

Aus dem Pathologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin,
dem Rudolf-Virchow-Haus der Charité (Direktor: Prof. Dr. L. H. KETTLER)

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen experimenteller hypoxämischer Nierenschädigungen

Von

GISELA MOLZ

(Eingegangen am 7. Oktober 1955)

Sauerstoffmangel führt an hochdifferenzierten Zellen schon nach kurzer Zeit zur Einschränkung der Zellfunktion und bei längerer Dauer zu irreversiblen Veränderungen an den Plasma- und Kernstrukturen. Funktionelle Störungen lassen sich am geschädigten Gewebe bereits früh, morphologische Umwandlungen mit Hilfe der gebräuchlichen Färbemethoden aber erst verhältnismäßig spät nachweisen (OPITZ). Eine frühzeitige Unterscheidung lebender und toter Zellen soll nach STRUGGER durch Färbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff Acridinorange möglich sein. Er konnte nämlich an Pflanzenzellen und Bakterien eine Adsorptionssteigerung des Farbstoffes in geschädigten Zellen und dabei einen Umschlag von Grün nach Rot beobachten. Die irreversible Rotfärbung wurde daher als Ausdruck eines nekrobiotischen Zustandes gedeutet.

In Tierversuchen haben EPPINGER, GÖSSNER, KREBS und SCHÜMMELFEDER die Unterscheidungsfluorochromierung untersucht, ihre Anwendbarkeit grundsätzlich bestätigt und auf Besonderheiten — bedingt durch das tierische Eiweiß — hingewiesen.

Wir versuchten die Frage zu klären, ob es mit Hilfe der Fluorochromierung möglich ist, Frühveränderungen am absterbenden Nierengewebe zu erfassen und sicher darzustellen.

Ausgangspunkt für diese Untersuchungen bilden einmal die unterschiedlich angegebene Zeitdauer bis zum Eintritt des Zelltodes, zum anderen die verschiedenen Meinungen über die Pathogenese experimentell erzeugter hypoxämischer Nierennekrosen. LITTEN (1880) und ebenso BRODERSEN (1904) hatten gezeigt, daß es bereits im Anschluß an eine zweistündige Durchblutungssperre der Kaninchenniere bei nachfolgender Wiederdurchblutung zu Rindennekrosen kommt. KETTLER fand beim gleichen Versuchstier nach zweistündiger Sperrung der Nierenarterie und Ausschaltung der kollateralen Zuflüsse sowie Dekapsulation der

Niere ein Absterben von Parenchymzellen, bei anschließender Wiederdurchblutung oftmals weiteren Zellzerfall. OPITZ, ROTTER und HILSCHER geben bei Anwendung derselben Versuchsanordnung und Technik wie KETTLER eine temporäre Ischämie von 150—180 min als notwendig zur Erzeugung nachweisbarer Nekrosen in der Rattenniere an. Nach nur einstündiger Absperrung und darauffolgender Wiederdurchblutung stellten sie irreversible Schädigung der Zellen zu etwa 50% fest. HOLLE, BURKHARDT, ARNDT und BLÖDORN fanden bei manometrischen Untersuchungen von ischämischem Nierengewebe eine Verminderung der Atmung auf die Hälfte nach 4,6 Std. Diese Ergebnisse sind an einer anderen Tierart (Meerschweinchen), unter Anwendung einer anderen Versuchsanordnung (keine Wiederdurchblutung) und einer anderen Technik (keine Dekapsulation der Niere) gewonnen.

Die Pathogenese dieser Nierennekrosen wird von den einzelnen Untersuchern wie folgt gedeutet: Nach LITTEN ist der Sauerstoffmangel alleinige Ursache, nach BRODERSEN sollen nur nerval bedingte Durchblutungsstörungen, die erst nach Lösung der Blutzuflußperre einsetzen, den Gewebstod herbeiführen. KETTLER sowie OPITZ und Mitarbeiter nehmen ein Zusammenwirken von Hypoxämie und sekundär auftretenden Durchblutungsstörungen an. Die von HOLLE und Mitarbeitern beobachteten Zirkulationsstörungen, die bei der Entstehung der Nierennekrosen nur eine unterstützende Rolle spielen sollen, sind auf Grund der anderen Versuchsanordnung allerdings nicht identisch mit den sekundären Durchblutungsstörungen der anderen Untersucher, da HOLLE und Mitarbeiter nicht wiederdurchblutet haben, sondern die „Absperrung der arteriellen Blutzufuhr bis zur Tötung der Tiere“ beließen.

Wesentlich für die Erklärung der Pathogenese ist die Beantwortung der Frage, ob sich bereits unmittelbar nach Aufheben der Ischämie in der Niere morphologische Zellveränderungen nachweisen lassen. Mit den bisher üblichen Färbemethoden gelang dies nicht. Auch Versuche, durch intravitale Färbung mit Farbstoffen wie Indigocarmin (LITTEN) oder Trypanblau (KETTLER) eine deutlichere Markierung der Nekrosen zu erzielen, haben nicht voll befriedigt. Ein gleichmäßiger Blutumlauf ist nämlich in den ersten Stunden nach Beginn der Wiederdurchblutung infolge sekundärer Stase und Erythrodiapedesen (KETTLER, OPITZ und Mitarbeiter) nicht gewährleistet, so daß auch die Abgabe der Farbstofflösung behindert ist. Eine vollständige Erfassung der tatsächlich abgestorbenen Zellen wird also auf diesem Wege nicht möglich.

Wir versuchten daher, die bei der Vitalfärbung auftretenden Schwierigkeiten zu überwinden, indem wir supravital die Schnittpräparate mit Acridinorange färbten.

Versuchsanordnung und Methoden

Bei insgesamt 50 männlichen und weiblichen erwachsenen, 1600—2800 g schweren Kaninchen wurde in Evipannarkose (1%) die linke Niere von einem Rückenschnitt aus extraperitoneal freigelegt, die linke Nierenarterie entweder allein oder mit der Vene zusammen durch einen doppelt gelegten und zweifach geknoteten Perlonfaden (Stärke 4)¹ 2 Std lang auf einer Lederlasche unterbunden und die Niere zusätzlich dekapsuliert, um kollaterale Zuflüsse (bis auf diejenigen des Ureters) weitgehend auszuschalten.

Bei 6 Tieren wurde die Niere ohne vorherige Wiederdurchblutung herausgenommen, bei 8 Tieren nach zweistündiger Wiederdurchströmung, bei weiteren 5 nach 24stündiger und bei 4 Tieren nach 48stündiger Wiederdurchblutung. An dem deutlichen Pulsieren der Nierenarterie, der wiederkehrenden frischen roten Farbe der Nierenoberfläche sowie der Entfaltung der Vene war in den entsprechenden Versuchsgruppen die wieder in Gang gekommene Durchblutung stets sicher zu erkennen.

Eine halbe Niere kam jeweils zur Fixierung 10—16 Std lang in CARNOYSche Lösung. Von der unfixierten Nierenhälfte wurden auf dem Gefriermikrotom (gegen CO₂-Schnee durch einen kleinen Trichter abgeschirmt) unverzüglich 20—30 μ dicke Schnitte angefertigt, in kleinen Töpfen und reinen isotonischen Na-Phosphatpuffern mit einem p_H-Wert von 5,4 und 5,8 aufgefangen und in gepufferten Acridin-orangelösungen (mit einem p_H-Wert von 5,4 und 5,8 und einer Farbstoffkonzentration von 1:10000) anschließend 10 min gefärbt. Diese p_H-Werte wurden von uns nach ausgiebigen Vorversuchen als die geeignetsten ermittelt. Bei p_H-Werten von 6,2, 6,6 und 7,0 wurden die Schnitte in steigendem Maße klebrig, während wir bei einem p_H von 5,0 den Eindruck hatten, es seien die Farbnuancen nicht so deutlich wie bei Anwendung von p_H 5,4 und 5,8.

Der überschüssige Farbstoff wurde durch 15 min langes Waschen in reinen isotonischen Na-Phosphatpuffern herausgelöst, die Schnitte auf fettfreie Objektträger aufgezogen, in den entsprechenden Puffern eingeschlossen und die Deckgläser mit Paraffin oder Lanolin-Colophonium umrandet.

Das in CARNOYScher Lösung fixierte Gewebe kam nach mehrstündiger Entwässerung in der üblichen Weise zur Paraffineinbettung (s. ROMELS) und wurde nach dem Entparaffinieren färberisch wie die unfixierten Schnitte behandelt².

Zur Fluoreszenzprüfung verwendeten wir die große Lumineszenzeinrichtung von Zeiss (Jena), untersuchten im durchfallenden Licht unter Benutzung des Blaufilters BG3 sowie des Okularsperrfilters OG1 (Schott).

Zum Vergleich mit den fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden weiteren 15 Tieren nach Lösen der Ligatur je nach Körpergewicht und Verträglichkeit 12—18 cm³ einer stets frisch zubereiteten, in Aqua dest. gelösten 1%igen

¹ Wir verwendeten Perlonseide, da sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß sich der Catgutfaden bei länger dauernder Ligatur mitunter lockert und die Sperrung dadurch nicht mehr vollständig ist.

² Die verwendeten Na-Phosphatpuffer wurden nach Angaben v. MURALTS die gepufferten Farblösungen wie bei SCHÜMMELFEDER hergestellt und Kontrolluntersuchungen stets vor und wiederholt nach dem Färbegrad mit Hilfe von Farbindicatoren und elektrometrisch an der Chinhydronelektrode durchgeführt. — Herrn Dipl.-Chemiker SCHNEEWOLF, Leiter der Chemischen Abteilung unseres Institutes, sei für seine Unterstützung vielmals gedankt.

Trypanblaulösung (Merck) intravenös injiziert, erst nach Blaufärbung der Nierenoberfläche die Schnittwunde geschlossen und die linke Niere nach 2-, 24- oder 48stündiger Wiederdurchblutung herausgenommen. Nach Fixieren in Formalin in starker Lösung (3 Teile Wasser auf 1 Teil Formalin) wurden Gefrier- und Paraffinschnitte hergestellt.

Von jeder Niere wurden außerdem H.-E.-Schnitte angefertigt.

Versuche an 12 Tieren, durch intravenöse Injektion wäßriger Acridinorange-lösung ebenfalls eine Vitalfärbung zu erreichen, brachten weder bei Erhöhung der Konzentration von 1:10000 auf 1:5000 oder 1:2000 noch bei Steigerung der injizierten Farblösungsmenge (auf 20—25 cm³) überzeugende Fluoreszenzbilder. Nach Paraffin- oder Celloidineinbettung war die Fluoreszenz restlos gelöscht.

Ergebnisse

In den mit *Trypanblau* durchgeführten Versuchen bestätigten sich die von BRODERSEN, KETTLER, LITEN, OPITZ und Mitarbeitern erhobenen Befunde. Nach alleiniger Arterienunterbindung ist die 2 Std lang wieder durchblutete Niere vergrößert und blaurot verfärbt. Im histologischen Bild finden sich Hyperämie der Capillaren und blaßbläulich gefärbte Exsudatmassen in den erweiterten BOWMANschen Kapselräumen, in der Marksubstanz prallgefüllte Gefäße sowie vereinzelte, unregelmäßig gelegene kleine Blutungen. An den proximalen Harnkanälchenabschnitten zeigen sich blasige Entartung, feintropfige Verfettung, Kernpyknose und Epithelnekrose, während die Epithelien der Sammelröhren weniger auffällig, ihre Lumina aber mit gefärbten, homogenen

Tabelle 1. *Supravitalfärbung von Kaninchennieren-Schnitten mit Acridinorange*
(p_H 5,4 und 5,8)

Versuch		Fluoreszenz							
Ligatur Std	Wieder- durch- blutung Std	Glomerula		Hauptstück		Übergangsabschnitt		Sammelröhrchen	
		Inten- sität	Farb- ton	Inten- sität	Farbton	Inten- sität	Farbton	Inten- sität	Farbton
2	0	++	hell- grün	+++	grüngelb bis orange- gelb orangerot	++	grüngelb bis gelb- orange	++	hell- grün bis grün- gelb
2	2	++	hell- grün	++	orange- gelb bis orangerot	+++	rotorange bis kupferrot	++	grün- gelb
2	24	+	grün- gelb	++	hellgrün, keine Kerne	+	hellgrün, keine Kerne	+	grün- gelb

Cylindern vollgestopft sind. Nach 24- und 48stündiger Wiederdurchblutung treten die nekrotischen Rindenbezirke deutlich hervor. Die Cylinder weisen Konsolidierung, Einschlüsse von Blut- und abgeschilferten Epithelzellen auf, während der Epithelbesatz der Sammelröhren im allgemeinen gut erhalten ist. Das Nierenbecken erscheint auch jetzt unauffällig.

Bei gleichzeitiger Ligatur von Arterie und Vene sind die Veränderungen noch deutlicher.

Die Ergebnisse der *Fluoreszenzversuche* sind in Tabelle 1 zusammengestellt¹.

Bereits nach 2stündiger Arterienunterbindung *ohne* Wiederdurchblutung zeigen die Schnittpräparate Farbkontraste: An zahlreichen Glomerula findet sich innerhalb des erweiterten BOWMANSchen Kapselraumes ein mehr oder weniger breiter dunkler Spalt. Es handelt sich hierbei wohl um Exsudatmassen, da auch an den Stellen, an denen erfahrungsgemäß Blut- und Exsudatmassen liegen — wie in der Marksubstanz und in den Harnkanälchen — die Fluoreszenz mit Acridinorange vermißt wird, denn wie alle Schwermetalle ist das Eisen des Hämoglobins ein Fluoreszenzlöcher (KRIEG). Zur Kontrolle färbten wir außerdem diese Schnitte mit den Fluoreszenzfarbstoffen Euchrysin und Thiazinrot R, da sich nach EPPINGER diese Fluorochrome für die Eiweißdarstellung besonders vorteilhaft erweisen. Wir fanden in den erweiterten BOWMANSchen Kapselräumen dann den für das Serumeiweiß typischen gelb-bräunlichen Farbton.

An den prall gefüllten Gefäßen tritt das Endothel als hellgrüner feiner Streifen deutlich hervor, während einzelne Blutzellen inmitten des dunkel erscheinenden Lumens dunkelgrün fluorescieren.

Die deutlichsten Farbnuancen finden sich an den Hauptstückepithelien. Neben grüner Fluoreszenz zeigen sich innerhalb des Protoplasmas Übergänge zu orangegelber und oftmals auch zu orangeroter Fluoreszenz, während die Zellkerne rötlichgelb leuchten. Nach 2stündiger Wiederdurchblutung sind die Farbkontraste stärker. Überraschenderweise zeigen die Epithelzellen im Bereich der Übergangsabschnitte durchschnittlich intensivere Rotfärbung als die proximal gelegenen Abschnitte, während die Glomerula unverändert hellgrün bis gelbgrün fluorescieren.

24 Std nach Aufheben der 2stündigen Durchblutungssperre erscheint das Fluoreszenzbild eintöniger. Wohl zeigen die Glomerula grüngelbe

¹ Das Beweismaterial (Farbdiapositive) kann in unserem Institut eingesehen werden.

Fluoreszenz, und es finden sich in den rindennahen Partien unregelmäßig verstreut kleine kupferrote Bezirke, aber der größte Teil der strukturlosen Epithelzellen leuchtet jetzt wieder hellgrün. Noch ausgeprägter zeigt sich das permanente Grün in dem nach 48stündiger Wiederdurchblutung untersuchten Gewebe. Die im Lumen der Sammelröhrchen liegenden Cylinder zeigen den gleichen blaßgrünen Farbton. Dieses Phänomen wurde bereits von KREBS beobachtet und auch gedeutet, da er nachweisen konnte, daß an tierischem Gewebe nach stärkerer Peptisation nur noch grüne Fluoreszenz mit Acridinorange erreicht werden kann.

Die gefärbten Paraffinschnittpräparate ergaben dieselben Farbkontraste, jedoch war ihre Leuchtkraft nicht ganz so kräftig wie bei den supravitalgefärbten Gefrierschnitten.

Bei gleichzeitiger Unterbindung von Arterie und Vene erhält man am Parenchym dieselben Fluoreszenzbilder wie nach alleiniger Ligatur der Arterie; Hyperämie und Blutungen sind hierbei jedoch stärker. Die Tubulusepithelien zeigen braungelbe Farbtöne, homogenes Zellplasma und schwach hervortretende Kerne.

Zum Vergleich angefertigte HE.-Schnitte brachten folgende Befunde: Am nicht wieder durchbluteten Gewebe fallen neben Hyperämie der Glomerula Blutungen im Bereich der Markscheid, trübe geschwollene und zum Teil verfettete Tubulusepithelien mit kleinen basophil gefärbten oder geblähten, hellen Kernen auf. In einzelnen besonders großen Zellen erscheint das Protoplasma grobkörnig. Innerhalb der geraden Harnkanälchenepithelien zeigen vereinzelte Zellen hydropische Schwellung.

Am 2stündig wiederdurchbluteten Gewebe sind neben Hyperämie und Blutungen im BOWMANSchen Kapselraum Dissoziation der Tubulusepithelien und Kernpyknose auffällig. In den Übergangsabschnitten zeigen sich einzelne geschwollene Zellen mit schwach basophil gefärbten Kernen und stärker eosinophilem Farbton des Plasmas. 24 und 48 Std nach Abnahme der Ligatur und freier Wiederdurchblutung finden sich in den bisher auffälligen Gewebsabschnitten einwandfrei erkennbare Nekrosen.

Deutung der Befunde

Die Anhäufung des basischen Farbstoffes Acridinorange in absterbenden und toten Zellen wird von STRUGGER, KÖLBEL und SCHÜMMELFEDER auf elektroadsorptive Vorgänge zurückgeführt. Mit dem Absterben des Gewebes sollen die Eiweißkörper denaturiert und dabei saure Gruppen frei werden, die nunmehr das basische Acridinorange adsorbieren. Die

Rotfärbung, als Zeichen maximaler Konzentration, wird daher von STRUGGER als sicheres Zeichen für den eingetretenen Zelltod angegeben. Im Gegensatz dazu haben ZEIGER und HARDES, STOCKINGER, WEISSMANN, ZEIGER und WIEDE nachgewiesen, daß die rote Fluoreszenz mitunter als Vitalphänomen und nicht als Ausdruck eines nekrobiotischen Zustandes zu werten ist.

Zur Klärung der entscheidenden Frage, ob die beobachtete Rotfluoreszenz Zellveränderungen anzeigt, wurde zunächst das Fluoreszenzbild der normalen Kaninchenniere sowohl bei Primär- als auch bei Sekundärfluoreszenz geprüft.

Das ungefärbte Nierengewebe zeigt eine weißgelbe Eigenfluoreszenz und läßt weder Strukturen noch Zellgrenzen erkennen. Die nach Fluorochromierung beobachtete Sekundärfluoreszenz weist hingegen leuchtend grüne Glomerula, gelbgrün fluoreszierende Epithel- und gelbleuchtende Bindegewebskerne auf, an keiner Stelle aber orangegelbe oder rote Fluoreszenz (das rötliche Randphänomen ist, wie auch SCHÜMMELFEDER angibt, ein Kunstprodukt).

Erst im Anschluß an die zweistündige Ligatur sind Farbabstufungen sicher erkennbar, die nach zweistündiger Wiederdurchblutung noch deutlicher werden. Daß es sich hierbei nur um rückbildungsfähige Speicherungen handeln soll, möchten wir aus folgenden Gründen für wenig wahrscheinlich halten: Im Vergleich mit den Trypanblau- und den als besonders zuverlässig geltenden HE.-Schnitten läßt sich nämlich zeigen, daß bei allen 3 Methoden die auffällig veränderten Zellen in korrespondierenden Abschnitten liegen.

Gegen die Annahme, daß die unterschiedliche Fluoreszenz auf die normalerweise von der Niere ausgeschiedenen Substanzen zurückzuführen sei, sprechen sowohl das Fluoreszenzbild der normalen Niere, als auch die Untersuchungen von KRIEG, der nachgewiesen hat, daß weder Harnstoff oder Harnsäure noch Kreatinin fluoreszieren.

Nach KRIEG zeigt Acridinorange Beziehung zum isoelektrischen Punkt der angefärbten Eiweißstoffe. Demnach treten Grünfluoreszenz unterhalb des IEP (im sauren Bereich), Rotfärbung oberhalb des IEP (im basischen Bereich) auf. Wir prüften daher die verwendeten Farb- und Waschlösungen auch nach ihrer Benutzung. Eine Verschiebung der p_H -Werte um 3–4/10-Werte zur alkalischen Seite hin konnte bei den supravitalgefärbten Schnittpräparaten in den meisten Fällen nachgewiesen werden; niemals aber ging der Wert über p_H 6,3 hinaus, so daß die beobachtete Rotfärbung nicht durch alkalisches Milieu bedingt sein kann.

Nach zweistündiger Wiederdurchblutung ergeben sich unterschiedliche Befunde im Fluoreszenzbild und bei der HE-Färbung: mit Acridinorange fluorescieren die Übergangsabschnitte kupferrot, die Tubulusepithelien orangegelb bis orangerot. Im HE-Schnitt dagegen erscheinen die Tubulusepithelien durch Kernpyknose und hydropische Schwellung verändert, während in den Übergangsabschnitten nur wenige Zellen als sicher tot erkennbar sind. Diese Unterschiede lassen sich zwanglos erklären: Am supravital gefärbten Acridinorange-Schnitt hat die Farblösung gleichmäßig, gleichzeitig und vollständig die Zellen angefärbt und dabei auch *die* Zellen erfassen können, die durch sekundäre Durchblutungsstörungen bereits nachhaltig geschädigt sind, aber im HE-Schnitt noch nicht das volle Bild der Nekrose zeigen. Die permanente Grünfärbung dieser Abschnitte 24 und 48 Std nach Aufheben der Durchblutungssperre spricht in Übereinstimmung mit KRIEG und der Strukturlosigkeit der Zellen im HE-Schnitt für vorangegangene irreversible Schädigung.

Am nicht wiederdurchbluteten Gewebe ermöglicht die Schnittfärbung mit Acridinorange, Schäden zu beurteilen, die *allein* durch die Ischämie bedingt werden. Es zeigt sich, daß die zweistündige Durchblutungssperre bereits tiefgreifende Veränderungen am Nierengewebe hervorbringt, deren Umfang durch nachfolgende, bei der Wiederdurchblutung eintretende Zirkulationsstörungen vergrößert wird. Dieser Befund bestätigt die Angaben von LITTEN und KETTLER, daß eine zweistündige Durchblutungssperre an besonders empfindlichen Nierenzellen zum Zelltod führt und unterstützt auch die Ansicht von KETTLER, OPITZ und Mitarbeitern, nach der sowohl der Sauerstoffmangel als auch sekundäre Durchblutungsstörungen für die Zellschädigung verantwortlich sind.

Bisher war die Frage noch offen, ob die Epithelien der Hauptstücke (MAATZ und TÜRK) oder die der Übergangsabschnitte (LUFT) zuerst zugrunde gehen. Wir möchten nach unseren Untersuchungen diese Frage im Sinne von MAATZ und TÜRK entscheiden, denn unmittelbar nach Abnahme der Ligatur finden sich die ersten deutlichen Veränderungen an den Hauptstückepithelien. Interessant ist, daß nach den Untersuchungen von HOLLE und Mitarbeitern die ersten Ausfälle in den Fermentreaktionen (Oxydasen und Dehydrasen) auch im Anfangsteil der Hauptstücke zu finden sind.

Nach zweistündiger Wiederdurchblutung weisen allerdings die Übergangsabschnitte stärkere Rotfluoreszenz als die Tubuli auf, so daß vermutet werden kann, daß die Übergangsabschnitte zwar später, aber intensiver geschädigt werden. OPITZ, ROTTER und HILSCHER vertreten auf

Grund ihrer Untersuchungen die Ansicht, daß „die Verteilung der Nekrosen ganz überwiegend durch die auf das Stratum subcorticale und das Mark begrenzte Stase bestimmt wird“.

Über Wert und Brauchbarkeit des Fluoreszenzverfahrens bei Untersuchung hypoxämischer Nekrosen möchten wir abschließend folgendes sagen: Ein wesentlicher Vorteil der Fluorochromierung besteht darin, daß bereits Veränderungen am nicht wiederdurchbluteten Gewebe färberisch dargestellt werden können. Durch direktes Farbstoffangebot (Supravitalfärbung der Schnitte) werden Fehlermöglichkeiten vermieden, die sich beim Farbstoffangebot auf dem Blutweg (intravitale Färbung mit Vitalfarbstoffen, z. B. Trypanblau) infolge sekundärer Durchblutungsstörungen einstellen. Die Färbung mit Acridinorange bringt befriedigende Ergebnisse. Allerdings erschwert die besondere Technik — gepufferte Farblösung, bestimmte p_H -Werte — die Anwendung der Unterscheidungsfluorochromierung als Routinemethode.

Zusammenfassung

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Kaninchennieren mit experimentell erzeugten hypoxämischen Nekrosen ergaben bei Anwendung von Acridinorange folgende Ergebnisse:

Eine zweistündige Durchblutungssperre allein führt bereits zu Frühveränderungen, die sich an supravital gefärbten Schnitten sicher nachweisen lassen.

Zellnekrosen treten nach anschließender 2 Std langer Wiederdurchblutung auf und werden als Folge der Durchblutungssperre und sekundärer Kreislaufstörungen gedeutet.

Die ersten morphologischen Veränderungen werden an den Hauptstückepithelien beobachtet; aber nach zweistündiger Wiederdurchblutung zeigen die Übergangsabschnitte intensivere Veränderungen.

Vergleichende Untersuchungen mit Trypanblau-vitalgefärbten Nieren und HE-gefärbten Schnittpräparaten unterstützen die Ergebnisse der Fluoreszenzuntersuchung.

Literatur

BRODERSEN, J.: Inaug.-Diss. Rostock 1904. — EPPINGER, H.: Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie, S. 37. Wien: G. Fromme 1949. — GÖSSNER, W.: Verh. dtsh. path. Ges. **33**, 102 (1950). — HOLLE, G., R. BURKHARDT, S. ARNDT u. M. BLÖDORN: Virchows Arch. **327**, 150 (1955). — KETTLER, L. H.: Verh. dtsh. path. Ges. **33**, 74 (1950). — KÖLBEL, H.: Z. Naturforsch. **2b**, 382 (1947). — KREBS, A.: Naturwiss. **34**, 59 (1947). — KRIEG, A.: Klin. Wschr. **1953**, 350. — LITTEN, M.: Z. klin. Med. **1**, 131 (1880). — LUFT, U. C.: Beitr. path. Anat. **98**, 323 (1936). —

MAATZ, R.: Frankf. Z. Path. **46**, 438 (1934). — MURALT, A. v.: Praktische Physiologie, S. 252. Berlin: Springer 1944. — OPITZ, E.: Naturwiss. **35**, 80 (1948). — OPITZ, E., Wg. ROTTER u. W. HILSCHER: Verh. dtsh. path. Ges. **37**, 336 (1954). — SCHÜMMELFEDER, N.: Verh. dtsh. path. Ges. **33**, 65 (1950). — Naturwiss. **35**, 346 (1948). — Virchows Arch. **318**, 119 (1950). — STOCKINGER, L.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **59**, 304 (1952). — STRUGGER, S.: Naturwiss. **34**, 267 (1947). — Dtsch. tierärztl. Wschr. **1942**, 51; **1947**, 161. — TÜRK, M.: Beitr. path. Anat. **53**, 129 (1912). — WEISSMANN, CH.: Z. Zellforsch. **38**, 374 (1953). — ZEIGER, K., u. H. HARDES: Z. Zellforsch. **36**, 62 (1951). — ZEIGER, K., u. M. WIEDE: Z. Zellforsch. **40**, 401 (1954).

Dr. GISELA MOLZ,
Patholog. Institut der Humboldt-Universität, Charité, Berlin NW 7,
Schumannstr. 20—21
