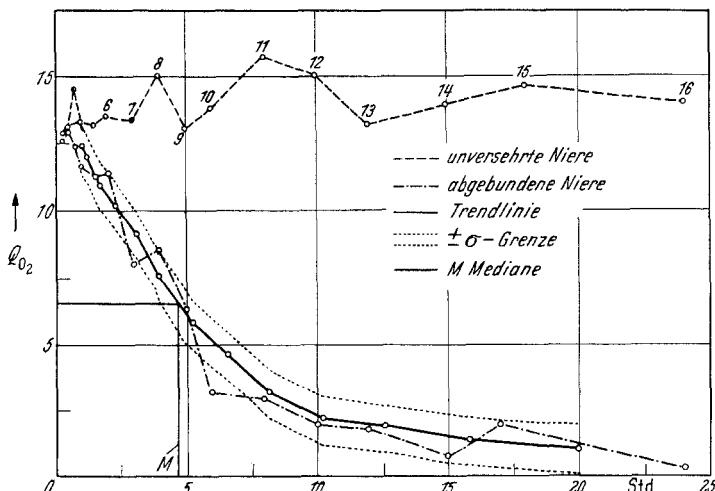


Abb. 1. Graphische Darstellung der Manometerwerte in der normalen und abgebundenen Niere.

Eine graphische Darstellung der gefundenen Werte gibt die Abb. 1. Dabei zeigt die Kurve für das Absinken der Atemintensität in der unbundenen Niere einige Unregelmäßigkeiten. Das beruht offenbar auf der Tatsache, daß sich die einzelnen Kurvenpunkte aus Durchschnittswerten berechnen, die naturnotwendig mit individuellen Schwankungen (Variationen in der Gefäßversorgung der einzelnen Niere usw.) behaftet sind, welche sich erst bei einer sehr viel größeren Zahl von Versuchen ausgleichen würden. Zur Ausschaltung derartiger Zufallseinflüsse errechneten wir nach der Methode der gleitenden Durchschnitte (GEBELEINHEITE) den „Trend“, d. h. den wahrscheinlichen Verlauf der Kurve für den Atemabfall. Diese Trendlinie ist dann als richtig anzusehen, wenn mehr als $\frac{2}{3}$ aller tatsächlichen Meßwerte innerhalb der positiven und negativen Standardabweichung liegen. Für die eigenen Messungen erfüllen 13 von 16 Versuchswerten diese Forderung, womit wir die Trendlinie als bereinigte Kurve für den Abfall der Atmung betrachten können. Auf der Kurve ist endlich die Mediane (Halbwertzeit) als derjenige

Zeitpunkt im Kurvenverlauf vermerkt, in dem die Atmung um 50% des Ausgangswertes abgesunken ist. Dies ist zwischen der 4. und 5. Std bei 4,6 Std der Fall.

Für die Atemkurve der unversehrten, nicht unterbundenen Niere haben wir auf die Errechnung einer Trendlinie verzichtet. Sie zeigt namentlich in den ersten 15 Std große Schwankungen, deren Bedeutung aus unseren Experimenten nicht eindeutig hervorgeht. Sie lassen aber erkennen, daß auch die nicht unterbundene Niere im Verlauf unserer Experimente eine Beeinträchtigung erfährt. Wir werden auf diese Frage zurückkommen müssen.

Aus der Kurve geht zunächst hervor, daß ihr Verlauf einer Exponentialfunktion von der allgemeinen Gleichung

$$y = a e^{-Kx}$$

entspricht. Für eine weitere Interpretation ist die Tatsache von Bedeutung, daß die Reaktionsgeschwindigkeit von Enzymen dem Massenwirkungsgesetz folgt und durch die Geschwindigkeit angegeben werden kann, mit der die Konzentration einer reagierenden Substanz in einem System abnimmt. Dabei wird die Reaktionsgeschwindigkeit als Konzentration dividiert durch Zeit angegeben (HÖBER). Bei dieser Beziehung können folgende Möglichkeiten realisiert werden:

1. Die Konzentrationsabnahme ist der Zeit direkt proportional, es werden also in gleichen Zeitintervallen gleiche Substratmengen abgebaut, so daß ein linearer Verlauf der Kurve resultiert. Die Gleichung für diesen Fall lautet:

$$x = k \cdot t$$

(x = die in der Zeiteinheit t verschwindende Substratmenge).

2. Nimmt bei einer Reaktion nur die Konzentration einer Substanz ab (monomolekularer Verlauf), so kann die Abnahme in der Zeiteinheit einen ganz bestimmten Bruchteil der jeweil noch vorhandenen Substratmenge ausmachen, woraus eine stetige Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit resultiert. Als Sonderfall dieser Beziehung ist ein solcher denkbar, bei dem in aufeinanderfolgenden gleichen Zeitintervallen jeweils 50% der vorhandenen Substratmenge aus dem System verschwindet, bzw. in eine andere Form übergeführt wird. Man kann dadurch die Reaktionskinetik eines Enzyms in ähnlicher Weise mit Hilfe einer Halbwertzeit definieren, wie die Erscheinung des radioaktiven Zerfalls. Die allgemeine Gleichung für einen monomolekularen Verlauf lautet:

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x)$$

(a = vorhandene, x = umgesetzte Substratmenge), und nach Integration:

$$kt = 2,303 \log \frac{a}{a-x}.$$

Ein derartiger monomolekularer Mechanismus kann auch da angenommen werden, wenn zwar, wie dies meist der Fall ist, mehrere Substrate im Spiel sind, die Konzentration aber nur des einen so niedrig ist, daß der Betrag, um den sie sich ändert, ins Gewicht fällt. Die anderen können dann mathematisch vernachlässigt werden. Aus den vorstehenden Gleichungen geht weiter hervor, daß der Geschwindigkeitskoeffizient unabhängig von der Konzentration der reagierenden Substanz ist. Man kann diesen Sachverhalt auch so formulieren, daß die Halbwertzeit einer monomolekularen Reaktion in keiner Beziehung zur Anfangskonzentration der vorhandenen Substratmengen steht.

3. Nehmen an einer Enzymreaktion 2 oder mehrere reagierende Molekülgruppen teil, so spricht man von einer bi- oder multimolekularen Reaktion. Dabei ist die Geschwindigkeit proportional dem Produkt der reagierenden Konzentrationen. Die Gleichung lautet für diesen Fall:

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x) (b - x)$$

oder in integraler Form

$$(b - a) kt = \ln \frac{a (b - x)}{b (a - x)}.$$

Eine derartige Kurve unterscheidet sich vom monomolekularen Verlauf durch eine größere Steilheit im Anfangsteil und einen langsameren Reaktionsablauf auf den höheren Zeitstufen (HÖBER).

Im Falle der eigenen Messungen bringt die Kurve das Nachlassen der Wirksamkeit von Protoplasmaoxydasen in der Zeiteinheit zum Ausdruck. Nimmt man dabei an, daß die Atemintensität bzw. der Sauerstoffverbrauch des Nierengewebes der Zahl intakter Fermentgruppen entspricht, so kann das Absinken des Sauerstoffverbrauchs als unmittelbarer Maßstab für die strukturelle Desorganisation und den Abbau der entsprechenden Fermentmoleküle gelten. Dieser Abbau der Reaktivität gehorcht dabei insofern den Gesetzen einer mono- bzw. bimolekularen Reaktion und damit der allgemeinen Reaktionskinetik, als auch hier aus dem Kurvenverlauf eine ständige Abnahme der Abbaugeschwindigkeit hervorgeht. Man könnte diesen Sachverhalt so formulieren, daß bei Sauerstoffmangel ein Eigenabbau des Oxydasemoleküls erfolgt, der mit der gleichen Geschwindigkeit abläuft wie die oxydative Aufspaltung eines anderen Substrates.

Die Entscheidung, ob es sich dabei um eine mono- oder bimolekulare Reaktion handelt, vermögen wir zunächst nur auf Grund gedanklicher Überlegungen zu treffen. Da an der intracellulären Oxydation zahlreiche und in ihrem molekularen Aufbau differente Fermentgruppen beteiligt sind (DIXON), muß man vermuten, daß auch der Abbau dieser Fermente bei Sauerstoffmangel als Reaktion zweiter oder höherer Ordnung abläuft. Tatsächlich liegt die Form unserer Kurve etwa in der Mitte

zwischen den Kurvenbildern für Reaktionen erster und zweiter Ordnung. Man könnte daraus mit aller Zurückhaltung schließen, daß in unserem Falle eine bi- bzw. multimolekulare Reaktion mit ungleicher Anfangskonzentration der zerfallenden Fermentgruppen vorliegt (HÖBER).

Als wichtigstes Ergebnis unserer Messungen möchten wir die Tatsache auffassen, daß der Abbau der Oxydasen nach Ischämie in der Art einer Halbwertzeitkurve verläuft. Die Zeit bis zum Verschwinden der Hälfte der Atemintensität beträgt annähernd 4,6 Std.

Daraus läßt sich zunächst die biologisch wichtige Erkenntnis ableiten, daß der Abbau bzw. die Inaktivierung des Oxydasemoleküls bei ischämischer Hypoxydose anfangs schnell, später aber immer langsamer erfolgt. Die Halbwertzeit gestattet dabei eine gewisse Orientierung über das Ausmaß der Fermentdesorganisation in der Zeiteinheit. Wir werden uns dieses Mittels bei der Deutung morphologischer Befunde während des Absterbens der Nierenepithelien bedienen.

Aus der in der Kurve zum Ausdruck kommenden Gesetzmäßigkeit geht weiter hervor, daß der anfängliche Kurvenabfall bei konstanter Halbwertzeit um so steiler sein muß, je höher die Anfangskonzentration des betreffenden Substrates ist. In unserem Falle würde das bedeuten, daß die Zahl der in der Zeiteinheit inaktivierten Fermentgruppen eine Funktion ihrer Anfangskonzentration ist. Betrachtet man die Masse der im Protoplasma einer Zelle vorhandenen Fermentgruppen als Ausdruck ihrer Differenzierungshöhe, so ergibt sich daraus die mathematische Formulierung des bekannten biologischen Tatbestandes, daß die Empfindlichkeit einer Zelle z. B. gegen Ischämie mit ihrem Differenzierungsgrad ansteigt.

Der Kurvenverlauf innerhalb der ersten 30 min (Zeitstufe 1 und 2) nach Gefäßunterbindung ist uncharakteristisch und deckt sich nicht vollständig mit den bisher dargestellten Gesetzmäßigkeiten. Das beruht auf der Tatsache, daß hier die Werte der unterbundenen und unverehrten Niere so wenig differieren, daß die Unterschiede innerhalb der Fehlergrenzen liegen. Aus diesem Grunde konnten wir im Rahmen unserer Untersuchungen auch nicht den Nachweis erbringen, daß die Atemintensität unmittelbar nach Gefäßligatur zunächst geringfügig ansteigt, obwohl einzelne Messungen einen gewissen Anhalt dafür geben.

Nach 15stündiger Ligatur ist die Atemgröße auf 8% des Anfangswertes abgesunken. Da von dieser Zeit an die Ausschläge der Manometer unter der Genauigkeitsgrenze liegen, haben wir auf eine weitere Festlegung von Kurvenpunkten verzichtet. So konnte auch der Zeitpunkt des endgültigen oder fast endgültigen Erlöschens der Atmung nicht eindeutig festgelegt werden. Bei Berücksichtigung des histologischen Bildes möchten wir vermuten, daß der jenseits der 15-Std-Grenze meßbare Sauerstoffverbrauch ein solcher tiefer gelegener Teile des Nephrons

darstellt. Die Epithelien der Sammelröhren sind nämlich zu dieser Zeit noch gut erhalten, da sie einen niedrigeren Differenzierungsgrad besitzen und auf dem Wege über das Nierenbecken durch einen Kolateralkreislauf arterielles Blut erhalten.

Histologische Befunde bei ischämischer Hypoxydose.

Untersuchungstechnik. Fixierung des lebensfrischen Materials nach BOUIN, REGAUD und mit neutralem Formalin. Färbung mit dem Trichromgemisch in der Modifikation nach GOLDNER, nach ALTMANN zur Darstellung der Mitochondrien, mit Hämatoxylin-Eosin, und nach VAN GIESON. — Die Präparate jedes Versuches wurden nach einheitlichen Gesichtspunkten und unter Zugrundelegung eines Beurteilungsschemas ausgewertet. Auf eine Wiedergabe der ausführlichen Untersuchungsprotokolle wird aus räumlichen Gründen verzichtet.

1. Zirkulationsstörungen.

Bei Berücksichtigung neuerer Untersuchungen von KETTLER war von vornherein zu erwarten, daß bei isolierter Arterienligatur keine komplette Anämie der Niere zu erreichen ist. Das beruht auf dem Vorhandensein kollateraler Zuflüsse von seiten des Nierenbeckens und der Nierenkapsel. Da diese jedoch zur Aufrechterhaltung einer Ersatzzirkulation unzureichend sind, kommt es lediglich zu passiver Blutüberfüllung des ligierten Organs. Schon nach einer Unterbindung von 15 min Dauer färbt sich die Niere dunkelrot (s. hierzu LITTEN). Diese Verfärbung geht mit einer beträchtlichen Größen- und Gewichtszunahme einher. Nach 1stündiger Ligatur erreicht die Schwellung und Rötung ihren Höhepunkt und klingt allmählich wieder ab. Nach 48 Std sind die Organe nicht mehr von den Kontrollen zu unterscheiden.

Als Ursache dieser Schwellung findet sich im histologischen Präparat sowohl ein beträchtliches Lymphödem als auch Hyperämie der Rindenkapillaren. Das Lymphödem umgibt sowohl die Glomerula (Abb. 2a) als auch die Blutgefäße an der Markrindengrenze (Abb. 2b). Es ist bereits innerhalb der 1. Std voll entwickelt und begleitet das histologische Bild auf sämtlichen Zeitstufen der Unterbindung. Eine Beziehung zu den manometrisch gemessenen Atemwerten besteht nicht.

Lymphstauungen schwächeren Grades sieht man auch in der Niere der Gegenseite. Sie erreichen zwischen der 1. und 5. Std eine gewisse Ausdehnung, um sich dann wieder zurückzubilden. Man muß diesen Befund als Zeichen dafür betrachten, daß die Ligatur einer Nierenarterie auch bei subtiler Technik die Lymphzirkulation des anderen Organs beeinträchtigt, und zwar offenbar nur vorübergehend. Auf die Bedeutung dieser passageren Lymphstauung für die kompensatorisch arbeitende Niere kommen wir zurück.

Die Blutfüllung der Capillaren, die sich bis zu schwerer Stase steigern kann, erreicht erst jenseits der Stundengrenze ein größeres Ausmaß.

Sie strebt zwischen der 3. und 6. Std einem Höhepunkt zu, um jenseits der 8. Unterbindungsstunde wieder abzuklingen. Eine quantitative Beurteilung derartiger Zirkulationsstörungen ist schwierig, da der Füllungszustand der Blutgefäße in den Nieren verschiedener Versuchstiere selbst auf den gleichen Zeitstufen außerordentlich wechselt. Schwerste Stase

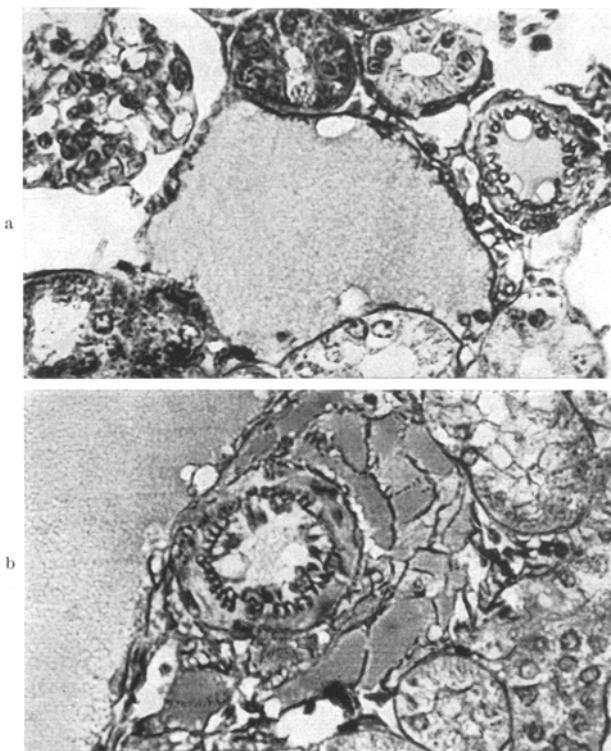


Abb. 2a u. b. Meerschweinchenniere. Lymphstauung nach Arterienligatur. a periglomerulär, b perivasculär. Trichrom nach GOLDNER. Vergr. 300fach.

oder nahezu regelrechte Blutfüllung beobachtet man sowohl bei kurzfristigen als auch bei langdauernden Ligaturen, ohne daß sich eine Beziehung zu den stets gleich- und gesetzmäßig absinkenden Atemwerten auffinden läßt. Auch eine eindeutige und im histologischen Schnitt ablesbare Korrelation zwischen dem Grad der Zirkulationsstörung und dem Zustand der Hauptstückepithelien konnten wir nicht herstellen.

Noch uneinheitlicher erwiesen sich die Befunde an den Glomerulis. Wir haben hier den Zustand des Grundhäutchens, den Inhalt der Kapselräume und die Blutfüllung der Capillaren einer Beurteilung unterzogen. Aufquellung des Grundhäutchens, also das Bild der Glomerulonephrose

ist bei Nierenischämie ein nahezu gesetzmäßiger Befund. Wir haben ihn als Ausdruck eines hypoxydotischen Membranschadens aufgefaßt, zumal ähnliche Beobachtungen bei Sauerstoffmangel bereits aus der BÜCHNERSchen Schule vorliegen (ALTMANN). Am wenigsten charakteristisch ist der Füllungszustand der Glomerulumcapillaren. Die Lich- tung enthält ohne Beziehung zur Dauer unserer Experimente bald reich- lich, bald nur vereinzelte Erythrocyten. In der Regel ist der Gehalt an Erythrocyten aber gering. Demgegenüber sieht man im BOWMAN- schen Kapselraum bei längerer Versuchsdauer (3 Std und länger) mit ziemlicher Regelmäßigkeit feinkörnige Eiweißniederschläge. Sie stellen auf den höheren Zeitstufen den konstantesten Befund am Zirkulations- apparat der Niere dar, wenn auch mit starken quantitativen Unter- schieden. Was die Herkunft dieser zweifellos krankhaften Ausfällungen anbetrifft, so ist in erster Linie an eine krankhafte Durchlässigkeit der Glomerula zu denken. Außerdem haben wir die Möglichkeit einer krank- haften Rückstauung von Zellzerfallsprodukten aus der Hauptstück- lichtung erwogen, zumal die Tubulusepithelien in diesem Stadium be- reits Auflösungerscheinungen zeigen. Die dabei abschmelzenden lich- tungsnahen Zellteile besitzen im Goldner-Präparat eine gewisse fär- berische und strukturelle Ähnlichkeit mit dem Inhalt der Kapselräume. Auch ist der Halsteil des Nephrons beim Meerschweinchen nach Arterien- ligatur auffallend weit, so daß auch die räumlichen Voraussetzungen für einen Rückfluß gegeben sind. Eine sichere Entscheidung dieser Frage ist mit morphologischen Mitteln nicht möglich.

Nach KETTLER sollen derartige Glomerulusfiltrate heterolytische Fermente enthalten und als eigentliche Ursache für das Sichtbarwerden von Nekrose zu betrachten sein. Die gedankliche Prämisse dieses Schlusses besteht in der Annahme, daß Nekrophanerose „erst nach Einwirkung des aus der Blutbahn ausgetretenen Serums“ erfolge. KETTLER geht weiterhin von der Beobachtung aus, daß nach 2stündiger totaler Ischämie, also Sperrung sämtlicher arterieller Zuflüsse mit Dekapsulation und Einhüllung der Niere, bei Wiederdurchblutung zunächst die Hauptstücke nekrotisch gefunden werden, also diejenigen Teile des tubulären Apparates, die dem Glomerulum am nächsten liegen. Das Erhaltenbleiben der tiefer gelegenen Teile des Nephrons wird mit der bald einsetzenden Stase in Zu- sammenhang gebracht, welche die Filtration der Glomerula wieder einschränkt und die Proteinurie zum Erlöschen bringen soll. Schaltstücke und Sammelröhren seien also deshalb nicht als nekrotisch erkennbar, weil das heterolytische Glomerulus- filtrat sie nicht mehr erreiche.

Wir können uns auf Grund allgemeiner Erwägungen und der eigenen Befunde dieser Deutung nicht anschließen. Zunächst entbehrt eine so uneingeschränkte Annahme von proteinurischer Heterolyse des sicheren experimentellen Beweises. Vor allem aber hegen wir Zweifel an der Richtigkeit der Annahme, daß zur Ent- stehung von Nekrophanerose der Austritt von Serum aus der Blutbahn eine *unumgänglich* notwendige Voraussetzung sei. Dagegen sprechen Formen der Nekrose, wie etwa diejenige von Ganglienzellen, welche sich rein autolytisch vollziehen, ohne daß die Mitwirkung eines Extravasates dabei zu erkennen wäre (s. hierzu HÖPKER). Eine andere Frage ist, in welchem Umfang plasmatische oder seröse Ergüsse den

Nekrosevorgang zu unterstützen oder *modifizieren* vermögen, wie dies unter dem Einfluß von Calciumionen (BAUER, CAIN) als Koagulation des Protoplasmas beschrieben worden ist.

Aus unseren Befunden geht weiterhin hervor, daß die besondere Empfindlichkeit der Hauptstückepithelien bei Ischämie eine solche gegen Sauerstoffmangel ist und auf dem großen Energiebedarf und hohen Enzymgehalt dieser Zellen beruht. Dieser ist es, der die glomerulusnahen Epithelien zum Absterben bringt, während die tieferen Abschnitte des Nephrons infolge ihres beträchtlich niedrigeren Differenzierungsgrades überleben. Wenn KETTLER ein schnelleres Absterben von Epithelien bei unvollständiger Gefäßligatur beobachten konnte und dies auf eine erhaltene Glomerulusfiltration bezieht, so sind wir im Rahmen unserer Experimente auch hier zu einer anderen Auffassung gekommen. Nekrose ist ein vitaler Vorgang und als solcher an das Erhaltenbleiben eines gewissen Stoffwechselminimums gebunden. Wird dieser völlig unterbrochen (Blausäure, BÜCHNER), so verfällt die Zelle in eine Art Leichenstarre ohne Zeit oder Gelegenheit zu besitzen, sich in jenen Zustand umzubilden, der definitionsgemäß als Nekrose bezeichnet wird. Dies ist im Gegensatz zu partiellen Durchblutungsstörungen (isolierte Unterbindung der Nierenarterie) offenbar auch bei totaler Ischämie der Fall und wir können uns deshalb nicht wundern, wenn in der Versuchsanordnung von KETTLER das Sichtbarwerden von Nekrose nur sehr verzögert einsetzt. Wir werden auf die verschiedenen Entstehungsbedingungen der ischämischen Nekrose noch einmal an späterer Stelle zurückkommen.

2. Degeneration und Nekrose des Hauptstückepithels.

Bereits eine erste Durchsicht unserer Präparate ergab gesetzmäßige Veränderungen an den Hauptstücken, die, entsprechend den gewählten Unterbindungszeiten, in kontinuierlicher Reihe bis zu den bekannten Merkmalen des Zelltodes führen. Sie betreffen Weite und Inhalt der Tubuluslichtungen, Größe und Beschaffenheit der Zellen und schließlich eindrucksvolle Veränderungen im Bereich der Zellorganellen (Mitochondrien, Bürstensaum).

Die Hauptstücklichtungen völlig gesunder Meerschweinchen sind eng bis mittelweit, wobei der Zustand innerhalb einer Niere entsprechend dem Funktionszustand wechselt (Abb. 3a). Das gleiche trifft für die nicht-unterbundene Kontrollniere zu, obwohl hier die Tubuli bereits eine gewisse Ausweitung erkennen lassen. Demgegenüber kommt es nach Ligatur der Nierenarterie zu einer ganz beträchtlichen und zunehmenden Weitstellung der Hauptstücke (Abb. 3b). Sie äußert sich bereits jenseits der 1. Std und nimmt auf den weiteren Zeitstufen ständig zu, um bis zum Schluß der Versuche anzuhalten. Am Beispiel dieser Weitstellung läßt sich die „Mitreaktion“ der nichtunterbundenen Kontrollniere besonders gut verfolgen. Die Epithelien erweiterter Kanälchen sind abgeflacht.

In einer ausführlichen Untersuchung hat neuerdings HEINZEL zur Frage der formalen Genese des Gestaltwandels der Harnkanälchen Stellung genommen. Danach stellen Epithelien und Grundhüütchen nach Art eines Tonnengewölbes ein sich gegenseitig stützendes System dar, das einerseits durch Veränderungen der eigenen plastischen Bestandteile, andererseits durch Umgebungskräfte verformt

werden kann. Dabei tritt eine *Umfangzunahme* bei Vergrößerung der Epithelzellen, nach Anstieg des Harndruckes sowie nach Dehnung des Zwischengewebes etwa infolge eines interstitiellen Ödems auf. Im Gegensatz dazu wird die *Abnahme* des Kanälchenumfangs durch Verkleinerung der Epithelzellen und einen Anstieg des Blutdruckes in den interstitiellen Capillaren bewirkt. Die bei passiver Dehnung des Kanälchenumfangs auftretende Abflachung des Epithels soll auf eine „nahezu unbegrenzte Verformbarkeit“ dieser zelligen Wandelemente hinweisen.

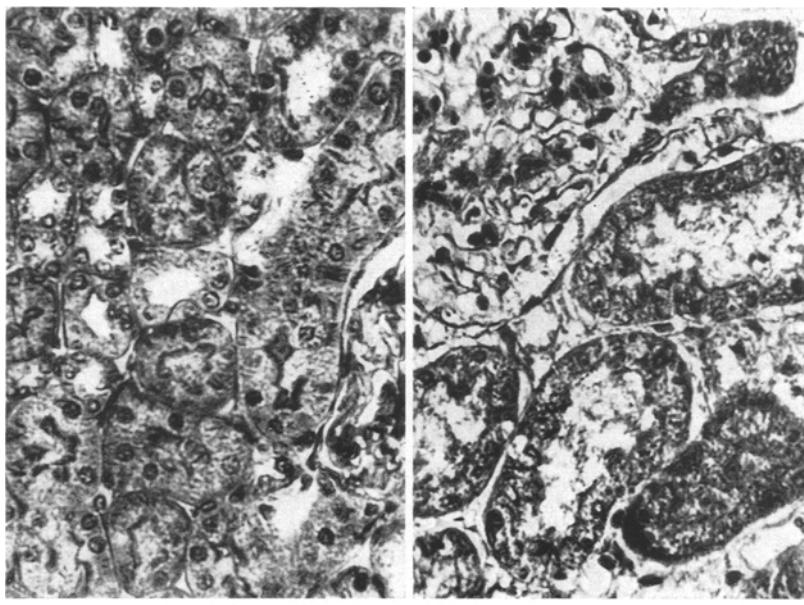


Abb. 3a u. b. Meerschweinchenniere. Hauptstücke a normal, b nach Arterienligatur.
Trichom nach GOLDNER. Vergr. 300fach.

Wir sehen in diesen Untersuchungen einen wichtigen Beitrag, der auch die Klärung der eigenen Befunde fördert. Da eine Weitstellung der Kanälchen durch Vergrößerung der Epithelien nicht oder nur in den Anfangsstadien der Ischämie in Betracht kommt, und ein vermehrter Harndruck von vornherein ausschaltet, sehen wir in dem bereits beschriebenen Ödem die Hauptursache für die Weitstellung der Tubuluslichtung. Es ist also nicht eine Erkrankung der Kanälchen selbst, sondern eine mehr oder weniger passive Dehnung, die allerdings, worauf HEINZEL besonders hinweist, durch Vergrößerung der rückresorbierenden Oberfläche bestimmte funktionelle Konsequenzen besitzt. Auch die Mitreaktion der nichtunterbundenen Niere möchten wir, soweit die Erweiterung der Tubuluslichtung zur Debatte steht, als Folge einer vorübergehenden Ödematisierung durch Lymphstauung werten (s. hierzu VIRCHOW, ZUNTZ, SARRE und MOENCH, ZOLLINGER, BECKER).

Die Abflachung der Hauptstückepithelien geht dabei der Erweiterung der Lumina insofern nicht vollkommen parallel, als sich gleichzeitig oder schon vorher die innere Begrenzung der Epithelien aufzulösen beginnt, wobei der Eindruck entsteht, daß sich Teile des lichtungsnahen Protoplasmas den amorphen Eiweißmassen in der Lichtung beimischen. Die große Quellungsbereitschaft des inneren Saumes der Hauptstückepithelien ist bekannt (v. MÖLLENDORF) und scheint diesen Vorgang zu unterstützen. Ob es sich dabei um eine degenerative Abstoßung geschädigten Protoplasmas oder um echte Sekretion handelt, läßt sich rein histologisch

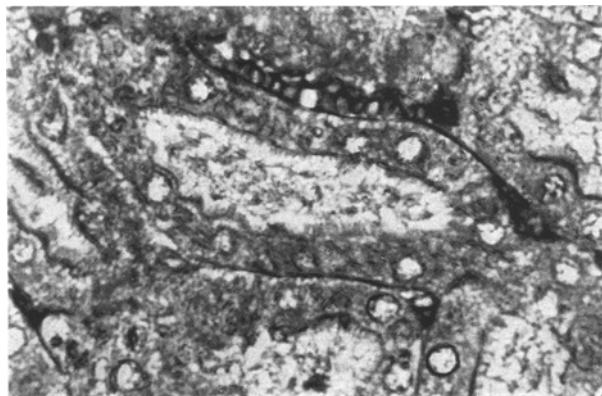


Abb. 4. Meerschweinchenniere. Hauptstück mit „Bürstensaum“. Trichrom nach GOLDNER. Vergr. 450fach.

nicht entscheiden. Demgegenüber ist die innere Begrenzung der Epithelien im Vergleichsorgan in der Regel scharf. Wir möchten in dem erwähnten Eiweißverlust der Epithelien eine zweite Ursache der allmählichen Verschmälerung der epithelialen Kanälchenauskleidung sehen. Man beobachtet ihn schon nach Unterbindungszeiten von 30 min und möglicherweise liegt hier bereits eine erste Schädigung durch Ischämie vor.

Als weiteren gestaltlichen Ausdruck einer Schädigung haben wir bereits bei kurzdauernden Gefäßdrosselungen „vacuolige Degeneration“ gesehen. Man sieht diesen Befund bei Ischämie insgesamt selten; er spielt bei dieser Form der Zellschädigung offenbar nur eine untergeordnete Rolle (DOERR, KETTLER). Eine eindeutige Beziehung zum Grad der Hypoxydose besteht nicht.

In dem Bestreben, an den Epithelien der Hauptstücke Frühsymptome der ischämischen Hypoxydose aufzufinden, stießen wir in einer Anzahl von Nieren auf einen besonders gut erhaltenen „Bürstensaum“. Die Bilder sind in solchen Fällen außerordentlich eindrucksvoll, da nahezu sämtliche Hauptstücke diese Strukturen erkennen lassen (Abb. 4). Da

die von uns gewählten Fixierungs- und Färbemethoden der Konservierung dieser empfindlichen Strukturen nicht besonders angepaßt waren (s. v. MÖLLENDORF), handelt es sich offenbar um solche Organe, in denen die Saumbildung von vornherein stark ausgeprägt war. Man ist zu dieser Annahme um so leichter berechtigt, als der Bürstensaum von Nierenepithelien neuerdings, im Gegensatz zu älteren Autoren (v. MÖLLENDORF), nicht als konstant vorhanden, sondern als Ausdruck besonderer Funktionszustände gedeutet wird (BECHER, H. FISCHER, BARGMANN). Dabei möchten wir uns der Meinung derjenigen Untersucher anschließen, die hier weniger einen echten Wimpersaum als vielmehr röhrenförmige Poren vermuten, die dem Stoffaustausch zwischen Lichtung und Epithelzelle dienen (hierzu SJÖSTRAND und RHODIN). Derartige scharf strukturierte, breite und leicht erkennbare Poresäume fanden sich mit wenigen Ausnahmen bei kurzen Unterbindungszeiten zwischen 30 min und 2 Std. In der Kontrollniere konnten wir sie nicht feststellen. Wir haben bei der Deutung dieser Befunde an eine Leistungssteigerung der betreffenden Epithelien gedacht. Doch sieht man auch in solchen Fällen bereits „Abschmelzung“ des Epithels, also Merkmale der Katabiose. Vielleicht erklären sich diese Widersprüche mit der Annahme einer Art zweiphasischen Reaktion, bei der es nach anfänglicher Leistungssteigerung infolge zunehmenden Sauerstoffmangels zur „Degeneration“ der betreffenden Kanälchenabschnitte kommt. Da, wie sich zeigen wird, in diesem Stadium auch die Mitochondrien regressive Veränderungen erkennen lassen und die Atemintensität in der Warburg-Apparatur schnell absinkt, ist dieser Schluß auf Herabsetzung der vitalen Reaktionen besonders zwingend.

Die eindrucksvollsten und einer Deutung am leichtesten zugängigen Befunde konnten wir an den Mitochondrien erheben, wobei wir uns der ALTMANNschen Färbung in Verbindung mit phasenoptischen Untersuchungen bedienten. Über die letzteren wird in einem besonderen Abschnitt berichtet werden. Man sieht im gefärbten Schnitt von Nieren gesunder Tiere oder von Kontrollorganen deutlich parallel gerichtete und im proximalen Teil des Nephrons dichter gelagerte faden- und stäbchenförmige Gebilde, auf denen zu einer Kette gereiht, kleinste Körnchen liegen, die sich nach ALTMANN blauschwarz anfärben (Abb. 5a). Dagegen bleiben die Fäden ungeschwärzt und lassen sich färberisch nur schwer vom übrigen Protoplasma unterscheiden. Fehlen die Körnchen oder ist ihre Lagerung weniger dicht, so kommt die stab- oder fadenförmige Grundstruktur des Protoplasmas besonders gut zur Darstellung.

Da bei den meisten färberischen Darstellungen der seit BENDA bekannten und als Mitochondrien bezeichneten Feinstrukturen der Hauptstückepithelien (v. MÖLLENDORF, SHOWACRE) neben feinsten Körnchen die erwähnten fädigen Bestandteile des Protoplasmas beobachtet wurden, zieht sich die Auseinandersetzung über das gegenseitige Verhältnis beider Strukturelemente wie ein roter Faden durch die

Literatur der vergangenen Jahrzehnte. Ohne dieser im ganzen unfruchtbaren Kontroverse im einzelnen nachzugehen, lassen sich 2 grundsätzliche Einstellungen zu diesem Fragenkomplex unterscheiden. Während die eine Gruppe von Forschern (BENDA, ARNOLD, v. MÖLLENDORF) fädige und körnige Protoplasmaelemente für identisch erklärt, und die wechselhafte Darstellbarkeit lediglich auf die Labilität und übergroße Empfindlichkeit gegenüber den benützten chemischen Reagentien bezieht, treten andere für eine strenge Trennung ein (DISSE, TH. ROTHSTEIN). So bezeichnet C. HIRSCH 1910 die Stäbchen als „Protoplasmaverdickungen“, die von gleichzeitig vorhandenen granulären Elementen vollständig unabhängig seien. TH. ROTHSTEIN hält die Stäbchen für Bestandteile eines Fadengerüstes, in dessen Maschen die Granula liegen. Da auch moderne molekularpathologische Vorstellungen (FREY-WYSSLING u. a.) von einer faden- und netzförmigen Grundstruktur des Zellprotoplasmas ausgehen, verdienen die zuletzt genannten Vorstellungen stärkere Beachtung. Durch die in neuester Zeit entwickelte Technik der Trennung von Protoplasmabestandteilen mit Hilfe der Ultrazentrifuge und die damit gegebene Möglichkeit chemischer Analysen, ist das morphologische Problem der erwähnten Strukturbeziehungen stark in den Hintergrund getreten, ohne bisher gelöst zu sein.

Die eigenen Befunde sprechen, wie noch einmal besonders hervorgehoben sei, für eine gesonderte Existenz fädiger und körniger Strukturen. Dabei stellen die fadenförmigen Elemente zweifellos die labileren Bildungen dar, da man sie selbst im Phasenmikroskop nur in seltenen Fällen zu Gesicht bekommt. Ihre verhältnismäßig häufige Nachweisbarkeit im fixierten und gefärbten Schnittpräparat lassen sie als eine Art Halbartefakte erscheinen, die offenbar erst durch künstliche Verstärkung latenter Vitalstrukturen der Beobachtung zugängig werden. Die genannten Tatsachen haben uns zu der Annahme gedrängt, daß wir in den fadenförmigen Protoplasmastrukturen weniger statische Zellstrukturen als durch den Resorptionsstrom gerichtete makromolekulare bzw. micellare Polypeptidgerüste vor uns haben, deren Vorhandensein und Nachweisbarkeit funktionsbedingt ist. Nur so läßt sich auch die sonst unverständliche Tatsache erklären, daß über die Eigenart dieser Gebilde trotz intensivster Bearbeitung durch zahlreiche und bedeutende Histologen keinerlei Übereinstimmung erzielt werden konnte. Neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen von SJÖSTRAND und RHODIN haben gleichfalls das Vorhandensein endocellulärer Membranen ergeben, zwischen denen die Mitochondrien liegen, Befunde also, die sich mit unseren Vorstellungen decken. Da Anzahl und Dichte der Lagerung dieser fädigen Elemente innerhalb des Nephrons nach distal abnimmt (T. SUZUKI) und nach neueren Untersuchungen über die Rückresorption von Eiweißkörpern (RANDERATH, LAMBERT, OLIVER) die verschiedenen Molekülgrößen einer ähnlichen Verteilung unterliegen, wird die Beziehung dieser Fadenstrukturen zur resorptiven Leistung auch von dieser Seite her deutlich. Was die gestaltliche Beziehung der als Mitochondrien bezeichneten Körnchen oder Kurzstäbchen zu diesen fadenförmigen Strukturen betrifft, so kann die gegenseitige Verknüpfung nur eine sehr

lose sein. Das geht schon aus der Beobachtung hervor, daß man im Phasenmikroskop nach Läsion der Zellmembran das Herausrollen der Mitochondrien aus dem Protoplasma beobachten kann, die sich im Suspensionsmilieu dann wie selbständige Gebilde verhalten. Im Protoplasma solcher Zellen ist in diesem Stadium in der Regel keinerlei besondere Struktur mehr nachzuweisen. Wir haben uns deshalb die hypothetische Vorstellung gebildet, daß die parallel gelagerten Polypeptid-

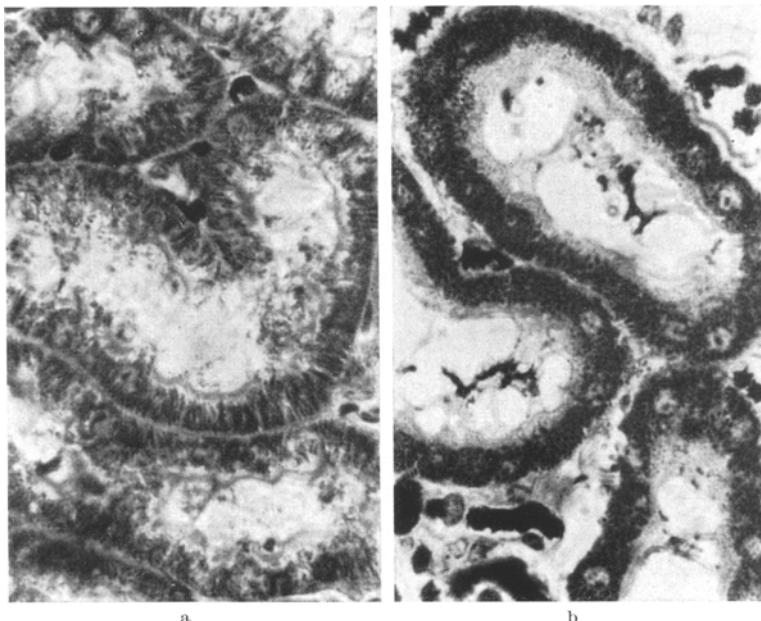


Abb. 5a u. b. Meerschweinchenniere. Hauptstücke mit Mitochondrien. a normal, b nach Arterienligatur. ALTMANN. Vergr. 450fach.

ketten nur äußerst lose Bindungen (Adhäsionskräfte ?) zu den Mitochondrien besitzen, die schnell und schon durch minimale Eingriffe gelöst werden können. Die biologische Bedeutung dieser labilen Fadenstrukturen, die wie die Kraftlinien eines Magneten die *Ausrichtung* der zwischen ihnen liegenden Mitochondrien bewirken, beruht möglicherweise auf einer Art Kanalisation des Resorptionsstromes und der Garantie einer bestimmten Reihenfolge der Fermentreaktionen (GREEN). Wir sind uns des Hypothetischen dieser Gedankengänge bewußt.

Ein Verlust dieser Fadenstruktur gehört an den Hauptstückepithelien zu den frühesten Befunden bei ischämischer Hypoxydose. Man erkennt ihn bereits an der ungeordneten Lagerung der Mitochondrien (Abb. 5 b). Bei guter Anfärbung läßt sich gelegentlich die Auflösung der Fäden andeutungsweise auch im Mikroskop verfolgen.

Der Prozeß setzt bereits nach Blutsperre von 30—60 min ein und ist nach 2stündiger Ligatur bereits abgeschlossen. Man sieht in solchen Fällen form- und mengenmäßig unveränderte Mitochondrien ungeordnet im Protoplasma liegen. Im einfachen Hämatoxylin oder van-Gieson-Schnitt erscheint die Zelle im übrigen vollkommen „normal“.

Aber auch an den Mitochondrien selbst kommt es innerhalb der erwähnten Unterbindungszeiten bereits zu Anzeichen eines Gestaltwandels. Zunächst fällt eine Schwellung und quantitative Abnahme der Granula auf, die jenseits der 8.—10. Unterbindungsstunde in eine allmähliche Verklumpung übergeht. Später kommt es zur völligen Auflösung der Körnchen. Dieser allmähliche Abbau der cellulären Fermentträger ist außerordentlich charakteristisch für Ischämie und zeigt eindeutige Beziehungen zum Absinken der manometrisch gemessenen Atemintensität. Wir möchten in ihm das eigentliche Substrat für das Nachlassen der Fermentleistung sehen. Die besondere morphologische Eigenart dieses Gestaltwandels kommt im gefärbten Schnittpräparat nur andeutungsweise und höchst unvollkommen zum Ausdruck. Wir müssen deshalb bei Besprechung der phasenoptischen Bilder ausführlich auf diese Frage zurückkommen.

Nach längeren Unterbindungszeiten treten dann die bekannten Merkmale der Nekrose in den Vordergrund des histologischen Bildes. So sieht man Pyknose, Karyolyse und am Protoplasma das typische Bild der acidophilen Koagulation. Die zeitliche Grenze nach unten bildet etwa die 6. Std, womit sich die eigenen Zeitangaben über den Eintritt von Nekrose mit denjenigen anderer decken (BÜCHNER und LOUCADU, MOEGEN, KELLNER und ROBERTSON).

3. Veränderungen an den übrigen Abschnitten des Nephrons.

Die Befunde unterscheiden sich nur quantitativ von den bisher erwähnten, so daß wir uns kurz fassen können. Auch im Bereich des Zwischenstückes entwickelt sich eine allmähliche Erweiterung der Kanälchenlichtung. Doch vollzieht sich das Absterben der Zellen weniger dramatisch, offenbar infolge der geringeren Differenzierungshöhe. Die Epithelzellen enthalten hier schon physiologischerweise nur noch wenige Mitochondrien und sind frei von fädigen Protoplasmastrukturen. Es fehlen also gerade diejenigen Bestandteile des Protoplasmas, die gegen Sauerstoffmangel besonders empfindlich sind. Das gleiche gilt in verstärktem Maße für die Sammelröhren, deren Epithelien auch nach 15stündiger Ischämie morphologisch unverändert sind. Auch die Glomerula verändern sich innerhalb der von uns gewählten Unterbindungszeiten nicht, wenn man von der erwähnten Quellung des Grundhautchens absieht. Das Erhaltenbleiben der tieferen Teile des Nephrons bedingt

möglicherweise das stark verlangsamte Absinken der Atemkurve jenseits der 15. Unterbindungsstunde.

Wir können zu den histologischen Untersuchungsergebnissen *abschließend* feststellen, daß sich nach Arterienligatur an der Meerschweinchenniere sowohl Kreislaufstörungen als auch katabiotische Epithelveränderungen im Hauptstück des Nephrons finden. Zwischen beiden Erscheinungen bestehen keine eindeutigen und aus dem histologischen Präparat ablesbaren Beziehungen. Die Kreislaufstörungen in Gestalt von capillärer Hyperämie oder Stase und Proteinurie stellen zwar häufige, aber keine gesetzmäßige Begleiterscheinungen der Ischämie dar. Für das Absinken der manometrisch gemessenen Atemintensität kommen sie ursächlich nicht in Betracht. Dagegen kommt es mit großer Regelmäßigkeit zu Epithelveränderungen, deren Intensität und Ausdehnung der Dauer der Gefäßsperre entspricht. Das wichtigste Substrat dieses Epithelschadens besteht in einem Gestaltwandel der Mitochondrien, der deutliche Beziehungen zu den Manometerwerten besitzt und als unmittelbare Folge der ischämischen Hypoxydose zu betrachten ist. Erhält man die Gefäßsperre lang genug aufrecht, so kann man den Übergang derartiger Epithelveränderungen in Nekrose beobachten.

Der histochemische Nachweis der Oxydasen und Reduktasen.

Der Nachweis oxydierender und reduzierender Zellfermente im Gewebsschnitt hat in jüngster Zeit große Bedeutung erlangt, wobei insbesondere das Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) infolge seiner leichten Handhabung und der in Gestalt von Formazankristallen bequemen Nachweisbarkeit häufig benutzt worden ist (JERCHEL, FLECKENSTEIN und BERG, LAKON, MATTSON, JENSON und DUTCHER, KNOTH, DOERR, STIER u. a.). TTC läßt sich sowohl *in vivo* (DOERR) als auch am überlebenden Gewebsschnitt verwenden, wobei es sich am lebenden Tier als ziemlich starkes Gift erweist. Dabei bilden Zahl und Größe der intracellulär ausfallenden Formazankristalle den Maßstab für die Intensität der dehydrierenden Zellfermente, wodurch sich ganz bestimmte Reaktionstypen für die verschiedenen Zell- und Gewebssysteme ergeben. Organe, die sich in einem gesteigerten Funktionszustand befinden, weisen eine erhöhte Anfärbarkeit auf (v. HAYEK und THUNS). Keine völlige Übereinstimmung herrscht über die Lokalisationsorte der Kristallentstehung. Seit man die Mitochondrien als Träger der Atmungsfermente betrachtet, ist die Frage dahin entschieden, daß die Kristalle in der Umgebung dieser Zellorganellen ausfallen. Da sie größer als diese sind, kommen die Mitochondriengranula selbst für die Formazanbildung nicht in Betracht. Zellen, die nur wenige Mitochondrien enthalten, zeigen auch eine schwache TTC-Reaktion. Der Nachweis von Reduktasen mit Hilfe von TTC ist auch an Bakterien geglückt. In neuerer Zeit benützt man die Substanz in steigendem Maße zum Nachweis von Zellschädigungen (DOERR, BECKER), wobei sich aber erhebliche Differenzen hinsichtlich der Brauchbarkeit dieser Methode ergeben haben (hierzu SCHÜMMELFEDER), auf die wir noch zurückkommen.

Die Gewebsnadireaktion nach GRAEFF kann insofern als gesicherte Nachweismethode für Zelloxydasen gelten, als trotz gewisser Einwände (HOLLANDE) das reaktionsbeschleunigende Agens der Indophenolblausynthese als identisch mit dem

WARBURGSchen Atemferment betrachtet wird (THUNBERG). Auch die Tatsache, daß nach Erhitzen des Gewebes jede Reaktion ausbleibt, spricht für diese Tatsache. Die Zahl der einschlägigen Untersuchungen ist aber vergleichsweise zum TTC gering. Das scheint uns darauf zu beruhen, daß der Reaktionseffekt hier weniger eindeutig ist. Das Nachlassen der Fermentaktivität läßt sich nämlich nicht so sehr durch die geringere Zahl der gefärbten Granula, als durch einen Farbumschlag von reinblau zu einem schmutzig graublau oder violett ablesen. Dieses im Vergleich zur TTC-Reaktion unterschiedliche Verhalten beruht auf der Tatsache, daß sich die Indophenolblausynthese in den Mitochondrien selbst vollzieht und bei deren Zerfall ihr anatomisches Substrat verliert. Bei Berücksichtigung dieser Besonderheit stellt die Gewebsnadireaktion aber eine ebenso zuverlässige Reaktion dar, wie diejenige mit TTC. Die Gewebsnadireaktion am fixierten Material, die wir gleichfalls erprobten, ist zur Beurteilung eines Zellschadens ungeeignet. Mit ihr wird offenbar nur ein chemisches Teilstabstrat des Atemmechanismus der Zelle erfaßt, das durch den Gewebstod kaum eine Veränderung erfährt. Dementsprechend fällt die Reaktion auch bei sicherer Nekrose noch positiv aus.

Methodik. Die lebensfrisch entnommenen Nieren wurden in 2 mm dicke Scheiben zerlegt und für 2 Std in Ringerlösung ($p_{\text{H}} = 7,3$) verbracht, der TTC zugesetzt war. Die Lösung muß jeden Tag frisch angesetzt werden, da sie sich bei längerem Stehen durch bakterielle Verunreinigung rötet. Danach 24ständige Fixierung in 4% Formalin und anschließende Herstellung von Gefrierschnitten, die zur besseren Beurteilung mit Hämatoxylin gegengefärbt wurden.

Die Gewebsnadireaktion erfolgte nach GRAEFF am unfixierten Material nach den Vorschriften von ROMEIS.

Untersuchungsergebnisse.

a) *Bei Anwendung der TTC-Reaktion.* Schon die makroskopische Besichtigung gestattet Schlüsse auf den Ausfall der Reaktion. Normale Nieren sowie auch die jeweiligen Vergleichsorgane zeigen bereits nach 10—15 min eine deutliche Rotfärbung, die sich besonders im Rindenbereich verstärkt und schließlich eine purpurrote Tönung annimmt. Die Papillenspitzen bleiben immer blaß. Unterschiede an der unterbundenen Niere treten erst nach 5—6 Std auf. Bis zu diesem Zeitpunkt zeigt auch das gedrosselte Organ die gleiche kräftige Rötung. Zwischen der 12. und 15. Std ist die Rötung nahezu erloschen. Jenseits der 16. Unterbindungsstunde sind die Organe auch nach TTC-Behandlung völlig blaß. Die Anfärbung des Gewebes tritt nicht ein, wenn vorher Formalinfixierung stattfand. Die besten Ergebnisse erzielt man im dunklen Raum sowie an den Flächen der Gewebsstücke, die der Wand des Farbtropfes anliegen, wahrscheinlich infolge einer Behinderung der Sauerstoffdiffusion mit gleichzeitiger Begünstigung reduktiver Prozesse (PAU).

Die mikroskopische Untersuchung glycerineingebetteter Gefrierschnitte gibt Auskunft über Form und Verteilung der Formazankristalle. Man sieht in der normalen Niere eine besonders reichliche Ablagerung in der Rinde mit Ausnahme eines schmalen kapselnahen Randstreifens (Inaktivierung der Fermente durch Luftsauerstoff? DOERR). Es wechseln aber auch hier kristallarme Bezirke mit solchen reichlicher Kristallausfällung, wahrscheinlich als Ausdruck der nicht immer gleichen funk-

tionellen Beanspruchung verschiedener Nephrone. In den Hauptstückepithelien sieht man gröbere Formazankristalle in etwas geringerer Zahl, in den Schaltstücken zartere in beträchtlicher Menge. Die Zellkerne bleiben immer farbstofffrei, worin sich ihre Fermentarmut dokumentiert. Von den HENLESchen Schleifen stellen sich nur die dickeren Schenkel

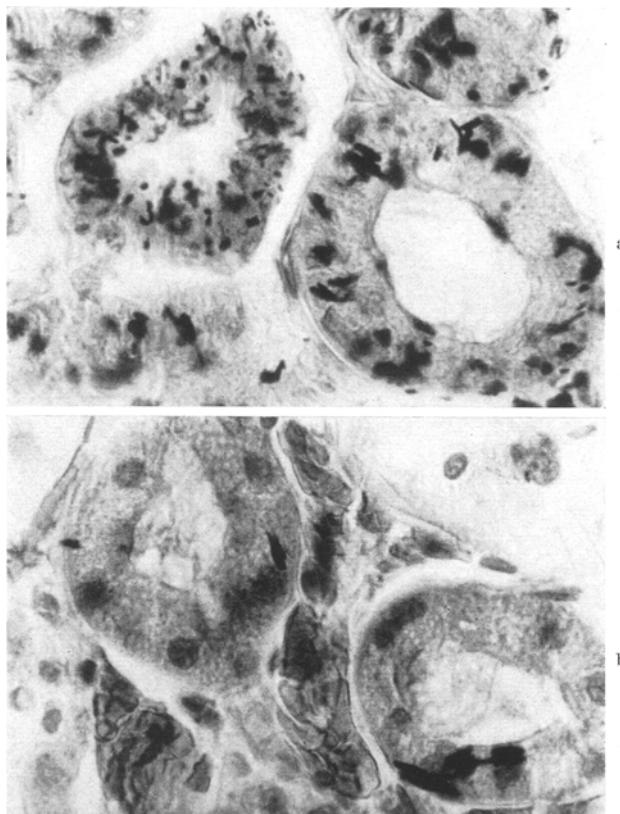


Abb. 6a u. b. Meerschweinchenniere. Hauptstücke bei TTC-Reaktion. a normal, b nach 16 Std Arterienligatur. Vergr. etwa 720fach.

dar, Sammelröhren enthalten nur ganz vereinzelte Kristalle. Die Glomerula sind völlig frei. Innerhalb der Epithelien ist die Kristallbildung an der Basis kräftiger als in Lichtungsnähe (Abb. 6a).

In der ligierten Niere zeigen sich die Veränderungen nach 5—6 Std. Die Kristalle nehmen an Zahl und Größe ab, *wobei sie aus den gewundenen Harnkanälchen zuerst verschwinden*. Dagegen bleiben sie im absteigenden Schenkel der HENLESchen Schleife eine gewisse Zeit erhalten. Nach 16 Std sind weder in der Rinde noch im Mark Formazankristalle nachzuweisen (Abb. 6b). Die Abnahme der Kristalle erfolgt zwischen der 6. und

16. Std kontinuierlich. Auch in einzelnen Versuchen mit längerer Gefäßdrosselung haben wir keine Kristalle mehr gesehen.

b) Bei Anwendung der Gewebsnadireaktion. Der positive Ausfall der Gewebsnadireaktion ist durch einen makroskopischen und mikroskopischen Effekt ausgezeichnet (GRAEFF). Beide treten bereits wenige Minuten nach Einlegen der Schnitte in das Nadigemisch ein. Bei der Untersuchung gesunder Nieren beobachtet man eine reinblaue Färbung

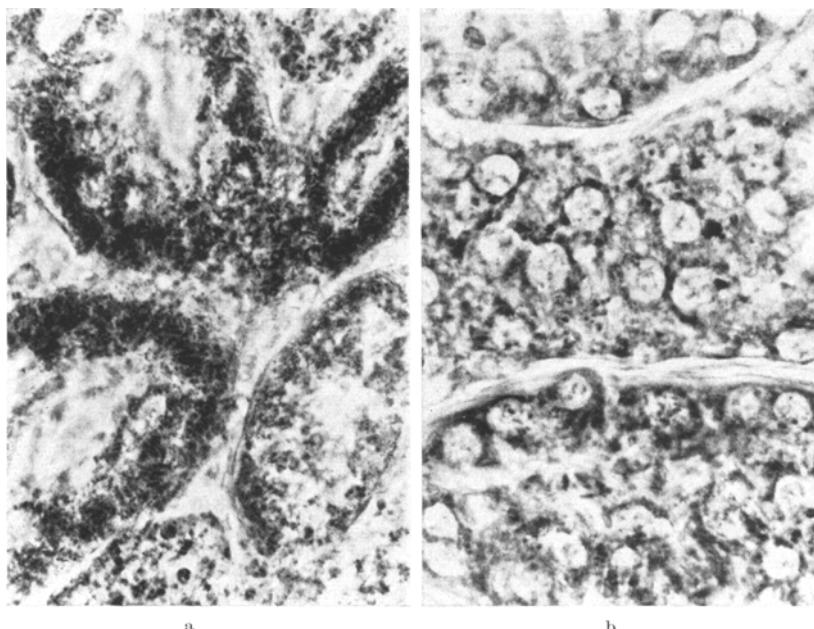


Abb. 7a u. b. Meerschweinchenniere. Hauptstücke bei Oxydasereaktion. a normal, b nach 6stündiger Arterienligatur, Verminderung der Oxydasereaktion bis auf eine schmale perinucleäre Zone. Zellkerne frei.

der Gewebsschnitte. Der makroskopischen Bläuing entspricht im Schnitt eine dichte Granulierung des Zellprotoplasmas (Abb. 7a). Die Zellkerne erwiesen sich auch hier als farbstofffrei, desgleichen das Interstitium und die Glomerula. In den Harnkanälchen liegen die Körnchen in der Umgebung der Zellkerne besonders dicht (Abb. 7b), eine Beobachtung, die wir bei phasenoptischer Untersuchung überlebender Zellen an den Mitochondrien wiederholen konnten. Die Zahl der Granula nimmt innerhalb des Nephrons von proximal nach distal ab.

Nach 5—6stündiger Arterienligatur treten Unterschiede sowohl im makroskopischen als auch im mikroskopischen Verhalten der Oxydasen auf. Die Schnitte nehmen eine schwächere, schmutzig-graublaue Tönung an, die bei Anwesenheit von Fettsubstanzen ins Violette umschlagen

kann. Diese diffuse schwache Färbung bleibt bis zur letzten von uns untersuchten Zeitstufe erhalten. Im mikroskopischen Schnitt entspricht ihr ein allmählicher Verlust der distinkten Granulierung. Das Zellprotoplasma ist jetzt gleichmäßig schwach angefärbt, besonders wieder in der Umgebung der Zellkerne (Abb. 7 b). Ein völliges Abbllassen der Färbung findet sich erst nach über 40stündiger Gefäßsperre.

Ein Vergleich der TTC- und Oxydasereaktion ergibt wesentliche Übereinstimmungen und gewisse Unterschiede. Beiden ist die gleiche Verteilung innerhalb der Niere insofern gemeinsam, als die Hauptlokalisationsorte für Oxydasen und Dehydrasen im Anfangsteil der Hauptstücke zu suchen sind. Hier machen sich auch die ersten Ausfälle bemerkbar, was offenbar in Zusammenhang mit dem Fermentreichtum dieser Kanälchenabschnitte steht. Die große Empfindlichkeit gerade dieses Teils des Nephrons ist bekannt (TALMA, BLESSIG, v. WERRA, LITTE, BRODERSEN, KETTLER, LUFT, DOERR, BECKER) und in jüngster Zeit bei verschiedenen Eingriffen bestätigt worden. Lediglich SCHÜM-MELFEDER ist zu ganz anderen Ergebnissen gekommen. Er beobachtete im Verlauf von Strukturuntersuchungen zur Frage des Absterbens von Zellen *keinen* Unterschied im Ausfall der TTC- und Oxydasereaktion bei lebenden und toten Zellen. „Erst nach längerer Zeit, zum Teil erst mehrere Tage nach dem Zelltod“ wurde die Fermentaktivität merklich geringer. Wir können uns diese unterschiedlichen Beobachtungen nicht erklären und müssen an den eigenen Untersuchungsergebnissen festhalten. Die Ursachen für das verlangsamte Abklingen der Oxydasereaktion vermögen wir nicht sicher anzugeben. Die Erscheinung beruht entweder auf einer größeren Empfindlichkeit des Nadigemisches oder auf einer schnelleren Inaktivierung der Dehydrasen. Wir möchten das erstere für wahrscheinlicher halten, da möglicherweise zur Bildung grobsichtbarer Formazankristalle größere Energiemengen erforderlich sind als bei der am Substrat der Mitochondrien ablaufenden Indophenolblausynthese.

Vergleichen wir die Reaktion der Fermentindikatoren mit dem Ergebnis der manometrischen Messungen, so ergeben sich zunächst übereinstimmende Befunde hinsichtlich des endgültigen Erlöschens der Fermentaktivität nach 16stündiger Ligatur. Auch die Befunde am gefärbten histologischen Schnittpräparat lassen sich hier zwanglos einordnen. Demgegenüber kommt der Beginn der Fermentstörung im Manometer wesentlich früher zum Ausdruck. Der Abfall der Atemkurve beginnt nahezu unmittelbar nach Unterbrechung der Blutzufuhr und führt bereits innerhalb der ersten 4,6 Std zu einem Verlust von 50% des Ausgangswertes, während die beiden Fermentindikatoren in diesem Zeitraum noch regelrechte Verhältnisse anzeigen. Sie reagieren erst dann im Sinne einer Abschwächung, wenn auch mit den üblichen Färbemethoden

Zelltod nachweisbar ist. Die Ursache für dieses abweichende Verhalten könnte man in der Tatsache sehen, daß die genannten histochemischen Reaktionen lediglich Teilglieder der gesamten Atmungsfermentkette erfassen, während die manometrische Messung den Gesamtablauf sämtlicher ineinandergrifenden Fermentreaktionen widerspiegelt. Man müßte dann folgern, daß die beiden histochemisch erfaßten Teilsysteme (Cytochromoxydasen und Dehydrasen) verhältnismäßig widerstandsfähiger gegen Ischämie sind, als der Atemmechanismus in seiner Gesamtheit. Hält man sich an das Schema der biologischen Oxydation von DIXON, so liegt es nahe, die im Warburg-Manometer in den ersten Stunden zum Ausdruck kommende Störung auf eine Beeinträchtigung der Cytochrome zu beziehen, deren zentrale Lage innerhalb der Atemfermentkette möglicherweise die Ursache dafür ist, daß hier eine Art „Achillesferse“ der Zellatmung vorliegt. Da sämtliche genannten Teilfermente nach dem gegenwärtigen Stand der Erkenntnis in die Mitochondrien zu lokalisieren sind, liegen hier zum Teil Strukturprobleme des submikroskopischen Bereiches vor, die zweifellos in der Größenordnung lichtmikroskopischer Dimensionen nur einen unvollkommenen Ausdruck finden.

Wir können die *Ergebnisse der vorstehenden Untersuchungen* mit den beiden Fermentindikatoren dahin zusammenfassen, daß sowohl die Nadireaktion als auch diejenige mit TTC nicht geeignet sind, Frühveränderungen der ischämischen Hypoxydose gestaltlich zu erfassen. In beiden Fällen zeigt sich erst jenseits der 5. Unterbindungsstunde ein Reaktionsausfall, also erst in dem Augenblick, in dem im mikroskopischen Schnittpräparat Merkmale des Zelltodes auftreten. Man muß daraus schließen, daß sowohl Oxydasen als auch Dehydrasen verhältnismäßig stabile Teilglieder der Atmungsfermentkette darstellen. Dagegen ist der celluläre Atemmechanismus in seiner Gesamtheit, wie er in den Manometerwerten zum Ausdruck kommt, schon wesentlich früher, d. h. fast unmittelbar nach Einsetzen der Ischämie gestört. Das könnte auf einer Schädigung anderer empfindlicherer Teilfermente (Cytochrome ?) beruhen, die sich histochemisch noch nicht erfassen lassen.

Das phasenoptische Bild der Hauptstickepithelien bei ischämischer Hypoxydose.

Zur phasenoptischen Untersuchung gelangte Tupfmaterial aus der Nierenrinde, das in verschiedenen Suspensionsflüssigkeiten aufgeschwemmt wurde. Es zeigt sich nämlich, daß die isolierte Zelle außerordentlich empfindlich gegenüber Milieuschwankungen ist, so daß z. B. schon durch Variation des p_H im Aufschwemmungsmedium erhebliche Strukturveränderungen erzeugt werden können (PISCHINGER, ZOLLINGER). Wir verwandten zunächst die Carbonat-Ringerlösung nach WARBURG mit einem $p_H = 7,4$. Sie ist dem Meerschweinchenserum nahezu isoton und verändert die Zellen innerhalb der ersten 30 min nur wenig. Zum Vergleich dienten

Materialaufschwemmungen in osmotisch inaktiven Zuckerlösungen, die sich besonders gut zum Studium der Mitochondrien eignen. Die zweckmäßigsten Konzentrationen liegen bei 0,61 und 0,88 molar. Das auf den Objektträger in einen Tropfen Suspensionsflüssigkeit verbrachte Material wurde mit einem Deckgläschen versehen und nach Paraffinumrandung innerhalb der ersten 30 min mit Ölimmersion im Phako untersucht. Ältere Präparate wurden nicht zur Auswertung herangezogen. Zum Vergleich diente jeweils die nichtunterbundene Niere des gleichen Tieres, wobei sich allerdings auch in diesem Organ starke Abweichungen von der Norm ergaben. Wir haben deshalb, um zuverlässige Vergleichsobjekte zu erhalten, eine Anzahl Nieren von Tieren untersucht, die keinerlei operativen Eingriffen unterzogen waren.

Untersuchungsergebnisse.

A. Das normale phasenoptische Bild der suspendierten Nierenepithelzelle schwankt in gewissen Grenzen. Man erkennt im Gesichtsfeld in der Regel 2 verschiedene Zelltypen: 1. Eine große Zelle mit reichlich Protoplasma und relativ

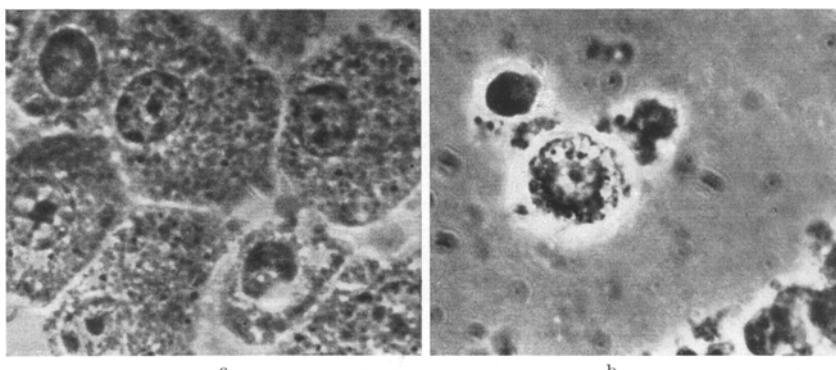


Abb. 8 a u. b. Meerschweinchenniere. Zellsuspension in Ringerlösung. a großer Zelltyp, b kleiner Zelltyp. Phasenmikroskop. Vergr. 1300 fach.

kleinen Kernen. Die äußere Form ist rund oder polygonal, besonders bei Zusammenlagerung in kleinen Verbänden. Im Protoplasma finden sich zahlreiche scharf konturierte Granula, die BROWNSche Molekularbewegung zeigen (Abb. 8a). 2. Eine kleine Zelle mit relativ großem rundem Kern und schmalem Protoplasmasaum, der dichtgelagerte, stark lichtbrechende Granula enthält (Abb. 8b).

Sowohl die große als auch die kleine Zelle kommen auf sämtlichen Zeitstufen der Unterbindung vor und sind deshalb als präexistent anzusehen. Wir möchten die größeren Zellen mit den Hauptstückepithelien, die kleineren mit denjenigen der Schaltstücke und Schleifen identifizieren. Damit läßt sich auch die Beobachtung in Einklang bringen, daß Übergangsformen vorkommen, die gestaltliche und innerstrukturelle Abwandlungen der beiden erwähnten Typen darstellen.

Schon normalerweise sieht man erhebliche Strukturunterschiede in Abhängigkeit vom Suspensionsmilieu auftreten. So zeigt der Zellkern bei Verwendung von Ringerlösung deutliche Chromatinstrukturen sowie einen Nucleolus, während die Zellkerne bei Verwendung molarer Zuckerlösung optisch nahezu leer sind. Man muß daraus schließen, daß möglicherweise bereits die geläufigen Kernstrukturen Artefakte darstellen, bzw. als Ergebnis einer osmotischen Denaturierung des Kern-eiweißes zu betrachten sind. Auch bei BAUD findet sich die Vorstellung, daß die Kernmembran im Phasenmikroskop erst nach leichter Schädigung der Zelle sichtbar

wird. Besonders ausführlich hat neuerdings PISCHINGER zu diesem Problem Stellung genommen und auf die vielfach geübte Kritiklosigkeit hingewiesen, mit der Kernveränderungen besonders an fixierten Objekten beurteilt werden. Mit Hilfe sehr gründlicher Fixierungsversuche an nativen Gewebsschnitten wird gezeigt, daß die Veränderung von p_{H} und Zeitabstand zwischen Tötung und Fixierung einen beträchtlichen Einfluß auf das Kernbild ausübt. Lebensfrische bei $p_{\text{H}} = 7,1$ gehaltene Zellen zeigten auch in diesen Untersuchungen einen leeren Kernraum mit nur wenigen basophilen Körnchen. Alle Chromatinstrukturen werden demgegenüber bereits als Kunstprodukte gewertet, die durch Dehydratation und Entladung zustande kommen. Wir haben uns aus den erwähnten Gründen veranlaßt gesehen,

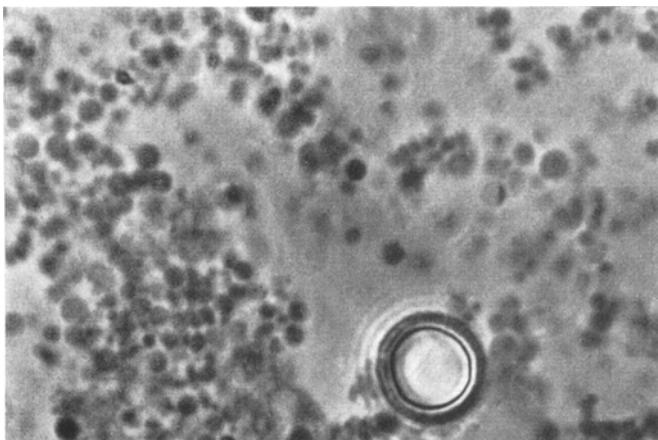


Abb. 9. Meerschweinchenniere. Suspension in Ringerlösung. Freie Mitochondrien in der Suspensionsflüssigkeit. Phasenmikroskop. Vergr. 2300 fach.

das phasenoptische Bild der Nierenepithelien unter Verwendung zweier verschiedener Suspensionsflüssigkeiten zu studieren und werden auf die Unterschiede von Fall zu Fall hinweisen.

Außer den wohlerhaltenen Zellen sieht man auf dem Objektträger immer Bruchstücke, sowie zahlreiche freischwimmende Granula, die offenbar mit denen im Protoplasma identisch sind und von uns in Übereinstimmung mit ZOLLINGER als Mitochondrien betrachtet werden. Sie können bei Zerreissen der Zellmembran offenbar aus der Zelle herausrollen wie die Kugel aus einem Sacke und sind dann in der Regel etwas größer als die intracellulär gelegenen. Diese Quellung beruht auf der Tatsache, daß der intracelluläre osmotische Druck höher ist, als der auf die Zelle als Ganzes eingestellten Suspensionsflüssigkeit (HOGEBOOM, SCHNEIDER und PALLADE). Die letztere ist also für die Mitochondrien hypoton.

An zahlreichen isoliert schwimmenden Mitochondrien (Abb. 9) erkennt man deutliche Strukturen in Gestalt einer membranartigen Hülle und eines Innenkörpers. Dieser führt häufig innerhalb der Hülle rotierende Bewegungen aus. Nicht selten sieht man ihn halbmondförmig der Membran anliegen, wobei es sich um Präcipitationsvorgänge handelt, die ihre Ursache in der großen Empfindlichkeit dieser Gebilde besitzen (HARMAN und FEIGELSON, ZOLLINGER). Schon der Austritt aus dem Zellprotoplasma genügt offenbar, um schwerwiegende Gestaltveränderungen auszulösen. Lediglich bei Verwendung molarer Zuckerlösung (LEHMANN u. a.) läßt sich die ursprüngliche Struktur eine Zeitlang erhalten. Man sieht dann vorwiegend

kurze und plumpe, an Bakterien erinnernde Kurzstäbchen von homogener Struktur, also meist ohne Innenkörper. Fädige Gebilde haben wir nicht gesehen. Aus diesen wenigen Angaben ist zu entnehmen, daß die Mitochondrien einen Feinbau besitzen, der demjenigen der Gesamtzelle in seinen Prinzipien (Membran, andersartiges Innere) entspricht. Damit ist im Zellprotoplasma eine große Zahl feinster Reaktionsräume vorhanden, in denen sich ein großer Teil der katalytisch gesteuerten chemischen Umsetzungen vollzieht.

B. Das phasenoptische Bild der suspendierten Nierenepithelzelle bei Ischämie. Die im Ablauf unserer Experimente erhobenen Befunde zeigen insofern eine deutliche Beziehung zur Dauer der Gefäßsperrre, als sie mit zunehmender Unterbindungszeit eine immer stärkere quantitative und qualitative Ausprägung erfahren. Man kann deshalb eine kontinuierliche Reihe von Merkmalen aufstellen, in der schließlich auch die bekannten Kennzeichen des Zelltodes auftauchen (Pyknose, Karyolyse usw.). Dabei treten allerdings auf den einzelnen Zeitstufen jeweils andere Bestandteile der Zelle in den Vordergrund des allmählichen Gestaltwandels. Eine derartige Dissoziation des Absterbeprozesses beobachtet man in erster Linie in den Frühstadien der Ischämie. Später wird das Bild einförmiger und zum Schluß sind die Merkmale der Nekrose an sämtlichen Zellbestandteilen vorhanden. Auch der zeitliche Ablauf erfolgt nicht mit gleichbleibender Geschwindigkeit. Während die ersten Zellveränderungen nach einer gewissen Latenzzeit schnell und in gedrängter Folge ins Spiel treten, beansprucht die weitere Entwicklung einen längeren Zeitraum. Wir sehen in diesem Tatbestand das gestaltliche Korrelat für die bereits in der Atemkurve zum Ausdruck kommenden und dort auch diskutierten Gesetzmäßigkeiten. Aus dem gleichen Grunde lassen sich auch die phasenoptischen Bilder zwanglos in drei aufeinanderfolgende Zeitabschnitte einordnen, die sich mit der im ersten Abschnitt unserer Untersuchung errechneten „Halbwertzeit“ annähernd decken. Wir werden deshalb bei der Beschreibung unserer Befunde unterscheiden: 1. einen Abschnitt von 15 min bis 3 Std, 2. einen Abschnitt von 4—8 Std, 3. einen Abschnitt von der 10. Std bis zum Ende unserer Unterbindungsexperimente (16.—20. Std und länger).

1. Zellveränderungen innerhalb der ersten 3 Std nach Arterienligatur. Der Befund entspricht auf dieser Zeitstufe noch nahezu der „normalen“ Epithelzelle. Der Kern ist bei Ringerlösung strukturiert und besitzt einen Nucleolus. In Zuckerlösung ist das Innere des Kernes leer (Abb. 10 a und b) und zeigt einen perlmutterähnlichen Glanz. Auch die Protoplasmaveränderungen weichen zunächst nur wenig von den für diese Untersuchungsart typischen Bildern ab. Die Mitochondrien besitzen in Zuckerlösung vorwiegend Stäbchenform. Intracellulär sieht man sie gelegentlich in reihenförmiger Lagerung. Freie Granula sind stäbchen-, hantel- oder kolbenförmig, in Ringerlösung jedoch ausnahmslos rund

und mit deutlichem Innenkörper. Einzelne Granula sind besonders dunkel (Speichergranula? CLAUDE, ZOLLINGER). Gegen Ende der Versuchszeit beginnt sich eine Schwellung der Mitochondrien abzuzeichnen, die später noch deutlicher wird. Vereinzelt treten Protoplasmavacuolen auf, allerdings nicht eindeutig häufiger als in den Kontrollorganen. Sie

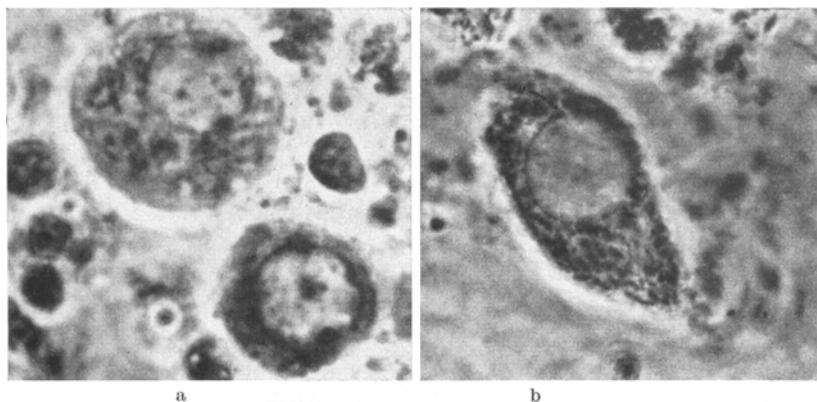


Abb. 10 a u. b. Meerschweinchenniere. Zellsuspension. Hauptstückepithel. a in Ringerlösung, b in Zuckerlösung. Phasenmikroskop. Vergr. 1300fach.

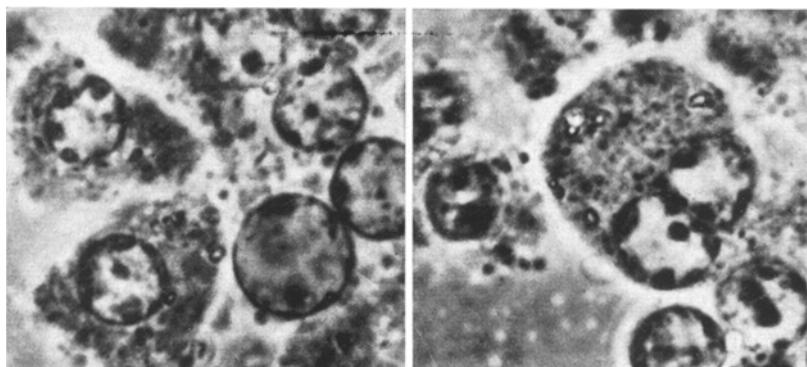


Abb. 11. Meerschweinchenniere. Zellsuspension in Ringerlösung. „Glänzender“ Kerntyp. Phasenmikroskop. Vergr. 1300fach.

spielen insgesamt keine große Rolle. Mit Ausnahme der erwähnten Mitochondrienschwellung kann man also im ersten Zeitabschnitt unserer Experimente keinen wesentlichen krankhaften Befund erheben.

2. *Zellveränderungen in der 4.—8. Std nach Arterienligatur.* Hier finden sich schon von Anfang an Strukturveränderungen am Zellkern, welche auf die Versuchsanordnung und damit auf die ischämische Hypoxidose zu beziehen sind. Sie kommen aber ausschließlich in Ringerlösung zur Darstellung. Die Chromatinkomplexe heben sich unter

zunehmender Verdichtung und Vergrößerung immer deutlicher ab, während gleichzeitig das Karyoplasma optisch leer, wie „ausgewaschen“ (ARNDT) erscheint. Der Kern ist in diesem Stadium außerordentlich kontrastreich und glänzt bei Spiel mit der Mikrometerschraube auf („glänzender Kerntyp“ ZOLLINGER) (Abb. 11). Demgegenüber zeigen die Zellkerne in molarer Zuckerslösung lediglich eine beginnende zarte Strukturierung sowie erstmals andeutungsweise einen Nucleolus. Das Protoplasma des kleineren Zelltypes ist in der Regel so stark von hell aufleuchtenden Vacuolen durchsetzt, daß der Kern völlig verdeckt wird. Von der 6. Std an treten bereits Zellen mit verkleinertem und unregelmäßig konturiertem Kern auf. Gleichzeitig verdichtet sich die Chromatinstruktur, so daß allmählich das Bild der Pyknose entsteht (Abb. 12). An einigen Zellen kann man Auflösung der Kernmembran nachweisen (Karyolyse).

ZOLLINGER hat die gleichen Kernveränderungen an Aufschwemmungen des Brown-Pearce-Tumors untersucht und den von ihm sog. „glänzenden Kerntyp“ als Ausdruck des beginnenden Zelltodes bewertet. Jedenfalls konnte er nachweisen, daß bei Vorhandensein dieses Kernbildes die Transplantierbarkeit erlischt. Flimmerepithelien verlieren ihre Beweglichkeit, und zwar irreversibel. Der von ZOLLINGER beobachtete „trübe“ und „intermediäre“ Kerntyp, dessen Schädigungscharakter weniger eindeutig festzulegen scheint, trat in unseren Präparaten nicht auf.

Da sämtliche erwähnten Befunde nur in Ringerlösung auftreten, muß man annehmen, daß es sich um Äquivalentbilder handelt, die durch Verstärkung dynamischer Vitalstrukturen zustande kommen, eine Tatsache, die bei der Ausdeutung phasenoptischer Untersuchungsergebnisse vielfach vernachlässigt wird. Über die tatsächliche Beschaffenheit des Zellkernes geben sie nur höchst unsichere Auskunft. Hält man aber gewisse konstante Untersuchungsbedingungen ein, so ist die Beurteilung mit den gleichen Einschränkungen möglich, die jeder morphologischen Untersuchungsmethodik auferlegt sind. Ja es gelingt sogar Strukturveränderungen darzustellen, die bei vorgängiger Fixierung überdeckt werden. Mit dieser Einschränkung möchten wir uns der Ansicht ZOLLINGERS anschließen, daß das Vorhandensein des „glänzenden“ Kerntypes eine irreversible Zellschädigung anzeigt.

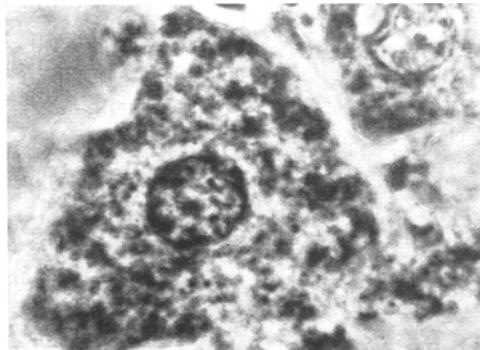


Abb. 12. Meerschweincheniere. Zellsuspension in Ringerlösung. Hauptstückepithel. Beginnende Pyknose. Verklumpung der Mitochondrien. Phasenmikroskop. Vergr. 1300 fach.

Man sieht nämlich gleichzeitig auch am Protoplasma einen Gestaltwandel, der verschiedene Strukturen erfaßt und als Vorbote für eine spätere Auflösung der Zelle zu betrachten ist. Es handelt sich um Veränderungen sowohl an der flüssigen als auch an der festen Phase des Plasmas.

Störungen des Wasserhaushaltes der Nierenepithelien haben wir auf sämtlichen Zeitstufen der Unterbindung geschen. Sie treten in Gestalt kleiner Protoplasmavacuolen bereits in Präparaten normalen Nierengewebes auf. Erst nach mehr als 3stündiger Gefäßdrosselung werden sie häufiger und sind dann oft unmittelbar in der Umgebung des Kernes

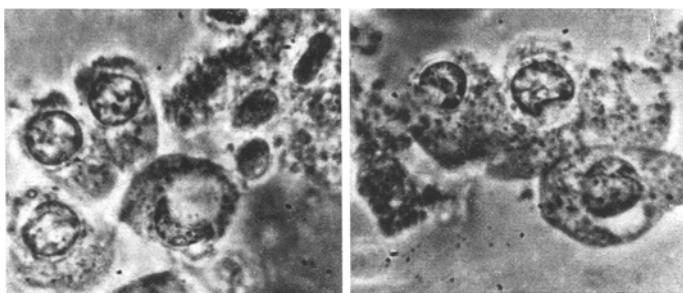


Abb. 13. Meerschweinchenniere. Zellsuspension in Ringerlösung. Paranucleäre Flüssigkeitsvacuolen mit Eindellung des Kernes. Phasenmikroskop. Vergr. etwa 800 fach.

gelegen, den sie eindellen (Abb. 13). Später werden sie wieder seltener und jenseits der 8. Unterbindungsstunde finden sich an ihrer Stelle diffuse Aufhellungen oder wabige Umwandlungen des Protoplasmas.

Der Nachweis blasig-vacuoliger Umwandlungen ist nicht an das Phasenmikroskop gebunden. Man sieht derartige Protoplasmaveränderungen auch am gefärbten und fixierten Präparat und ihre Bedeutung ist gerade in jüngster Zeit diskutiert worden (KETTLER, DOERR). Vorkommen und Häufigkeit ist offenbar bei den verschiedenen Formen der Zellschädigung (Sauerstoffmangel, Giftwirkung usw.) nicht konstant und über die biologische Wertigkeit und Rangordnung der vacuoligen Umwandlung einerseits und der blasigen Degeneration andererseits gehen die Meinungen auseinander. Wir möchten unseren Befunden entnehmen, daß beide Veränderungen eng verwandt sind und ineinander übergehen können.

Demgegenüber bilden flache Ausbuchtungen und pseudopodienartige Fortsätze der Epithelzellen einen Befund, der nur bei phasenoptischer Untersuchung überlebender Zellen in Erscheinung tritt. Einschlägige Befunde sind bereits von DITTMAR und MAAS, ZINSER und ZOLLINGER erwähnt und von letzterem als Potocytose bezeichnet worden. Es soll sich dabei um eine Wasseraufnahme aus dem der Zelle ungewohnten Suspensionsmilieu handeln, wahrscheinlich nach vorausgehender Abänderung der Membrandurchlässigkeit. Wir haben im Verlauf unserer Experimente 2 Formen dieser Potocytose gefunden, von denen die eine Beziehungen zur ischämischen Hypoxydose besitzt.

a) Durch alle Zeitstufen unserer Versuche hindurch und selbst bei Verwendung von Material normaler Vergleichsorgane sieht man flache, halbmondförmige, die Zelle mehr oder weniger umgreifende Ausbuchungen der äußeren Membran. An solchen Stellen scheint sich das Protoplasma von der Zellmembran retrahiert zu haben, da der Inhalt dieser

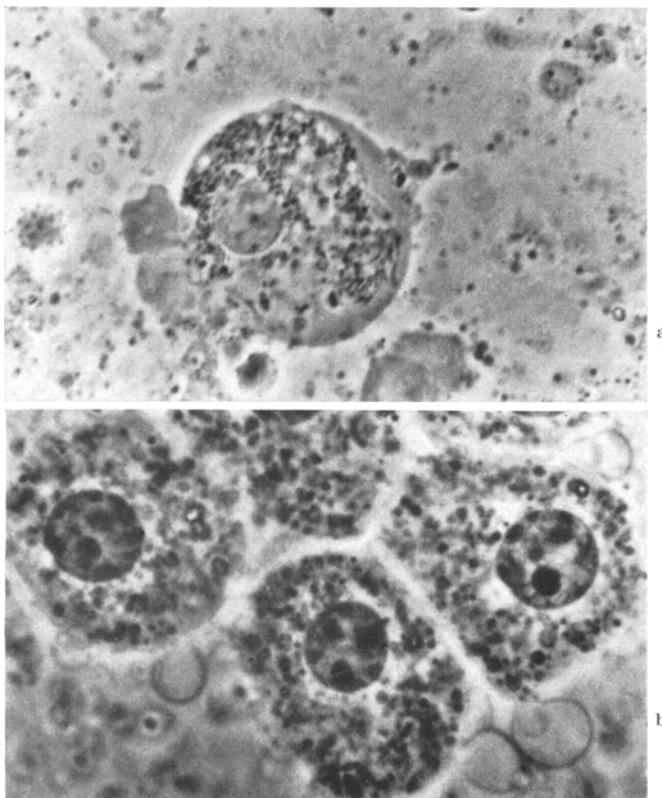


Abb. 14a u. b. Meerschweinchenniere. Zellsuspension in Ringerlösung. Potocytose. a als „halbmondförmige Wassereinlagerung, b mit pseudopodienartiger Fortsatzbildung. Phasenmikroskop. Vergr. 1300 fach.

Buchten wasserhell und äußerst strukturarm ist (Abb. 14a). Die Begrenzung zum kontrastgebenden Zelleiweiß ist ziemlich scharf und in der Regel nicht ganz glatt. Derartige Wassereinlagerungen kommen völlig unabhängig von unserer Versuchsanordnung vor und werden ganz offenkundig allein durch den Vorgang der Aufschwemmung ausgelöst.

b) Bei Unterbindungszeiten von länger als 6 Std beobachtet man demgegenüber immer häufiger zungenförmige Ausläufer der Zellen, die als wasserhelle und scharf begrenzte Blasen imponieren (Abb. 14b). Sie

können von den Zellen abgeschnürt werden und in großer Zahl frei in der Suspensionsflüssigkeit schwimmen. Die Häufigkeit dieser „Pseudopodien“bildung nimmt mit der Dauer der Hypoxydose zu. Das kommt besonders dann zum Ausdruck, wenn man ganz frische Präparate für die Beobachtung benutzt. In älteren Suspensionen kann man Zellfortsätze auch bei Verwendung von Material normaler Vergleichsorgane beobachten.

Erörterungen über die Pathogenese solcher Gebilde müssen zunächst von der äußeren Form ausgehen. Dabei ist die Tatsache nicht zu übersehen, daß die fraglichen Bildungen allseitig, d. h. auch gegen das Protoplasma begrenzt sind. Es kann sich deshalb nicht einfach um protoplasmatische Vacuolen handeln. Man kann unseres Erachtens derartige Beobachtungen nur dann richtig deuten, wenn man von einem schichtförmigen Bau der Zellmembran ausgeht. Folgt man **CHAMBERS**, der außer der eigentlichen Zellmembran noch eine besondere Protoplasmaoberfläche annimmt, so könnte man sich eine *dissezierende* Wassereinlagerung vorstellen, durch die eine oberflächliche Hülle von einer daruntergelegenen tieferen abgehoben und schließlich unter Abrundung abgestoßen wird. **CHAMBERS** hat bereits auf die Möglichkeit von „Häutungsvorgängen“ an der Zellmembran hingewiesen.

Für den zweiten von uns beobachteten Vorgang der Pseudopodienbildung haben wir noch eine zweite Möglichkeit der Entstehung in Betracht gezogen. **LETTRE** beobachtete neuerdings bei Vergiftung der Mitochondrien mit Viktoriablau an Gewebskulturen Protoplasmabewegungen, die gleichfalls in einem Ausstrecken von Fortsätzen bestehen. Derartige Bewegungsphänomene, die große Ähnlichkeit mit unseren Beobachtungen besitzen, sollen durch Lähmung bestimmter contractiler Plasmaelemente ausgelöst werden, deren intakte Funktion die Zelle in einem labilen Gleichgewicht erhält. Störungen dieses Systems sind von hernienartigen Vorstülpungen begleitet, die sich in großer Zahl bilden können. Wir möchten die uns vorliegenden Befunde denjenigen **LETTRE**s vergleichend an die Seite stellen und die Möglichkeit erwägen, daß auch an den Nierenepithelien durch Sauerstoffmangel Bewegungsvorgänge ausgelöst werden können.

Derartige Beobachtungen sind von um so größerer Bedeutung, als das „Auschwärmen“ von Tubulusepithelien bei chronischer interstitieller Nephritis auch im Gewebsverband beschrieben worden ist (**ZOLLINGER**), ohne daß bisher über die Natur dieser Fortbewegung konkretere Vorstellungen existieren.

Sehr eindrucksvolle Veränderungen finden sich im gleichen Zeitabschnitt der Unterbindung an den Mitochondrien, die gerade zwischen der 4. und 8. Std einen tiefgreifenden Gestaltwandel erleiden. Er setzt mit einer bläschenförmigen Aufreibung der Granula ein, die allerdings vorwiegend an den extracellulär gelegenen Exemplaren sichtbar ist. Ein solches „Vesiculärstadium“ soll nach **ZOLLINGER** bei Zellen nachweisbar sein, welche das Bild der „trüben Schwellung“ zeigen. An den Tubulusepithelien ist es in voller Ausprägung nur selten zu beobachten. Später setzen eindrucksvolle Veränderungen am Innenkörper ein, der nach Aufhellung oder Präcipitation an der Mitochondrienmembran feinkörnig zerfällt, so daß das Protoplasma von staubförmigen Massen erfüllt ist (Abb. 15a). Diese können sich unregelmäßig wolzig innerhalb der Zelle verteilen (Abb. 15b). In diesem Stadium beginnt sich auch der Kern aufzulösen.

In molarer Zuckerlösung sind sämtliche erwähnten Veränderungen weniger stark ausgeprägt, man sieht selbst in diesem Stadium noch einzelne Mitochondrien in Stäbchenform, und der gesamte Auflösungsprozeß wird bei Benützung derartiger Suspensionen erst einige Stunden später sichtbar.

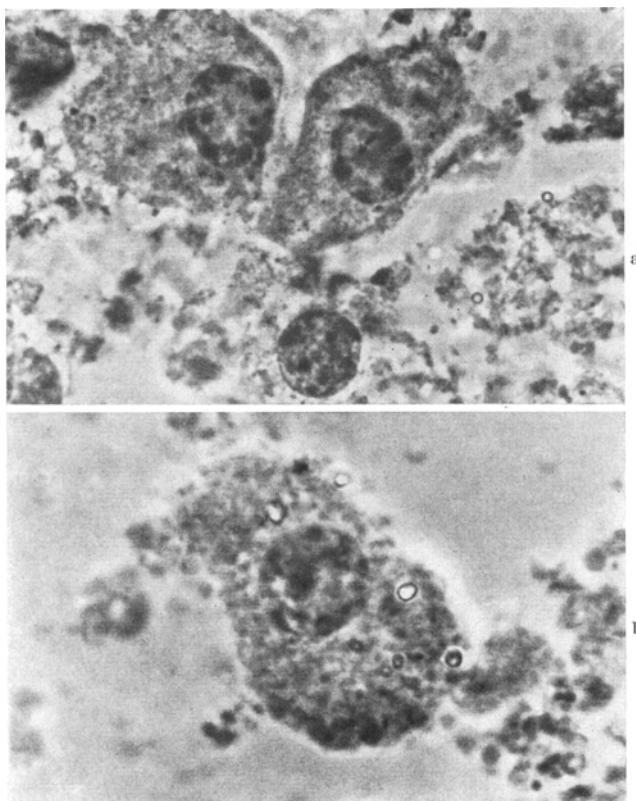


Abb. 15 a u. b. Meerschweinchenniere. Zellsuspension in Ringerlösung. Hauptstück-epithelien. a feinkörniger Zerfall der Mitochondrien, b wolkige Auflösung der Mitochondrien. Phasenmikroskop. Vergr. 1300 fach.

Über die äußere Form der Mitochondrien ist in jüngster Zeit mehrfach berichtet worden. Sie ist offenbar schon normalerweise großen Schwankungen unterworfen und wird teils als rund, teils als stäbchenförmig angegeben (ZOLLINGER, RÜTTIMANN, BOURNE, BRÄM, HARMAN und FEIGELSON), wobei offensichtlich äußere Einflüsse oder bestimmte Funktionszustände eine Rolle spielen. Die eigenen Untersuchungen zeigten bereits eine deutliche Abhängigkeit vom Suspensionsmilieu. BOURNE hat den granulären Zerfall stäbchenförmiger Mitochondrien im Sinne einer Oberflächenvergrößerung gedeutet und will darin ein „Mittel“ der Zelle zur Funktionssteigerung sehen. Neuere Untersuchungen von BIELING an lebenden Fibroblasten sprechen auch hier für die Existenz aktiver Bewegungsphänomene mit der Möglichkeit des Form- und Ortswechsels, wobei immer in der gleichen Art

auftretende topographische Situationen für gerichtete Funktionsabläufe zu sprechen schienen. Als sicher kann gelten, daß schon normalerweise runde *und* stäbchenförmige Mitochondrien existieren und daß beide Formen ineinander übergehen können. Die durchschnittliche Größe beträgt nach Messungen an isolierten Mitochondrien durch CLAUDE 0,5—2,0 μ .

Als wichtige Erkenntnis der jüngsten Vergangenheit hat zu gelten, daß die Mitochondrien keine homogenen Körper darstellen, sondern strukturiert sind. Diese Strukturelemente sind bereits im Phasenmikroskop erkennbar. Die Präexistenz von Membran und Innenkörper hat sich auch elektronenmikroskopisch bestätigt (MÜHLETLER, MÜLLER und ZOLLINGER), wobei sich die Membran als Geflecht kurzfaseriger Eiweißketten erwies. Die an der Innenfläche der Membran vorkommenden „Christae“ lassen sich unseres Erachtens als Teile des präcipitierten Innenkörpers erklären. Die Semipermeabilität dieser Membran erklärt die vielfachen osmotischen Erscheinungen. Chemisch enthält sie Desoxyribonucleinsäure, die sich fermentativ abbauen läßt (ZOLLINGER), was Verklumpung der Mitochondrien zur Folge hat. Dagegen verschwindet der Innenkörper bei Ribonucleasebehandlung. Es ergeben sich also überraschende Parallelen zum Aufbau des Zellkernes.

Die Mitochondrien enthalten zahlreiche Fermente, in erster Linie solche der biologischen Oxydation und die Cyclophoräsen (K. LANG, LEHNINGER, BOURNE, HOLTER), womit die Mitochondrien das Atemzentrum der Zelle darstellen. Es ist ziemlich wahrscheinlich, daß die verschiedenen Enzyme innerhalb der Mitochondrien an wohldefinierte Strukturen gebunden sind. Jede Veränderung dieser Strukturen beeinträchtigt die Fermentleistung. Das kann soweit gehen, daß aus dem Mitochondrienverband herausgelöste Fermente eine andere Leistung entfalten als *in situ*. Es ist also das „Arrangement“ der Fermente innerhalb der Mitochondrien, das die Art der Wirksamkeit bedingt. Damit gewinnt die Fermentforschung wieder Beziehungen zur morphologischen Betrachtungsweise (FELIX). Jede Zerstörung der Mitochondrienstruktur beeinträchtigt die Atmung. So sind enge Beziehungen zwischen Cyclophoraseaktivität und Größe, Zahl sowie Zustand der Mitochondrien beobachtet worden (HARMAN). Umgekehrt führt auch jede Senkung der Oxydation zu ganz charakteristischen Formveränderungen. Es treten Sphäroide und Scheiben auf.

Eine weitere Eigenschaft der Mitochondrien besteht in ihrer Fähigkeit zur Stoffspeicherung. Möglicherweise wird auf diesem Wege eine besonders enge Beziehung zwischen Ferment und Substrat erreicht (BOURNE). Wahrscheinlich geht ein großer Teil der Speichergranula der Zellen aus Mitochondrien hervor. Die besondere Bedeutung dieser Tatsache für die resorptive Leistung der Tubulusepithelien der Niere wurde schon erwähnt.

Über den Gestaltwandel der Mitochondrien unter krankhaften Bedingungen liegen bisher im Schrifttum lediglich weit verstreute Einzelmeldungen vor. Trotzdem zeichnet sich bereits eine Reihe von Grundformen der pathologischen Umgestaltung ab, die weniger auf die Art des jeweils wirksamen Agens als die prinzipiellen Reaktionsmöglichkeiten dieser Gebilde zu beziehen sind.

Als *erste und häufigste Grundform* muß man den Wandel zwischen kugeligen und stäbchenförmigen Mitochondrien betrachten. So kann sowohl Erhöhung (DANGEARD, ZOLLINGER) als auch Erniedrigung der Temperatur (ROBERTS) die äußere Gestalt der Mitochondrien beeinflussen, und zwar derart, daß eine Zunahme kurzer Stäbchen und kugeliger Formen auf Kosten der fädigen erfolgt. Diese Reaktion kommt auch bei ganz andersartigen Eingriffen vor. So sah BRÄM nach

Einwirkung verschiedenster Gifte (Colchicin, Nicotin, Arsen, Trypaflavin, Stickstofflost u. a. m.) gleichfalls Verkürzung der sonst stäbchenförmigen Gebilde. Mitochondrien in Lebern tumortragender Mäuse sollen gleichfalls ein Vorherrschen kurzer Formen zeigen (ANNAU, MANGINELLI). Die eigenen Beobachtungen ordnen sich also zwanglos in die genannten Untersuchungsergebnisse ein. Diese Verkürzung oder kugelige Transformation beruht wenigstens zum Teil auf Störungen der Osmose und ist zunächst reversibel. Eine Abgrenzung anabiotischer und katabiotischer Reaktionen ist dabei nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnis nicht immer möglich. Man muß deshalb annehmen, daß sich hinter dieser Reaktionsform Vorgänge verschiedener biologischer Wertigkeit verborgen.

Eine *zweite Grundform* des pathologischen Gestaltwandels hängt mit der Speicherfunktion der Mitochondrien zusammen und besteht darin, daß durch übermäßige Anhäufung bestimmter Stoffe das einzelne Mitochondrium zugrunde geht. Derartige Aufbraucherscheinungen bei Speicherung von nativem Hühnereiweiß hat RÜTTIMANN an den Hauptstückepithelien der Nieren verfolgt, einem Organ, das auf Grund seiner resorptiven Fähigkeiten zum Studium derartiger Veränderungen besonders geeignet ist. Der gestaltliche Ausdruck einer Speicherung ist die hyalin-tropfige Umwandlung der Tubulusepithelien (ZOLLINGER), wobei der an sich aktive und durch Mehrleistung gekennzeichnete Vorgang infolge Überspeicherung in Regression umschlagen kann. Krankhafte Mitochondrioveränderungen können sich auch dadurch entwickeln, daß der gespeicherte Stoff an sich schädlich ist, wie das für bestimmte cancerogene Stoffe zutrifft (GRAFFI). Die Speicherung kann dann geradezu zu einer Vergiftung der Mitochondrien führen und weitere Störungen der Zelltätigkeit auslösen. Speichergranula sind anderen Schädigungen gegenüber oft auffallend resistent und bleiben auch bei ischämischer Hypoxydose am längsten erhalten.

Die *dritte und letzte bisher bekannte Form* der pathologischen Umgestaltung von Mitochondrien besteht in Quellungs- und Präcipitationsvorgängen mit Aufnahme von Flüssigkeit. Membran und Innenkörper können dabei unabhängig voneinander reagieren. Während die erstere zu einer kleinen Blase aufgetrieben wird, kann der Innenkörper entweder unverändert als Stäbchen oder Scheibchen erhalten bleiben oder aber an der Innenseite der Membran präcipitieren. Derartige Befunde liegen, wie ZOLLINGER überzeugend dargetan hat, dem Bild der „trüben Schwellung“ zugrunde und leiten auch das Absterben der Zellen bei ischämischer Hypoxydose ein. Da solche Veränderungen bis zu einem gewissen Grade sicher reversibel sind, muß man annehmen, daß hier eine charakteristische Reaktionsform der Mitochondrien vorliegt, die möglicherweise die Bedeutung einer Abwehr oder Verarbeitung exogener Schädlichkeiten besitzt.

Wir haben diesen zuletzt genannten Schwellungsvorgängen unser besonderes Augenmerk gewidmet, da sie offenbar eine typische Antwort der Mitochondrien auf Ischämie darstellen. Sie entwickeln sich an der Meerschweinchenniere nach 3stündiger Drosselung der Arterie und sind damit, neben den bereits erwähnten Abschmelzungsscheinungen am Epithel, als die frueste morphologisch erkennbare Folge der ischämischen Hypoxydose zu betrachten. Sehr bald setzt dann „granuläre Umwandlung“ ein und die Mitochondrien verklumpen oder lösen sich völlig auf. Der zeitliche Ablauf dieses Prozesses scheint auch unter sonst gleichen experimentellen Bedingungen bei den verschiedenen Tierarten nicht übereinzustimmen. Das geht aus der Mitteilung von ZOLLINGER hervor, daß sich das granuläre Stadium an den Tubulusepithelien

der Maus bereits nach etwa 2 Std einstellt. Das nachstehende Schema (Abb. 16) möge das bisher Gesagte verdeutlichen.

3. *Zellveränderungen in der 10.—20. Std nach Arterienligatur.* Die Zellkerne sind jetzt deutlich verkleinert, entrundet und geschrumpft. Die Chromatinstruktur verdichtet sich mehr und mehr. Ein Nucleolus ist in der Regel nicht mehr zu erkennen. Schließlich verfällt der gesamte Kern der Auflösung. Es handelt sich um das vollentwickelte Bild der Nekrose. Benutzt man Zuckerlösung als Suspensionsmedium, so ist das

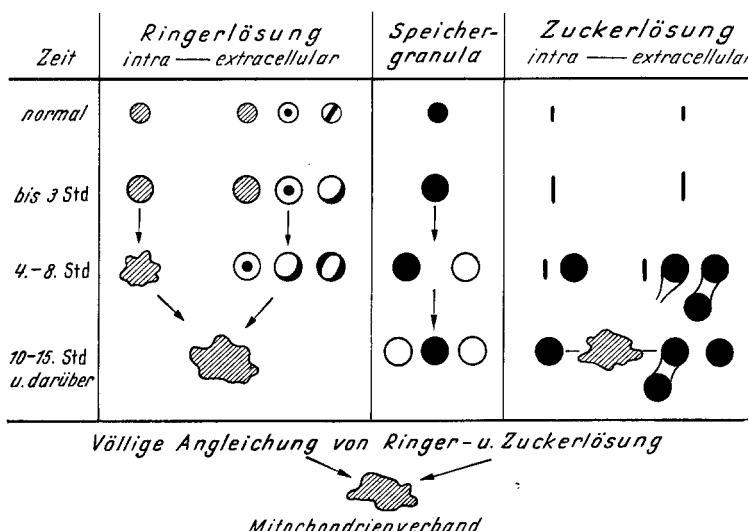


Abb. 16. Schema des Gestaltwandels der Mitochondrien in den Hauptstückepithelien der Meerschweinchenniere bei ischämischer Hypoxydose.

Bild der Zerstörung weniger weit fortgeschritten und die Kerne sind durchschnittlich besser erhalten.

Auch das Protoplasma verliert auf dieser Zeitstufe schrittweise seine ursprüngliche Struktur. Man sieht nur noch dicht gelagerte, klumpige und verschwommene Massen. Lediglich die dunklen Speichergranula heben sich noch deutlicher ab. Außerdem stellen sich unscharf begrenzte Protoplasmaaufhellungen ein. Vergleichsuntersuchungen an Organen nach mehrtägiger Arterienligatur ergaben nur noch Zellschatten ohne jede Struktur. Dabei ändert sich das gestaltliche Bild bei Verlängerung der Unterbindungszeiten nur noch langsam. Wir haben auf diese allmähliche Reaktionsverlangsamung bereits eingangs und im Zusammenhang mit unseren manometrischen Messungen aufmerksam gemacht.

Veränderungen an der nichtunterbundenen Niere. Die zweite nicht-unterbundene Niere eines jeden Versuchstieres wurde von uns mit der gleichen Methodik untersucht. Wir hatten dabei zunächst das Bestreben, normale Vergleichspräparate zu gewinnen. Es zeigte sich jedoch, daß

auch an diesem Organ Veränderungen ablaufen, die den bisher beschriebenen gleichen, ihnen aber an Intensität und Entwicklungstempo nachhinken. So finden sich beispielsweise bei einem 6stündigen Versuch Veränderungen, welche etwa der 3. Unterbindungsstunde unserer bisherigen Experimente entsprechen. Bei vielstündiger Ligatur kann man in der Niere der Gegenseite sogar Bilder von Nekrose beobachten, doch beschränken sich diese auf einzelne Zellen. Die Veränderungen erreichen also zwar den gleichen Grad, aber nie die gleiche Ausdehnung wie in dem ligierten Organ.

Die Tatsache dieser „Mitreaktion“ der nicht gedrosselten zweiten Niere ist bekannt (SARRE, ZUNTZ, MOENCH, ZOLLINGER, DOERR) und ganz verschieden gedeutet worden. Man hat in ihr entweder eine „Degeneration“ infolge vermehrter funktioneller Belastung oder eine echte aktive Ausgleichsreaktion gesehen.

Die eigenen Erwägungen knüpfen an die Beobachtung an, daß sich auch in der Niere der Gegenseite ein vorübergehendes Lymphödem entwickelt (s. oben). Dieses kann durch Oberflächenvergrößerung der Tubuli infolge allgemeiner Schwellung und passiver Dehnung des Nierenparenchyms Einfluß auf das Epithel der Harnkanälchen gewinnen, das möglicherweise dadurch zu einer Mehrleistung veranlaßt wird. In der Warburg-Apparatur fanden wir allerdings keine Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Der zweiten Frage, ob die gedrosselte Niere selbst auf chemischem oder neuralem Wege das kompensatorisch arbeitende Organ beeinflußt, wie das aus früheren Untersuchungen NIESSINGS hervorzugehen scheint, sind wir vorläufig nicht weiter nachgegangen und möchten ihre Beantwortung einer späteren Untersuchung vorbehalten.

Die *Ergebnisse unserer phasenoptischen Untersuchungen* haben sich für das gesteckte Ziel insofern besonders bedeutsam erwiesen, als sie enge Beziehungen des gestaltlichen Bildes der unter Sauerstoffmangel absterbenden Zelle zum Verhalten der Gewebsatmung erkennen lassen. Der Abnahme der Atemintensität entsprechend finden sich morphologische Veränderungen sowohl am Kern als auch am Protoplasma der betroffenen Zellen. Ein wichtiges Problem stellt die Art des Suspensionsmilieus dar, da von dessen Wahl das im Phasenmikroskop erscheinende Äquivalentbild abhängt. Es ist ein Irrtum zu glauben, daß bei Beobachtung überlebender Zellen Täuschungen durch Artefakte ausgeschlossen sind. Die frühesten Veränderungen bei ischämischer Hypoxydose finden sich an den Mitochondrien. Diese schwellen an und später präcipitiert der Innenkörper an der Mitochondrienmembran. Dieser Vorgang kann zu einer „granulären Auflösung“ der Mitochondrien überleiten. Um die 4. Std tritt erstmals das Bild des „glänzenden Kern-types“ auf, das wahrscheinlich irreversible Schädigung der Zelle anzeigt. Bleibt die Zirkulationsbehinderung noch länger erhalten, so tritt

Pyknose und Karyolyse auf. Störungen des Wasserhaushaltes durch Flüssigkeitsaufnahme aus der Suspensionsflüssigkeit (Potocytose) kann schon allein durch den Vorgang der Isolierung und Aufschwemmung der Tubulusepithelien ausgelöst werden. Dagegen sind zungenförmige Ausläufer der Zellen, die an Pseudopodien erinnern, wahrscheinlich eine Folge des Sauerstoffmangels. Sie sind das Resultat von Bewegungsvorgängen, die durch Schädigung intracellulärer Stoffwechselmechanismen ausgelöst werden und erklären möglicherweise die Beobachtung, daß bei bestimmten Formen von interstitieller Nephritis Epithelien aus dem Verband der Tubuli in das Zwischengewebe „auschwärmen“. Jenseits der 8-Std.-Grenze setzt die Auflösung der Zellen ein, wobei sich das Entwicklungstempo dieser Destruktion immer mehr verlangsamt.

An den Zellen der nichtunterbundenen zweiten Niere finden sich prinzipiell die gleichen Veränderungen. Sie hinken jedoch zeitlich nach und erreichen nie die Ausdehnung, wie in dem ligierten Organ. Bei der Erörterung dieser Tatsache muß man das kollaterale Ödem berücksichtigen, das sich auch in der unversehrten Niere entwickelt und wahrscheinlich auch den Zustand der Tubulusepithelien beeinflußt. Auf welchem Wege sich außerdem die Mehrbelastung des kompensatorisch arbeitenden Organs auswirkt, geht aus den bisherigen Untersuchungen nicht hervor.

Schlußbetrachtung.

Bei rückschauender Betrachtung und einem Vergleich der mit verschiedenen Methoden erhobenen Befunde ergeben sich sowohl eine Reihe allgemeiner Gesichtspunkte als auch besondere Fragestellungen.

Zur Auffindung von Frühveränderungen des Zelltodes und zur Rekonstruktion des zeitlichen Ablaufs der ischämischen Hypoxydose erwiesen sich die angewandten Methoden in unterschiedlichem Maße geeignet. Besonders enge Beziehungen lassen sich zwischen dem manometrisch bestimmten Sauerstoffverbrauch der Gewebsschnitte und unseren phasenoptischen Untersuchungen herstellen. Das beruht auf der Möglichkeit, den nach Schädigung einsetzenden Gestaltwandel der Zelle unmittelbar und *kontinuierlich* zu verfolgen. Man erhält dadurch eine lückenlose Serie von Zellbildern, die den physiologischen Absterbe- prozeß widerspiegelt. Wenn wir diese Befunde in mehrere aufeinanderfolgende Zeittabschnitte einordneten, so geschah das gewissermaßen gewaltsam und in dem Bestreben, die Eigenart der zeitlichen Entwicklung (Einsetzen der Veränderungen nach einer „Latenzzeit“, schnelle Entwicklung der wesentlichen Merkmale der Nekrose zwischen der 4. und 6. Unterbindungsstunde, Nachlassen des Entwicklungstempes auf den höheren Zeitstufen) stärker zu betonen und die sehr engen Parallelen

zwischen dem pathophysiologischen und morphologischen Verhalten der Tubulusepithelien deutlich werden zu lassen.

Demgegenüber zeichnen sich die Befunde am fixierten und gefärbten Schnittpräparat durch Diskontinuität der Entwicklung und eine zeitlich gröbere Stufenbildung aus. Der Fixierungsprozeß geht in der Regel mit einer Vergrößerung der vitalen Strukturen einher, die durch p_H -Änderung und elektrische Entladung der molekularen Aggregate verursacht wird (PISCHINGER). Derartige Denaturierungsvorgänge verwischen feinere Abstufungen im Gestaltwandel der Zellen. An Stelle der empfindlichen und differenteren Vitalstrukturen tritt ein stark vereinfachtes Äquivalentbild. Hierbei können einzelne gestaltliche Entwicklungsstufen vollkommen unterdrückt werden, so daß der Eindruck eines „sprunghaften“ Auftretens bestimmter mikroskopischer Merkmale entsteht.

Trotz dieser Einschränkungen stimmen die Befunde an der überlebenden Zelle prinzipiell mit denen am gefärbten Schnitt überein. Man kann also im Phasenmikroskop bestimmte Charakteristica der Nekrose, wie Pyknose und Karyolyse wiederfinden. Andere werden vermißt und an ihrer Stelle erscheinen neue, bisher nicht beobachtete Zwischenstufen. Da diese letzteren teilweise sehr bald nach Beginn der Ischämie in Erscheinung treten, gestatten sie eine frühzeitige Diagnose des Absterbe- prozesses und helfen jene Zeitspanne zu überbrücken, die zwischen dem Augenblick der Schädigung und dem Sichtbarwerden des Zelltodes klafft.

Eine große Schwierigkeit besteht in der Abgrenzung der Nekrose bzw. Nekrobiose von reversiblen Funktionsstörungen, da die Grenzen zweifellos fließend sind. Die Zelle stirbt in der Regel nicht momentan ab. Sie verfügt vielmehr über gewisse Schutzvorrichtungen, die von der jeweiligen Schädigung überwunden werden müssen. Auch das Absterben selbst verläuft stufenförmig, ist also zeitlich ausgedehnt. Nekrose ist damit ein intravitaler Prozeß, der sich nicht nur durch das andersartige Reaktionsmilieu, sondern vor allem durch das Vorhandensein von Abwehr- und Ausgleichsmechanismen und den allmählichen Abbau wichtiger vitaler Reaktionen von der Selbstauflösung der Strukturen an der Leiche unterscheidet. Damit hängt es zusammen, daß die verschiedenen, biologisch aktiven Molekülgruppen innerhalb des Protoplasmas nicht gleichzeitig inaktiviert werden. So spricht die erwähnte geringe Empfindlichkeit der TTC- und Oxydasereaktion dafür, daß die mit ihrer Hilfe darstellten Teilglieder der Atmungsfermentkette gegen Sauerstoffmangel erheblich widerstandsfähiger sind als der intracelluläre Atemmechanismus in seiner Gesamtheit.

Nach diesen allgemeinen Erörterungen wenden wir uns Fragen zu, welche die Stellung der ischämischen Hypoxydose im Rahmen des Sauerstoffmangels als Krankheitsprinzip und die Pathogenese der Nekrose betreffen.

Der Sauerstoffmangel als pathogenetisches Prinzip (BÜCHNER) mit der Folge der cellulären Hypoxydose (STRUGHOLD) kann nach der ätiologischen Seite hin als geklärt gelten. Mangelnde Zufuhr (Hypoxie, Anoxie), gestörte Aufnahme (Asphyxie) und Hemmung oder Einschränkung des Transportes (Anämie, Ischämie) bilden die wesentlichen Ursachenkomplexe für eine Verminderung der Oxydationsfähigkeit der Zelle. Außerdem kann die Zelle selbst insofern Sitz einer Störung sein, als durch Mangel an entsprechenden Fermenten oder Wirkstoffen oder deren Schädigung trotz genügenden Sauerstoffangebotes von außen die oxydativen Prozesse eingeschränkt werden. Eine derartige hypovitaminoische oder histotoxische Hypoxydose läßt sich mit Hilfe von Fermentinhibitoren (Malonsäure, Monojodacetat) im Experiment erzeugen (DOERR und BECKER), so daß ihr tatsächliches Vorkommen als erwiesen gelten kann. Es ist freilich eine andere Frage, welche Bedeutung ihr unter physiologischen Bedingungen zukommt. Auch birgt eine solche Erweiterung des Hypoxydosebegriffes durch Einbeziehung des Zelleigenstoffwechsels, wie jede Begriffsausweitung, Gefahren in sich. Sie äußern sich in dem leicht verständlichen und bereits offensbaren Bedürfnis, *immer neue* gestaltliche Veränderungen an den verschiedensten Bestandteilen der Zelle ohne schlüssige Beweisführung als hypoxidotisch zu deuten und damit den bereits überwundenen Degenerationsbegriff im Gewande einer intracellulären Dysenzymie wieder aufleben zu lassen. Der Erkenntniswert einer derartigen summarischen Betrachtungsweise ist gering.

Wichtiger ist die grundsätzliche Erwägung, welche Formen der Zellerkrankung es überhaupt gibt und über welche gestaltliche und funktionelle Zwischenstufen sie ablaufen. Es sind also die Möglichkeiten der cellulären Reizbeantwortung im weitesten Sinne des Wortes, die einer weiteren Klärung bedürfen. Da die herkömmlichen histologischen Methoden nur unter bestimmten Voraussetzungen (Untersuchung lebender oder überlebender Zellen) und in begrenztem Maße zur Beantwortung derartiger Fragen geeignet erscheinen, hat es sich in steigendem Maße als erforderlich erwiesen, physiologische und physikalisch-chemische Forschungsergebnisse zu berücksichtigen.

Die Zelle besteht aus einem komplizierten System ineinandergeschachtelter Reaktionsräume (Kern, Protoplasma, Mitochondrien), die durch besondere Grenzflächen getrennt sind. Das Innere dieser Räume ist strukturiert zu denken (FREY-WYSSLING) und an diesen Strukturen vollzieht sich ein wesentlicher Teil des Stoffwechsels. Eine große, bei der Interpretation mikroskopischer Befunde bisher aber wenig beachtete Rolle spielen dabei elektrische Membranpotentiale. Sie bestimmen nicht nur den Umfang des Ionenaustrausches, sondern beeinflussen auch den Hydrationsgrad und damit die Innigkeit der Stoffdurchmischung. Bei Verletzung der Zellmembran sinkt das Potential ab und am Beispiel der Muskelzelle läßt sich beobachten, daß dies nicht nur ein Nachlassen der Kontraktilität, sondern auch bestimmte gestaltliche Veränderungen zur Folge hat (ROTHSCHUH).

Wir können es uns versagen, die Details dieses Zellbildes weiter auszumalen. Schon in seinen Umrissen verrät es die *Mannigfaltigkeit* biologischer Reaktionsabläufe. Demgegenüber scheinen die Möglichkeiten der Reizbeeinflussung von außen zahlenmäßig begrenzt und auf zwei in Abwandlungen existierenden Standardmechanismen beschränkt zu sein. Sie lassen sich dadurch charakterisieren, daß eine Noxe entweder am System der biologischen Membranen oder, bei entsprechendem Durchdringungsvermögen, unmittelbar an bestimmten endocellulären Stoffwechselzentren angreift. Die Brauchbarkeit einer solchen gedanklichen Gliederung wird nicht durch die Tatsache gemindert, daß Kombinationen beider Möglichkeiten vorkommen, da Membranfunktion und Stoffwechsel in engen Wechselbeziehungen stehen. Denn gerade diese Beziehungen sind es, nach denen wir fragen, da sie die Spielarten des cytologischen Bildes mitbestimmen, so daß ihre Kenntnis als *Ordnungsprinzip* bei der Deutung derartiger Befunde nicht zu entbehren ist. Welche Stellung die Dysenzymien in diesem System gegenseitiger Abhängigkeiten einnehmen, muß erst die Zukunft lehren.

Es sind also Wechselwirkungen zwischen dem inneren Milieu und Reizen der Umgebung, die das Schicksal der Zelle bestimmen und es wird nötig sein, diese Verhältnisse für jede einzelne Form des Sauerstoffmangels sorgfältig zu analysieren. Hier nehmen die lokalen, zirkulationsbedingten (ischämischen) Hypoxydosen insofern eine Sonderstellung ein, als bei ihnen über die Auswirkung der verminderten Sauerstoffspannung hinaus noch andere krankheitsbedingende Faktoren im Spiel sind (Nährstoffmangel, gestörter Spüleffekt, abnorme Gefäßwanddurchlässigkeit). Es interferiert also Sauerstoffmangel mit den Folgen des Zellhunders, des Stoffwechselstauens und der Dyshorie.

Wir möchten in diesem Zusammenhang den Dyshoriebegriff (SCHÜRMANN) mit LETTERER in seiner ursprünglichen und engen Fassung ausschließlich auf die Capillare angewandt wissen. Durchlässigkeitsstörungen der Zellmembran gehören nicht hierher, da sie anderen Gesetzen gehorchen und auch die Folgen gänzlich andere sind. Die Frage lautet also, ob und in welcher Form die in ihrer Durchlässigkeit gestörte Gefäßwand dem Extravasat toxische Fähigkeiten verleiht und läßt sich in dieser allgemeinen Form bisher nicht beantworten. Doch ist eine Reihe von Teilstörungen bekannt, an denen sich die tatsächliche Bedeutung des Dyshoriebegriffes erweist.

Der Anteil von Zirkulationsstörungen an der Pathogenese des Zellbildes bei ischämischer Hypoxydose ist noch nicht geklärt und wechselt offenbar auch bei den verschiedenen Formen der Kreislaufbehinderung. So zeigen schon die klinische Erfahrung und das histologische Bild, daß Angiospasmen, Arteriosklerose und embolischer Gefäßverschluß, um nur einige Beispiele zu nennen, an den verschiedenen Parenchymen keineswegs die gleiche Auswirkung besitzen. Je weniger dramatisch die Zirkulationsstörung einsetzt, desto eindeutiger kann der reine Sauerstoffmangel

das Bild beherrschen. Ausschlaggebend ist das Ausmaß der Capillarwandschädigung und damit die Zusammensetzung der Extravasate. Diese können die anliegenden Zellen in verschiedener Weise beeinflussen.

Da jedes zellige Gebilde in osmotischem Gleichgewicht mit seiner Umgebung steht, entfaltet möglicherweise schon die Heranführung milieufremder Ionen (Calcium, Natrium) eine pathogene Wirkung. Das wird besonders dann zutreffen, wenn eine hypoxiydotisch bedingte Membranstörung vorliegt. Die Extravasate bilden dann ein Ionenreservoir, das die Transmineralisation begünstigt und zu einer Beschleunigung der Katabiose führt.

Eine besonders wichtige, von der Ionenverschiebung abhängige Folge der Ischämie besteht in der lokalen Abänderung der Wasserstoffionenkonzentration. Ausführliche Messungsergebnisse liegen hierüber von FRUNDER vor. Schon verhältnismäßig geringe Gewebsreize können eine Acidose auslösen. In stärker geschädigtem Gewebe mit gestörter Atmung herrscht die anaerobe Glykolyse vor, die zu einer zunehmenden Gewebsäuerung führt (FRUNDER). Das ist wahrscheinlich die Ursache dafür, daß das Zentrum eines nekrotischen Herdes sauer reagiert. Wie sich die Ligatur der Nierenarterie in der Meerschweinchenniere auswirkt, ist bisher nicht untersucht worden und schwer vorauszusagen. Da das Nierenparenchym eine hohe Aminosäureoxydaseaktivität besitzt, die größere Mengen von Ammoniak freisetzt (FRUNDER), könnte es nach einer gewissen Zeit zur Alkalisierung kommen, die die anfängliche Säuerung allmählich aufhebt. Auch BAYERLE und BORGER sprechen von einem Reaktionsumschlag nach alkalisch, der an der Grenze von Infarkten auftreten soll und mit dem *Einströmen* carbonat-bicarbonathaltiger Flüssigkeit aus der Nachbarschaft in Zusammenhang gebracht wird. Ein derartiger Reaktionsumschlag hätte dann aber das Vorhandensein gesunden Gewebes oder ein Erhaltenbleiben der Zirkulation zur Voraussetzung.

Die große Bedeutung des Wasserstoffionenmilieus ergibt sich aus dem Einfluß, den die Gewebsreaktion auf die Wirksamkeit zelleigener Fermente ausübt. Auch die bei irreversibler Gewebsschädigung und gestörter Semipermeabilität einsetzende Autolyse ist diesen Einflüssen unterworfen. Während ein Teil dieser Fermente im alkalischen Milieu wirksam ist (Polynucleotidasen, Amidasen), liegt das Reaktionsoptimum anderer im Sauren (Kathepsin). Es wird also von den örtlichen Bedingungen im Gewebe abhängen, welches Ferment sich an der Auflösung der Zelle beteiligt. So können Durchblutungsstörungen auf dem Umweg über eine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration Einfluß auf katabiotische Vorgänge gewinnen. Außerdem spricht eine Reihe von Tatsachen dafür, daß Extravasate selbst Fermente enthalten. Möglicherweise stammen sie aus dem Blut und werden im Zusammenhang mit der

dyshorischen Capillarschädigung aktiviert. Die von CAIN dafür beigebrachten Argumente sind allerdings nicht unwidersprochen geblieben (LETTERER) und wohl auch nicht einleuchtend genug, um die Existenz einer solchen Heterolyse zu beweisen. Man wird deshalb die Bedeutung von Zirkulationsstörungen vorerst mehr in der Beeinflussung des Reaktionsmilieus und damit in der Begünstigung von Autolyse, als in der Heranführung heterolytischer Wirkungsgruppen sehen müssen.

Die Auswirkungen des gestauten Stoffwechsels infolge Herabsetzung des Spüleffektes sind im Hinblick auf das Gesamtbild der ischämischen Hypoxydose offenbar sehr unterschiedlich. Das hängt auch hier von Intensität und Dauer der Zirkulationsbehinderung ab. Grundsätzlich ist eine Anhäufung saurer Valenzen zu erwarten. Man vermutet jedoch, daß die Zelle infolge ihrer Unterteilung in zahlreiche kleine Reaktionsräume über Ausgleichsmechanismen verfügt, mit deren Hilfe Stoffwechselschlacken oder paraplastische Substanzen in Form von Tropfen isoliert und ausgestoßen werden können (ALTMANN, TERBRÜGGEN, BECKER). Wir haben im Verlauf unserer eigenen Experimente keine entsprechenden Bilder beobachtet und beziehen das auf das Erhaltenbleiben einer Restzirkulation. Die Folgen der herabgesetzten Durchspülung werden unter den gewählten Versuchsbedingungen offenbar durch die allgemeine Stoffwechselverlangsamung aufgehoben.

Mit dem Auftreten eines Nährstoffmangels ist bei jeder Form der Zirkulationsstörung zu rechnen, sofern die Blutzufuhr merklich verringert ist. Vermindertes Nährstoffangebot in verhältnismäßig reiner Form sieht man bei allgemeinem Glucosemangel infolge Hypoglykämie und die hierbei an Ganglienzellen erhobenen Befunde (HÖPKER) können als paradigmatisch für diese Frage gelten. Überraschenderweise hat sich dabei gezeigt, daß die Folgen von Nährstoffmangel von denen einer verminderten Sauerstoffzufuhr (BÜCHNER und LUFT) nicht zu unterscheiden sind. Die Zelle beantwortet also beide Mangelzustände mit dem gleichen gestaltlichen Substrat. Das kann als weiteres Beispiel für das beschränkte Reaktionsvermögen der Zelle betrachtet werden. Im Gegensatz dazu ist bekannt, daß es gerade an den Ganglienzellen verschiedene, gestaltlich abgrenzbare Formen der Erkrankung gibt (SPIELMEYER), die wiederum für eine gewisse Vielfalt der Reaktionsmechanismen sprechen und in gewissen Grenzen auch Schlüsse auf Eigenart und Angriffspunkt der Störung zulassen (s. hierzu HÖPKER). Die phasenoptische Untersuchung von Nierenepithelien bei ischämischer Hypoxydose scheint ähnliche Möglichkeiten zu eröffnen. Durch Beobachtung überlebender Zellen gestattet sie, über das stationäre Strukturbild hinaus auch Bewegungspheomene zu untersuchen. Der Morphologe gewinnt dadurch eine neue Dimension und die Fähigkeit, unmittelbare Beziehungen zwischen gestaltlichen und funktionellen Tatbeständen herzustellen.

Im einzelnen konnten wir folgende Befunde erheben:

1. osmotisch bedingte Quellungen a) an der gesamten Zelle, b) an den Mitochondrien;
2. Bewegungsphänomene in Gestalt pseudopodienartiger Protoplasmafortsätze;
3. Präcipitationsvorgänge am Zellkern und am Innenkörper der Mitochondrien;
4. Karyo-, Mitochondrio- und Cytolyse.

Osmotisch bedingte Flüssigkeitsverschiebungen an der Gesamtzelle oder ihren Organellen bilden offenbar einen besonders frühzeitigen Befund bei ischämischer Hypoxydose, ohne für diese Form der Zellschädigung spezifisch zu sein. Man sieht sie einmal in Form einer *dissezierenden* Wassereinlagerung in die Zellmembran („*Potocytose*“). Die Ursachen einer derartigen Wasseraufnahme liegen insofern außerhalb unserer eigentlichen Versuchsbedingungen, als die zugrunde liegende Membranstörung bereits durch den Vorgang der Herauslösung von Epithelen aus dem Gewebsverband und die nachfolgende Suspension bedingt sein kann (ZOLLINGER). Demgegenüber haben wir das Auftauchen pseudopodienartiger Ausläufer in Übereinstimmung mit LETTRÉ mit einer Störung des endocellulären Energiestoffwechsels in Zusammenhang gebracht.

Außerdem kann sich die wäßrige Phase der Protoplasmakolloide in Form größerer und kleinerer Tröpfchen im Inneren der Zelle ansammeln, oft unter erheblicher Eindellung des Zellkernes, wie man sie in gefärbten Schnittpräparaten in der Regel nicht sieht (*paranucleärer Hydrops*). Beide Formen lassen sich gestaltlich eindeutig unterscheiden, bilden aber möglicherweise nur verschiedene Stadien eines die ganze Zelle erfassenden Dehydrationsvorganges. Die Aufspaltung der Zellmembran stellt dabei ein besonders empfindliches und bisher nur an der überlebenden Zelle beobachtetes Phänomen dar, das bei nachfolgender Fixierung des Materials der allgemeinen Schrumpfung zum Opfer fällt.

Als weiterer Lokisationsort für Störungen der Flüssigkeitsverteilung sind die Mitochondrien zu nennen. Sie reagieren auf so feine Schwankungen des osmotischen Druckes, daß man sie als „*Osmometer*“ der Zelle betrachten kann. Der stärkste Grad einer solcher Art entstehenden Schwellung ist von ZOLLINGER als „*Vesiculärstadium*“ bezeichnet worden und bildet offenbar das Substrat der „*trüben Schwellung*“. Ihre biologische Bedeutung für die Zelle ist noch unklar. Sie kann unter bestimmten Voraussetzungen mit deren Weiterleben vereinbar sein und ist dann rückbildungsfähig. Nach unseren Untersuchungen stellt sie die erste sichtbare Reaktion der Zelle gegen Ischämie dar. Da die Mitochondrien als Sitz der sauerstoffübertragenden Fermente gelten, sind Beziehungen

zwischen derartigen Schwellungszuständen und der jeweiligen Fermentaktivität zu vermuten. Schon leichte Schwellung vermag die Wirksamkeit der Fermente zu modifizieren, wobei teils über Steigerung (GROLL), teils über Senkung des Sauerstoffbedarfs berichtet wird. In den eigenen Untersuchungen ging die Mitochondrienschwellung mit einem gesetzmäßigen Absinken der Manometerwerte einher. Dieses läßt sich bereits zu einer Zeit beobachten, zu der die Mitochondrien gestaltlich noch intakt sind. Man muß daraus schließen, daß die Fermentstörung der Schwellung vorausgeht und diese möglicherweise dadurch verursacht, daß die zur Aufrechterhaltung des Membranpotentials notwendige Energiezufuhr ausbleibt. Damit erscheint der Sauerstoffmangel als eine Form der Zellschädigung, die an bestimmten Fermenten *angreift*, sich aber gestaltlich in Membranstörungen *äußert*. Ischämische Hypoxydose und Flüssigkeitsverschiebungen stehen also in einem engen Kausalzusammenhang. Die Flüssigkeitsvacuole wird deshalb als charakteristisches Merkmal der Sauerstoffnot betrachtet (BÜCHNER, PICHTKA, BECKER). Sie ist zweifellos kein spezifisches, da es außer der Oxydationsbehinderung noch andere Stoffwechselstörungen gibt, die zu Dehydration führen. Dabei könnte sich das Kausalverhältnis zwischen Dysenzymie und Mitochondrienschwellung insofern gerade umkehren, als die osmotischen Phänomene am Anfang, die Minderung der Fermentleistung am Ende der Kausalkette steht.

Mit der Betrachtung von Präcipitation und Lyse berühren wir bereits Veränderungen, die sich an der absterbenden oder toten Zelle vollziehen. Da sich Nekrose kontinuierlich aus reversiblen Funktionsstörungen heraus entwickelt, sind die Grenzen zum irreversiblen Zellschaden fließend. Die ursprüngliche Ansicht, daß dem biologischen Zelltod ein morphologisch eindeutig definiertes Bild entspreche, ist daher in neuerer Zeit aufgegeben worden (hierzu LETTERER). Man muß deshalb vorerst unter *Nekrose den gestaltlichen Ausdruck aller derjenigen vitalen Reaktionen der Zelle verstehen, die sich nach irreversibler Unterbrechung der Energiezufuhr oder -verwertung entwickeln und in gesetzmäßiger Weise über bestimmte Zwischenstufen herabgesetzter Lebenstätigkeit zur Auflösung des Zelleibes führen.*

Die mikroskopische Erkennung derartiger Zustände ist schwierig, da sich bestimmte Frühformen der Katabiose bei Anwendung der üblichen Färbetechnik nicht darstellen. Das spiegelt sich in einer Reihe neuerer Untersuchungen wider (TERBRÜGGEN, LETTERER, GUILLERY, BAUER), deren Ergebnisse schwer auf einen Nenner zu bringen sind. Zwar gilt nach wie vor die Aussage, daß kernlose Zellen als tot zu betrachten sind, doch läßt sich das Umgekehrte nicht mit der gleichen Ausschließlichkeit behaupten. Auch in toten Zellen kann also unter bestimmten Voraussetzungen die Kernfärbbarkeit erhalten sein. Das

ist im wesentlichen eine Zeitfrage, da der Strukturverfall bis zu einem gewissen Grade dem Erlöschen der Funktion nachhinkt.

Die Frage nach der Erkennbarkeit von Nekrose ist also gleichbedeutend mit derjenigen nach Frühveränderungen des irreversibel gestörten Zellstoffwechsels. Diese sind uns im wesentlichen in Gestalt von Präcipitationsvorgängen begegnet, die man im Phasenmikroskop sowohl am Zellkern als auch an den Mitochondrien beobachtet.

So zeigen die Epithelien der Hauptstücke nach mehrstündiger Gefäßdrosselung Kernbilder, die ZOLLINGER als „glänzenden Kerntyp“ beschrieben hat. Das Chromatin offenbart dabei eine Neigung zur Zusammenlagerung und präcipitiert an der Innenfläche der Kernmembran, während das übrige Karyoplasma völlig leer und wie „ausgewaschen“ (ARNDT) wirkt. Gefärbte Schnittbilder sind für den Nachweis derartiger Veränderungen ungeeignet, da der vorgängige Fixierungsprozeß selbst einer Denaturierung entspricht und diesen feineren Gestaltwandel des Chromatins überdeckt. Aus der Tatsache, daß Zellen dieser Art nicht mehr transplantierbar sind, hat man gefolgert, daß der „glänzende Kerntyp“ einer irreversiblen Schädigung entspricht und mit dem Fortbestand des Lebens unvereinbar ist. Ähnliche Veränderungen lassen sich experimentell durch Extraktion der Thymonucleinsäure mit molarer Kochsalzlösung erzeugen und neuere Untersuchungen von LEUCHTENBERGER scheinen dafür zu sprechen, daß der Vorgang mit einem Eiweißverlust der Zelle verbunden ist. Das geht aus photometrischen Bestimmungen der Färbeintensität von Zellkernen hervor, die bei Pyknose eine Depolymerisation der Desoxyribonucleinsäure um 50% der Ausgangswerte ergaben. Auf welchem Wege die dergestalt zerkleinerten molekularen Aggregate den Zellkern verlassen, ist vorläufig noch ungeklärt. Man ist jedenfalls gezwungen, auch dann eine Störung der Membranpermeabilität anzunehmen, wenn diese zunächst unsichtbar bleibt.

Das Bild des „glänzenden Kerntypes“ stellt aber nur eine Zwischenstation auf dem Wege dar, der von der reversiblen Funktionsstörung zum endgültigen Zelltod führt. Andere Merkmale finden sich an den Mitochondrien. Diese verlieren, wie unsere histologischen Untersuchungen ergaben, zunächst ihre reihenförmige Anordnung in der Epithelzelle. Sie selbst zeigen Aufreibung, Verdichtung des Innenkörpers und endlich auch Niederschläge, also gleichfalls Präcipitationen ihres Inhaltes an der Membran. Es sind grundsätzlich die gleichen Veränderungen, die auch am Kern der Zelle vorkommen. Die engen Beziehungen dieses Gestaltwandels zu Funktionsstörungen sind hier jedoch offenkundiger, weil leichter erfaßbar, und bereits von einer Reihe anderer Untersucher bestätigt worden (s. oben). Bei stärkeren Schädigungsgraden setzt granulärer Zerfall der Mitochondrien ein und unter Zusammenballung der Zerfallsmassen lösen sich die feineren Strukturen

dieser Gebilde vollkommen auf. Im gefärbten Schnitt äußert sich das als Homogenisierung des Protoplasmas. Durch Auflösung der Mitochondrienhülle mit Hilfe von Desoxyribonuclease (ZOLLINGER) läßt sich die gleiche Zerstörung der Mitochondrien erzeugen. Der Innenkörper kann der Einwirkung des genannten Enzyms allerdings eine Zeitlang widerstehen, ist also vom Zustand der Membran doch bis zu einem gewissen Grade unabhängig.

Da ein großer Teil des Protoplasmas der Tubulusepithelien aus Mitochondrien besteht, muß deren Zustand auch das histologische Schnittbild beeinflussen. Am Beispiel der „trüben Schwellung“ hat ZOLLINGER bereits auf solche Zusammenhänge aufmerksam gemacht. Sterben die Nierenepithelien nach Arterienligatur ab, so nimmt das Protoplasma im Phasenmikroskop eine körnig-wolkige Beschaffenheit an, völlige Homogenisierung, das Bild der Gerinnungsnekrose also, stellt sich nicht ein.

Dadurch unterscheidet sich das phasenoptische Bild vom gefärbten histologischen Schnitt. Die Unterschiede können insofern methodisch bedingt sein, als der Aufschwemmungsvorgang die chemisch-fermentativen Voraussetzungen für die Plasmagerinnung verändert (BAUER). So könnte sich das Fehlen von Calciumionen und die Beseitigung der Gewebsacidose in diesem Sinne auswirken. — Weiter ist zu erwägen, welchen Einfluß der Fixierungsvorgang auf die Entstehung der Koagulationsnekrose ausübt. Während beispielsweise die Zellen nach Vorbehandlung mit BOUINSCHER Flüssigkeit ein feingranuliertes Aussehen annehmen, besitzt das Formaldehyd eine homogenisierende Wirkung auf das Protoplasma. Das Bild der Zelle ist also durch technische Maßnahmen in bestimmten Grenzen modifizierbar.

Auch das Problem der Nekrophanerose ist wenigstens teilweise ein methodisches. Die Zeit zwischen einer Gewebsschädigung und dem Sichtbarwerden entsprechender Veränderungen an der Zelle wird bei vergleichbarer Versuchsanordnung ziemlich übereinstimmend mit 4 bis 6 Std angegeben (MOEGEN, BÜCHNER und LUCADOU). Das gilt sowohl für den Herzmuskel als auch für die Niere. Neuerdings konnten auch KELLNER und ROBERTSON nach intravenöser Verabreichung proteolytischer Fermente innerhalb dieser Zeitspanne Herzmuskelnekrosen entstehen sehen. Zweifellos beruht diese „Latenzzeit“ wenigstens zum Teil auf methodischen Schwierigkeiten. Sie bestehen darin, daß die ersten Strukturänderungen nach irreversibler Gewebsläsion entweder unterhalb der lichtmikroskopischen Sichtbarkeitsgrenze liegen (BÜCHNER) oder bei der üblichen Behandlung des Materials zerstört werden.

Außerdem muß man aber fragen, ob und wieweit Nekrose Bedingungen unterliegt, die in der Eigenart des Absterbevorganges selbst begründet sind.

Da das Bild der Nekrose unter dem Einfluß autolytischer Fermente entsteht, können wir der Meinung KETTLERS, daß „Nekrophanerose erst nach Einwirkung des aus der Blutbahn ausgetretenen Serums“ erfolgt, nicht beipflichten. Die Wurzeln dieser Vorstellung lassen sich bis zu Untersuchungen zurückverfolgen, die dem Nachweis zell- und gewebsfeindlicher Eigenschaften des Blutserums dienten und bis auf den Tag keine unbestrittene Geltung besitzen. Auch die Erfahrungen an Explantaten sind in dieser Hinsicht vieldeutig (GUILLERY, neuerdings KNAKE).

Das Phänomen der Nekrophanerose erscheint uns demgegenüber wesentlich in Struktur und Funktion der Zelle selbst begründet. Da der Nekrosevorgang eine vitale Reaktion darstellt, entwickelt er sich als das Ergebnis einer *Auseinandersetzung* zwischen Irritation und cellulärer Abwehr. Unter den Abwehr- und Ausgleichsmechanismen der Zelle steht das System der biologischen Membranen an erster Stelle und der Abbau der Membranpotentiale bildet die wesentlichste Voraussetzung für jede tiefgreifende Zustandsänderung des Protoplasmas. Die Pathogenese derartiger „Dysorosen“ (ZOLLINGER) ist verschieden. Außer einer unmittelbaren Giftschädigung der verschiedenen Grenzschichten können sich Schädlichkeiten, zu denen auch der Sauerstoffmangel gehört, zunächst innerhalb bestimmter Reaktionsräume auswirken, um dann erst mittelbar und gewissermaßen von innen heraus die Zell-, Kern- oder Mitochondrienmembran zu beeinträchtigen. Das Ergebnis wäre in jedem Fall deren abgeänderte Permeabilität (RÖSSELE). Welche Möglichkeiten der Beeinflussung innerzelliger Reaktionsabläufe in Betracht kommen, haben früher EGER und in neuester Zeit GOEBEL und PUCHTLER dargelegt, auf deren Ausführungen wir an dieser Stelle verweisen.

Die Tatsache, daß der Ablauf derartiger Ausgleichsvorgänge, wie jeder biologischen Umsetzung, unter Einhaltung bestimmter Reaktionszeiten erfolgt (Massenwirkungsgesetz), erscheint uns als wichtige Ursache für das verzögerte Sichtbarwerden von Nekrose. Die vielfach beobachtete Frist von 4—6 Std (s. oben) könnte dabei für das Vorhandensein typischer Standard- und Gruppenreaktionen sprechen, die durch verschiedenste Reize in Gang kommen und in gesetzmäßiger Weise über bestimmte Zwischenstufen zu einer Regeneration oder einem Abbau der biologischen Aggregate führen. Der gestaltliche Ausdruck dieses Reaktionstypes, zu dessen ursächlichen Voraussetzungen auch der Sauerstoffmangel gehört, besteht in Quellungs- und Entquellungsvorgängen. Die ergiebigste Methode stellt die Betrachtung überlebender Zellen mit Hilfe des Phasenmikroskops dar.

Eine zweite Form der irreversiblen Zellschädigung kann offenbar über eine direkte und nahezu momentane Lähmung oder Blockierung lebenswichtiger Stoffwechselprozesse ablaufen. Hierfür kommen Sub-

stanzen (Malonsäure) — DOERR und BECKER — mit hohem Permeationsvermögen und nahezu spezifischer Hemmwirkung an genau definierten chemisch-fermentativen Umsetzungen in Betracht. Sie sind in der Lage, den Schutzmechanismus der biologischen Membranen zu umgehen und in Gestalt einer „Überrumpelungsreaktion“ die cellulären Lebensvorgänge von einer Minute zur anderen zu unterbrechen. In diesem Falle kann die gestaltliche Veränderung der Zelle und der Zelltod nahezu unmittelbar nach Einwirkung der toxischen Substanz sichtbar werden. Die zeitlichen Unterschiede von „Nekrophanerose“ beruhen also entweder auf der unterschiedlichen Angriffsweise der genannten Giftstoffe oder auf der Tatsache, daß die Inaktivierung lebenswichtiger Fermente mit wesentlich größerer Geschwindigkeit erfolgt als unter der Auswirkung einer verminderten Sauerstoffspannung.

Ein weiteres wichtiges Merkmal des Nekrosevorganges besteht in dem plötzlichen und nahezu überstürzten Auftreten der Merkmale des Zelltodes. So sahen wir während der eigenen Experimente das Vollbild der Nekrose zwischen der 4. und 6. Unterbindungsstunde entstehen. Der Eindruck eines vorangehenden erscheinungsfreien Intervallus wird durch diesen Gegensatz verstärkt. Die Gesetzmäßigkeit dieses zeitlichen Ablaufes der ischämischen Nekrose kommt in der von uns gefundenen Kurve für den Abfall der Atemintensität zum Ausdruck. Da die Autolyse, wie jede Fermentreaktion, dem Massenwirkungsgesetz folgt, hängt die Reaktionsgeschwindigkeit auch hier von der Anzahl der reagierenden Moleküle ab und ist daher innerhalb des ersten Halbwertzeitintervallus am größten. Damit wird der Tatbestand erklärt, daß man nach Überwindung der cellulären Ausgleichsmechanismen das Bild der Nekrose in einer verhältnismäßig kurzen Zeitspanne entstehen sieht, während die endgültige Auflösung der Zelle später beträchtlich langsamer erfolgt.

Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß die dargestellten Zusammenhänge nur für jene Fälle Gültigkeit besitzen, in denen sich das Absterben der Zelle unter allmählicher Inaktivierung der Zellfermente und Mitwirkung von Autolyse vollzieht. Kommen Gifte zur Anwendung, die den gesamten Fermentapparat oder wesentliche Teile lähmen, so treten Reaktionsmechanismen der Zelle ins Spiel, die in der vorliegenden Untersuchung nicht berücksichtigt werden.

Besprechung der Ergebnisse.

Unterbindet man beim Meerschweinchen eine Nierenarterie und bestimmt nach verschiedenen Zeitintervallen manometrisch die Gewebsatmung, so beobachtet man ein gesetzmäßiges Absinken der Atemintensität. Dieses erfolgt nach Art einer Exponentialkurve, aus der sich die Halbwertzeit von 4,6 Std errechnen läßt. Die Destruktion bzw. Inaktivierung der sauerstoffübertragenden Fermentgruppen erfolgt also

mit anfangs hoher, später nachlassender Geschwindigkeit. Da der anfängliche Kurvenabfall bei konstanter Halbwertzeit um so steiler sein muß, je höher die Anfangskonzentration der betreffenden Fermentsubstrate ist, ergibt sich hieraus die mathematische Formulierung des bekannten biologischen Tatbestandes, daß die Empfindlichkeit einer Zelle gegen Ischämie mit ihrem Differenzierungsgrad ansteigt.

Die gleichzeitige histologische Untersuchung der Nieren ergab sowohl Zirkulationsstörungen als auch katabiotische Veränderungen an den Tubulusepithelien. Die Zirkulationsstörungen können das Absterben der Epithelien begünstigen, sind aber nicht die eigentliche Ursache der Epithelnekrose. Diese findet sich vielmehr in Form eines tiefgreifenden Gestaltwandels der Mitochondrien, der dem Absinken der Manometerwerte parallel geht. Durch einen sehr früh zu beobachtenden Verlust der micellaren Faserstruktur des Protoplasmas verlieren die Mitochondrien zunächst ihre reihenförmige Anordnung und nehmen eine vollkommen ungeordnete Lagerung ein. Außerdem kommt es zu einer zunehmenden Aufreibung der Granula. Da das geordnete *Nebeneinander* der Mitochondrien als gestaltlicher Ausdruck eines *Nacheinanders* bestimmter Fermentreaktionen aufzufassen ist, muß sich die Aufhebung der ursprünglichen Ordnung in intracellulären Stoffwechselstörungen auswirken.

Einen weiteren Einblick in das Verhalten der Nierenepithelien bei ischämischer Hypoxydose gewähren histochemische Untersuchungen mit Hilfe der TTC- und Nadireaktion. Beide Methoden sind allerdings nicht geeignet, Frühveränderungen der ischämischen Hypoxydose zu erfassen. Sie zeigen erst dann einen Reaktionsausfall, wenn das gefärbte histologische Schnittpräparat bereits die Merkmale der Nekrose darbietet. Man muß daraus schließen, daß sowohl Oxydasen als auch Reduktasen verhältnismäßig stabile *Teilglieder* der Atmungsfermentkette darstellen, während der intracelluläre Atemmechanismus in seiner Gesamtheit wesentlich empfindlicher ist.

Die besten Ergebnisse für unsere Fragestellung lieferten phasenoptische Untersuchungen suspendierter Epithelzellen. Das gestaltliche Bild der geschädigten und absterbenden Zelle läßt enge Beziehungen zum Verhalten der gleichzeitigen Gewebsatmung erkennen. Entsprechend der Abnahme der Atemintensität finden sich regressive Veränderungen an Kern und Protoplasma. Dabei muß man das Suspensionsmilieu berücksichtigen, da dessen Wahl und Konstanterhalten das im Phasenmikroskop erscheinende Äquivalentbild beeinflußt. Täuschungen durch Artefakte sind also auch im Phasenmikroskop nicht ausgeschlossen.

Die ersten Veränderungen bei ischämischer Hypoxydose sieht man in Gestalt einer Schwellung und Präcipitation des Innenkörpers an den Mitochondrien. Diese können später der „granulären“ Auflösung ver-

fallen. In der gleichen Zeitspanne entwickelt sich das Bild des „glänzenden Kerntyps“, der mit großer Wahrscheinlichkeit eine irreversible Schädigung anzeigt und in Pyknose und Karyolyse übergeht. Besonders charakteristisch für Nekrosenvorgänge an der überlebenden Zelle sind Störungen des Wasserhaushalts in Gestalt einer Wasseraufnahme aus dem umgebenden Suspensionsmilieu. Pseudopodienartige Zellausläufer werden dagegen als das Ergebnis von Bewegungsvorgängen betrachtet, die möglicherweise durch Lähmung der intracellulären Energieübertragung ausgelöst werden. Sie könnten die Tatsache erklären, daß man bei bestimmten Formen interstitieller Nephritis die Tubulusepithelien in das interstitielle Bindegewebe „ausschwärmen“ sieht.

Die Bedeutung methodisch kombinierter Untersuchungen beruht auf den dadurch gegebenen Ergänzungsmöglichkeiten. Befunde, die von einer Methode her nur einer unsicheren Deutung zugängig sind, lassen sich jetzt in einen festen Kausalzusammenhang einordnen. Das gilt besonders für die gestaltlichen Auswirkungen des Sauerstoffmangels. Bei einzelnen Formen, wie der ischämischen Hypoxydose, unterliegt die Zelle so verschiedenartigen Einflüssen, daß es schwer oder unmöglich sein kann, vom morphologischen Substrat auf eine bestimmte auslösende Ursache zu schließen. Diese Aufgabe wird noch durch die Tatsache erschwert, daß das Reaktionsvermögen der Zelle begrenzt ist. Die Nutzung des Phasenmikroskopes zeigt aber, daß es Formen der cellulären Reizbeantwortung gibt, die einen tieferen Einblick in die Pathogenese bestimmter Stoffwechselstörungen gestatten, als das fixierte und gefärbte Schnittpräparat.

Aus den vorliegenden Untersuchungen gewannen wir weiterhin Anhaltspunkte für die ursächlichen Bedingungen des verspäteten Sichtbarwerdens von Nekrose (Nekrophanerose). Dieses kann insofern auf methodischen Schwierigkeiten beruhen, als die ersten gestaltlichen Veränderungen mit den bisher angewandten Untersuchungsverfahren in der Regel nicht zu erfassen sind. Hier sind phasenoptische Untersuchungen berufen, die bestehende Kluft wenigstens teilweise zu überbrücken. Darüber hinaus läßt sich aber das Vorhandensein einer „Latenzzeit“ auf eine Reihe von Eigenschaften der Zelle und des Nekrosevorganges selbst zurückführen. Da sich Nekrose kontinuierlich aus reversiblen Stoffwechselstörungen heraus als vitale Reaktion entwickelt, verläuft sie unter Einhaltung bestimmter Reaktionszeiten in mehreren Stadien. Nach einer Phase der Auseinandersetzung zwischen Irritation und zelligen Ausgleichsmechanismen setzen bestimmte *Standardreaktionen der Katabiose* ein, in deren Verlauf ein autolytischer Abbau lebenswichtiger Strukturen und Funktionen erfolgt. Die wiederholte Beobachtung einer bestimmten Zeitspanne (4—6 Std) zwischen Schädigung und Nekrophanerose scheint uns für eine derartige *biologische Reaktionskinetik*

zu sprechen. Da die Destruktion und Inaktivierung bestimmter molekularer Aggregate (sauerstoffübertragende Fermente) durch eine Kurve darstellbar ist, welche einer Exponentialfunktion entspricht, ist die Geschwindigkeit, mit der sich die Nekrose entwickelt, anfangs groß, im weiteren Verlauf aber nachlassend. Die Merkmale der Nekrose stellen sich deshalb nach Ablauf der „Latenzzeit“ schnell und in gedrängter Folge ein.

Werden bestimmte Teile des innerzelligen Fermentapparates durch unmittelbare Gifteinwirkungen (Malonsäure usw.) gelähmt, so kann die Zelle unter dem Bild einer „Überrumpelungsreaktion“ sehr viel schneller absterben und schon nach wenigen Minuten als geschädigt erkennbar sein.

Zusammenfassung.

Nach Unterbindung einer Nierenarterie des Meerschweinchens beobachtet man bei manometrischer Bestimmung der Gewebsatmung in dem zugehörigen Organ ein Absinken der Atemintensität. Dieses erfolgt nach Art einer Exponentialkurve mit einer Halbwertzeit von 4,6 Std, woraus sich die mathematische Formulierung des bekannten Tatbestandes ergibt, daß die Empfindlichkeit von Zellen gegen Ischämie mit ihrem Differenzierungsgrad ansteigt.

Gleichzeitig sieht man im histologischen Schnitt katabiotische Veränderungen an den Tubulusepithelien, denen nachweisbar ein tiefgreifender Struktur- und Gestaltwandel der Mitochondrien zugrunde liegt. Zirkulationsstörungen spielen nur eine unterstützende Rolle.

Die histochemische Darstellung der Oxydasen und Reduktasen ergibt dann eine Beeinträchtigung des Reaktionsausfalles, wenn die Zellen histologisch Nekrosemerkmale aufweisen, ist also weniger empfindlich als die manometrische Bestimmung der Atemintensität.

Dagegen erweist sich die phasenoptische Untersuchung suspendierter, überlebender Nierenepithelien als besonders gut geeignet, den Absterbevorgang zu verfolgen und durch eine kontinuierliche Reihe von Merkmalen zu charakterisieren, die dem manometrisch gewonnenen Kurvenverlauf entspricht.

Die Tatsache des verspäteten Sichtbarwerdens von Nekrose (Nekrophanerose) beruht einmal auf der Unzulänglichkeit der meisten gebräuchlichen Untersuchungsverfahren, zum anderen aber auf der Eigenart des Nekrosevorganges selbst. Dieser ist als vitale Reaktion aufzufassen und verläuft nach den Gesetzen der biologischen Reaktionskinetik unter Einhaltung bestimmter Reaktionszeiten, die möglicherweise für jede Zellart charakteristisch sind. Man kann deshalb von Standardreaktionen der Katabiose sprechen.

Literatur.

- ALTMANN, H. W.: (1) *Z. Naturforsch.* **4b**, 138 (1949). — (2) *Frankf. Z. Path.* **60**, 376 (1949). — ANNAU, E., A. MANGINELLI and A. ROTH: *Cancer Res.* **11**, 404 (1951). — ARNDT, S.: *Diss. Greifswald* 1954. — ARNOLD, J.: (1) *Virchows Arch.* **169**, (1902). — (2) Über Plasmasstrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Jena 1914. — BARGMANN, W.: *Zbl. inn. Med.* **60** (1939). — BAUD, CH.-A.: (1) *Bull. Histol. appl.* **26**, 12 (1949). — (2) *Archives d'Anat.* **34**, 43 (1952). — (3) *Acta anat. (Basel)* **17**, 110 (1953). — BAUER, J.: *Frankf. Z. Path.* **57**, 122 (1943). — BAYERLE, H., u. G. BORGER: *Beitr. path. Anat.* **103**, 215 (1939). — BECHER, E.: *Nierenkrankheiten*, Bd. 1. Jena: Gustav Fischer 1944. — BECKER, V.: *Klin. Wschr.* **1954**, 577. — BECKER, V., u. R. RIEKEN: *Virchows Arch.* **325**, 1 (1954). — BENDA, C.: *Anat. Anz.* **23**, Erg.h., 123 (1903). — BENSLEY, R. R.: *Anat. Rec.* **98**, 609 (1947). — BERNHARD, W., F. HAGUNEAU u. CH. OBERLING: *Experientia (Basel)* **8**, 58 (1952). — BIERLING, R.: *Z. Krebsforsch.* **60**, 31 (1954). — BLESSIG: *Virchows Arch.* **16**, 120 (1859). — BLÖDORN, M.: *Diss. Greifswald* 1954. — BOURNE, G. H.: *J. Roy. Microsc. Soc.*, Ser. III **70**, 367 (1950). — BRACHET, J.: *Ann. New York Sci.* **50**, 861 (1950). — BRADFIELD, J. R. G.: *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.* **25**, 113 (1950). — BRÄM, A.: *Acta anat. (Basel)*, **13**, 385 (1951). — BRODERSEN, J.: *Inaug.-Diss. Rostock* 1904. — BÜCHNER, FR.: (1) *Verh. Dtsch. Path.* Breslau 1944. — (2) *Allgemeine Pathologie*. München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1950. — BÜCHNER, FR., u. W. v. LUCADOU: *Beitr. path. Anat.* **93**, 169 (1934). — BÜCHNER, FR., u. U. LUFT: *Beitr. path. Anat.* **96**, 549 (1936). — CAIN, H.: *Frankf. Z. Path.* **58**, 171 (1944). — CHAMBERS, R.: *Ann. New York Acad. Sci.* **50**, 817 (1950). — CHRISTIANSEN, E. G.: *Nature (Lond.)* **163**, 361 (1949). — CLAUDE, A.: (1) *Adv. Protein Chem.* **5**, 423 (1949). — (2) *Ann. New York Acad. Sci.* **50**, 854 (1950). — CRICK, F. H. C., and A. F. W. HUGHES: *Exper. Cell Res.* **1**, 37 (1950). — DALTON, A. J.: *Ann. New York Acad. Sci.* **51**, 1295 (1952). — DANGEARD, P.: *C. r. Acad. Sci. Paris* **232**, 1274 (1951). — DISSE, J.: (1) *Anat. H.* **2**, 141 (1893). — (2) *Sitzgsber. Ges. Naturwiss. Marburg* **1898**, 165; **1900**, 49. — DIXON, M.: *Biol. Rev.* **4**, 352 (1929). — DOERR, W.: *Verh. dtsch. Ges. Path.* **1952**, 316. — DOERR, W., u. V. BECKER: *Verh. dtsch. Ges. Path.* **35**, 222 (1952). — EGER, W.: *Ärztl. Forsch.* **4**, 349 (1950). — FAHR, E.: *Virchows Arch.* **310**, 123 (1943). — *Frankf. Z. Path.* **57**, 533 (1943). — FELIX, K.: (1) 2. *Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol.*, Mosbach 1952. — (2) *Experientia (Basel)* **8**, 312 (1952). — FISCHER, H.: *Verh. der Anat. Ges.* 1938. — *Erg.h. z. Anat. Anz.* **87**. — FLECKENSTEIN, A., u. G. BERG: (1) *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **212**, 184 (1950). — (2) *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **212**, 184 (1951). — FREY, E., u. J. FREY: *Die Funktionen der gesunden und kranken Niere*. Berlin: Springer 1950. — FREY-WYSSLING, A.: *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas*. 1938. — FRUNDER, H.: (1) *Die Wasserstoffionenkonzentration im Gewebe lebender Tiere*. Jena: Gustav Fischer 1951. — (2) *Hoppe-Seylers Z.* **291** (1952). — GEBELEIN-HEITE, H., u. H. J.: *Statistische Urteilsbildung für Mediziner und Biologen*. Berlin: Springer 1951. — GOEBEL, A., u. H. PUCHTLER: *Virchows Arch.* **326**, 119 (1954). — GRAEFF, S.: (1) *Frankf. Z. Path.* **2**, 358 (1912). — (2) *Beitr. path. Anat.* **70**, 1 (1922). — GRAFFI, A., H. KRIESEL, E. J. SCHNEIDER, G. SYDOW, V. BEYER, J. GUSE u. L. KÜGLER: *Arch. Geschwulstforsch.* **6**, 226 (1953). — GREEN, D. E.: *J. Cellul. a. Comp. Physiol.* **39**, Suppl. 2, 75 (1952). — GROLL, H.: (1) *Verh. dtsch. Ges. Path.* **20**, 424 (1925). — (2) *Krankheits-Forsch.* **2**, 195 (1926). — (3) *Krankheits-Forsch.* **5**, 126 (1927). — (4) *Beitr. path. Anat.* **103**, 559 (1939). — (5) *Virchows Arch.* **316**, 384 (1949). — GROLL, H., u. G. MERKLE: *Beitr. path. Anat.* **92**, 518 (1933/34). — GUILLYERY, H.: *Virchows Arch.* **304**, 317 (1939). — HAGUNEAU, F., and W. BERNHARD: *Exper. Cell Res.* **3**, 629 (1952). — HARMAN, J. W.: (1) *Stain Technol.* **25**, 69 (1950). — (2) *Exper. Cell*.

Res. **1**, 382 (1950). — (3) Exper. Cell Res. **1**, 394 (1950). — HARMAN, J. W., and M. FEIGELSON: (1) Federat. Proc. **11**, 417 (1952). — (2) Exper. Cell Res. **3**, 47 (1952). — (3) Exper. Cell Res. **3**, 58 (1952). — HAYEK, H. v.: Naturwiss. **37**, 262 (1950). — HAYEK, H. v., u. U. THUNS: Z. Anat. **116**, 436 (1952). — HEINZEL, W.: Virchows Arch. **325**, 285 (1954). — HIRSCH, C.: Anat. H. **41**, 129 (1910). — HÖBER, R.: Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Bern: Stämpfli 1947. — HÖFFLER, K., A. TOTH u. M. LUHAN: Protoplasma (Wien) **39**, 62 (1949). — HÖPKER, W.: (1) Z. Zellforsch. **38**, 218 (1953). — (2) Die Wirkung des Glukosemangels auf das Gehirn. Leipzig: Georg Thieme 1954. — HOGEBOOM, G. H., W. C. SCHNEIDER and G. E. PALLADE: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **65**, 320 (1947). — HOLLANDE, A. Ch.: Bull. Histol. appl. **1924** (I), 422. — HOLTER, H.: Adv. Enzymol. **13**, 1 (1952). — KELLNER, A., and Th. ROBERTSON: J. of Exper. Med. **99**, 387 (1954). — KETTLER, L. H.: (1) Verh. dtsch. Ges. Path. **33**, 74 (1950). — (2) Verh. dtsch. Ges. Path. **1951**, 333. — (3) Virchows Arch. **321**, 326 (1952). — KLEIER, A.: Beitr. path. Anat. **103**, 559 (1939). — KNAKE, E.: (1) Virchows Arch. **324**, 1 (1953). — (2) Virchows Arch. **325**, 580 (1954). — KNOTH, W.: (1) Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 364 (1935). — (2) Z. Krebsforsch. **59**, 347 (1953). — KREBS, H. A.: Biochim. et Biophysica Acta **4**, 249 (1950). — KUHN, R., u. D. JERCHEL: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 941, 949 (1941). — LAKON, G. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 191 (1937). — LAMBERT, P.: Beitr. path. Anat. **98**, 103 (1936). — LANG, K.: (1) Klin. Wschr. **1947**, 868. — (2) 2. Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol., Mosbach 1952. — LANG, K., u. G. SIEBERT: Biochem. Z. **320**, 402 (1950). — LEHMANN, F. E.: 2. Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol., Mosbach 1952. — LEHNINGER, A. L.: Z. Naturforsch. **7b**, 256 (1952). — LEPESZINSKAJA, O.: Z. ärztl. Fortbildg **45**, 339 (1951). — LETTERER, E.: (1) Verh. dtsch. Ges. Path. **27**, 254 (1934). — (2) Naturforschung und Medizin in Deutschland, Bd. 71. Allgemeine Pathologie. 1953. — LETTRÉ, H.: (1) Naturwiss. **38**, 490 (1951). — (2) Naturwiss. **39**, 266 (1952). — (3) Dtsch. med. J. **1952**, 414. — LETTRÉ, H., MA. ALBRECHT u. R. LETTRÉ: Naturwiss. **38**, 505 (1951). — LETTRÉ, H., u. R. LETTRÉ: Naturwiss. **40**, 203 (1953). — LEUCHTENBERGER, C.: Chromosoma (Wien) **3**, 449 (1950). — LEUCHTENBERGER, C., and Fr. SCHRADER: Biol. Bull. **101**, 95 (1951). — LINDFORD, R. J., and J. SMILES: J. Roy. Microsc. Soc., Ser. III, **70**, 186 (1950). — LITTEN, M.: Z. klin. Med. **1**, 131 (1880). — LUFT, U.: Beitr. path. Anat. **99**, 359 (1937). — MATTSON, A. M., C. O. JENSON and R. A. DUTCHER: Science (Lancaster, Pa.) **106**, 294 (1947). — MAZIA, D.: Ann. New York Acad. Sci. **50**, 954 (1950). — MEJSEL, M. N., T. M. KONDRAEVA u. N. A. POMOSNIKOVA: Z. obsc. Biol. **12**, 312 (1951). — MOEGEN, P.: Frankf. Z. Path. **54**, 352 (1940). — MÖLLENDORFF, W. v.: In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VII/1. 1930. — MÖNNIGHOFF, F. H.: Beitr. path. Anat. **102**, 87 (1939). — MONNE, L.: Adv. Enzymol. **8**, 1 (1948). — MÜHLETHALER, K., A. F. MÜLLER u. H. U. ZOLLINGER: Experientia (Basel) **6**, 16 (1950). — NETTER, H.: Verh. dtsch. Ges. Path. **1950**, 8, 112. — NIESSING, K.: Morph. Jahrb. **85** (1941); Anat. Anz. **95** (1944). — OLIVER, J.: Harvey Lect. **40**, 102 (1944/45). OPITZ, E.: Verh. dtsch. Ges. Path. **1950**, 18, 112. — PALADE, G. E.: Anat. Rec. **114**, 427 (1952). — PAU, H., u. W. RUMMEL: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 349 (1953). — PECKSIEDER, M. E.: Biol. generalis (Wien) **19**, 224 (1950). — PERNER, E. S.: Biol. Zbl. **71**, 43 (1952). — PICNOTKA, J.: Beitr. path. Anat. **107**, 117 (1942). — Klin. Wschr. **1941**, 726. — PISCHINGER, A.: Protoplasma (Wien) **39**, 567 (1950). — RANDERATH, E.: In E. BECHER, Nierenkrankheiten, Bd. 2. Jena 1947. — RATHER, L. J.: Medicin (Baltimore) **31**, 357 (1952). — ROBERTIS, E. P., y G. F. POCH: Rev. Soc. argent. Biol. **23**, 34 (1947). — ROBERTS, S. H.: Anat. Rec. **104**, 163 (1949). — RÖSSLE, R.: (1) In ASCHOFF, Lehrbuch der pathologischen Anatomie. Jena: Gustav Fischer 1928. — (2) Virchows Arch. **311**, 256 (1943). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — ROTHSCHUH, K. E.: (1) Pflügers Arch.

- 254, 171 (1951). — (2) Pflügers Arch. 255, 367 (1952). — (3) Gastvorlesung Greifswald 1954. — ROTSTEIN, Th.: Verh. biol. Verein Stockholm 3, 53 (1891). — RÜTTIMANN, A.: Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 14, 373 (1951). — SARRE, H., u. A. MOENCH: Z. exper. Med. 117, 49 (1951). — SCHRAMM, G.: 2. Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol., Mosbach 1952. — SCHÜMELFEDER, N.: (1) Naturwiss. 36, 58 (1949). — (2) Virchows Arch. 318, 119 (1950). — (3) Verh. dtsch. Ges. Path. 1950, 65. — SCHÜRMANN, P., u. H. E. MACMAHON: Virchows Arch. 291, 47 (1933). — SELIGMAN, A. M., H. H. CHANNCEY and M. NACHLAS: Stain Technol. 26, 19 (1951). — SHOWACRE, J. L.: J. Nat. Cancer Inst. (Bethesda) 13, 829 (1953). — SJÖSTRAND, F. S., and J. RHODIN: Exper. Cell Res. 4, 426 (1953). — SLATER, E. C.: 4. Kolloquium der dtsch. Ges. für Physiol., S. 64. — SPIELMEYER, M.: Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems. 1930. — STAEMMLER, M.: Virchows Arch. 259, 336 (1926). — STIER, A.: Z. Anat. 116, 399 (1952). — STRUGGER, S.: Naturwiss. 34, 267 (1947). — STRUGHOLD, H.: Klin. Wschr. 1944, 221. — SUZUKI, T.: Zur Morphologie der Nierensekretion unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Jena 1912. — TERBRÜGGEN, A.: (1) Beitr. path. Anat. 98, 264 (1936). — (2) Virchows Arch. 299, 775 (1937). — (3) Zbl. Path. 83, 58 (1945). — (4) Verh. dtsch. Ges. Path. 1949, 37. — (5) Verh. dtsch. Ges. Path. 1950, 37. — (6) Ärztl. Forsch. 4 (I), 517 (1950). — THUNBERG, T.: Die Enzyme der elementaren Atmung. In FLASCHENTRÄGER-LEHNARTZ, Physiologische Chemie, Bd. 1. 1951. — UHER, V.: Beitr. path. Anat. 104 (1939). — VIRCHOW, R.: Virchows Arch. 8, 3 (1855). — WAINWRIGHT, J.: Brit. Exper. Path. 31, 400 (1950). — WARBURG, O.: Wasserstoffübertragende Fermente. Berlin: Werner Saenger 1948. — WERRA, J. v.: Virchows Arch. 88, 197 (1882). — ZEIGER, K.: Mikroskopie (Wien) 5, 205 (1950). — ZINGG, W.: Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 14, 1 (1951). — ZOLLINGER, H. U.: (1) Amer. J. Path. 24, 545 (1948). — (2) Amer. J. Path. 24, 569 (1948). — (3) Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 11, 276 (1948). — (4) Experientia (Basel) 4, 312 (1948). — (5) Amer. J. Path. 24, 797 (1948). — (6) Amer. J. Path. 24, 1039 (1948). — (7) Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 11, 617 (1948). — (8) Neue med. Welt 1, 147 (1950). — (9) Experientia (Basel) 6, 14 (1950). — (10) Umschau 50, 348 (1950). — (11) Rev. d'Hématol. 5, 696 (1950). — (12) Verh. dtsch. Ges. Path. 1952, 125. — ZOLLINGER, H. U., u. O. SPÜHLER: Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 13, 807 (1950). — ZUNTZ, N.: Verh. der physiol. Ges. Berlin. Du Bois-Reymonds Arch. 1895, 570.

Prof. Dr. med. G. HOLLE,
Pathologisches Institut der Universität Greifswald.