

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg  
(Direktor: Prof. Dr. H.-W. ALTMANN)

**Studien über die Folgen  
einer vorübergehenden experimentellen Nierenischämie\***

**II. Die Restitutionsvorgänge an den Tubuli\*\***

Von

**H. CAIN und ST. FAZEKAS**

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Mai 1963)

Vor kurzem haben wir die unmittelbaren vasculären und tubulären Veränderungen dargestellt, die an der Niere nach vorübergehender Ischämie auftreten. Dabei hat sich gezeigt, daß die strukturellen Gefäßwandläsionen erstaunlich rasch wieder ausgeglichen werden. Demgegenüber beansprucht die Restitution der Nierentubuli wesentlich längere Zeit. Sie wird z. T. auf dem Wege der Wiedererholung und Reparation, z. T. aber auf dem der Regeneration verwirklicht. Beide Vorgänge sind noch längst nicht in allen Einzelheiten bekannt und sicher sehr komplexer Natur. Das drückt sich histologisch in einer Fülle vielgestaltiger cytologisch-karyologischer Zustandsvarianten aus. In dieser Mitteilung wollen wir versuchen, auf der Basis einer möglichst weitreichenden Analyse der morphologischen Erscheinungsformen in einigen noch offenen Fragen der allgemeinen Zellpathologie der Niere (z. B. Zellerholung, Quelle und Eigenart regeneratorischer Epithelneubildungen, mitogenetische Faktoren, Kernform- und Größenwandel, Zellreifung, Bedeutung von Großkernen) einen Schritt weiter zu kommen. Darauf hinaus soll geprüft werden, welche Rückschlüsse sich aus dem gestaltlichen Bild des späteren postischämischen Stadiums auf die überdauernde Funktionsstörung der Niere herleiten lassen.

Beobachtungsgut und Untersuchungsart stimmen mit denen unserer früheren Mitteilung überein (CAIN und FAZEKAS 1963). Die histologischen Befunde stammen von den 60 min ischämisch gewesenen linken Nieren. Da die ersten Reparations- und Regenerationsvorgänge erstaunlich rasch nach Lösen der Unterbindung faßbar werden, muß die Analyse die früheren Stadien einbeziehen, obwohl zu dieser Zeit insgesamt die Schädigung noch deutlich im Vordergrund steht.

**Befunde**

Nach *Wiederdurchblutung von 3 Std* bernerkt man in der Rinde herdförmige Unterschiede im Verhalten der Tubulusepithelien. Manche Bezirke zeigen eine Zunahme irreversibler Prozesse — sei es durch Hyperhydratation, sei es durch Dehydratation —, andere eine Rückkehr zum gewohnten Zellbild. Außerdem gibt es eine 3. Kategorie von Epithelien (mit weiter bestehender Verdichtung

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

\*\* Herrn Prof. Dr. E. KIRCH zum 75. Geburtstag.

oder Verwässerung ihrer Feinstrukturen), die zu diesem Zeitpunkt noch kein sicheres Urteil über ihr endgültiges Schicksal erlaubt. Sie macht vorläufig den Hauptanteil aus. Die 2. Gruppe scheint mengenmäßig zunächst die kleinste zu sein. Indessen besteht beim Vergleich mit den Bildern von kürzerer Manifestation kein Zweifel, daß die Zahl der normal aussehenden Zellen tatsächlich wieder zugenommen hat. Das Cytoplasma ist hier nicht mehr, wie kurz nach Freigabe des Blutstroms, homogen und mit kernnahen Vacuolen versehen, sondern feinwabig und hell. Allerdings ist die basale Stäbchenstruktur z. T. noch unvollkommen und ungeordnet. Dem entspricht beim Bernsteinsäuredehydrogenase-Nachweis eine unregelmäßige Vergrößerung der zudem zahlenmäßig verringerten Formazankörnchen. Der Bürstensaum, teilweise — wenn auch stummelförmig verkürzt — wieder aufgerichtet, ist noch lückenhaft oder fehlt vollständig. Öfters beobachtet

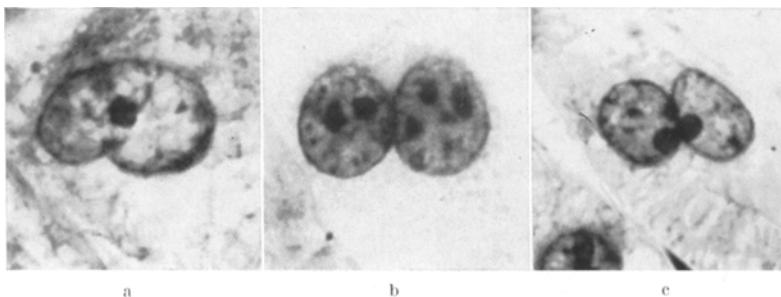


Abb. 1a—c. Beginnende Kerneinschnürung (a) und identische Zwillingskerne zweier verschiedener Flächenklassen (b und c) nach 6 Std Wiederdurchblutung. Kresylviolett, 2000fach

man in Hauptstückepithelien mit lichtmikroskopisch gut aussehendem Cytoplasma kleine Doppelkerne von jeweils gleichem (diploiden) Volumen, gleichem Chromatingehalt und mit nahezu spiegelbildlicher Anordnung ihrer Nucleolen (wie Abb. 1c). Derartige nucleare Verdoppelungen sind nicht von einer Durchschnürung des Cytoplasmas begleitet. Mit dem vermehrten Auftreten solcher Zwillingskerne fällt an größeren (tetraploiden) Zellen ein gehäuftes Vorkommen von Einschnürungen und Elongation ohne sonstige innere Veränderungen gegenüber dem Ruhekern zusammen. Bald schneidet eine Furche nur von der einen Seite her, bald gleichzeitig und gleichmäßig von beiden Seiten her ein. Sie kann sehr eng sein oder mehr keilförmig aussehen und dann zu nierenartigen Verformungen führen (wie Abb. 1a), die unseres Erachtens Vorstufen der Doppelkerne sind. Bei Durchmusterung eines Nierenquerschnittes finden sich insgesamt drei Prophasen.

*Sechsstündige Manifestation* äußert sich in einer weiteren Restitution des Cytoplasmas. An manchen Kernen ist es zu einer deutlichen Flächenzunahme gekommen, verbunden mit einer Aufhellung der Binnenstruktur und klarem Hervortreten der intensiv basophilen und meist sogar etwas vergrößerten Nucleolen. Andererseits sind aber auch Zellen mit in Durchschnürung begriffenen oder bereits voneinander getrennten diploiden Kernzwillingen noch häufiger geworden als nach 3 Std. Außerdem sieht man, wenn auch insgesamt seltener, asymmetrische Kerneinschnürungen sowie Doppelkerne von jeweils differenter Größe. Die Mitosezahl beträgt jetzt in 1200 Gesichtsfeldern 42 (überwiegend

Prophasen). Hin und wieder sind in einer Zelle bis zu sechs Karyomeren wahrnehmbar, wobei mehrere, ungleichmäßig gestaltete, bläschenförmige Chromatingebilde entweder morulaartig dicht beisammen liegen oder aber ganz regellos im Cytoplasma verstreut sind.

Nach 12 Std dokumentiert sich die fortschreitende Erholung der Mitochondrien beim Succinodehydrogenase-Nachweis in dem gewohnten Reaktionsbild. Zum Teil enthält das Cytoplasma verschieden große Eiweißtröpfchen. Der augenfälligste Wandel hat sich jedoch an den Kernen vollzogen. Kleinkerne treten jetzt zugunsten höherer Flächenklassen zurück. Kerngrößen von  $70-100 \mu^2$  (normal  $36 \mu^2$ ) sind keine Seltenheit. Bei lockrem Kerngerüst sind die Nucleolen stärker vergrößert (Abb. 2 b). Sie stehen entweder durch Ausläufer mit der Kernmembran in Verbindung oder liegen ihr unmittelbar an. Mit zunehmender Häufigkeit beobachtet man in vergrößerten Kernen chromosomenähnliche Chromatinverdichtungen innerhalb geschlossener Kernmembran. Mitotische Teilungsphasen haben eher etwas abgenommen als zugenommen.

Nach 24 Std beträgt aber die Zahl der indirekten Kernteilungen das Doppelte des 12-Std-Wertes (s. Tabelle). Die Zona basalis bleibt vorläufig davon ausgespart. Manche mitotische Zellen besitzen keinen Bürstensaum. Trotzdem zeichnen sich diese Tubuli durch eine Verengung der anfangs überall diffus erweiterten Kanälchenlichtung aus. Insgesamt überwiegen immer noch degenerative und irreversible Prozesse.

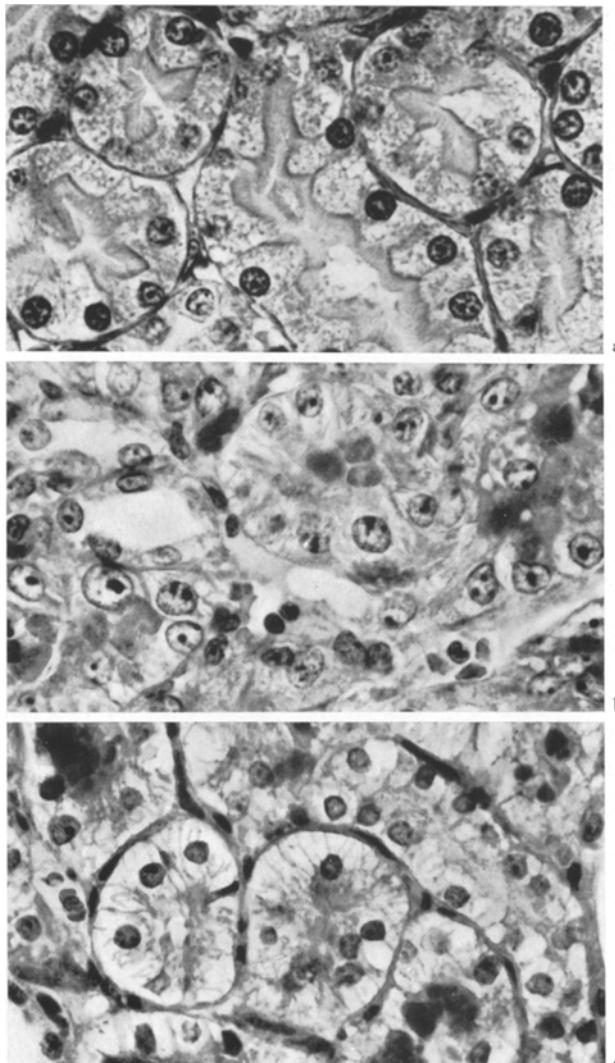


Abb. 2a—c. a Normale Niere; b Kernschwellung nach 12stündiger Wiederdurchblutung; c stärkere Hydratation des Cytoplasmas und Kernverkleinerung nach 3tägiger Wiederdurchblutung.  
Goldner, 665fach

$1\frac{1}{2}$  tägige Beobachtungszeiten zeigen eine mächtige Steigerung der Mitoserate (1128 Mitosen in einem einzigen Nierenquerschnitt) mit einem Maximum in der Zona intermedia, also besonders im Bereich der Tubuli recti I und II (Abb. 3a).

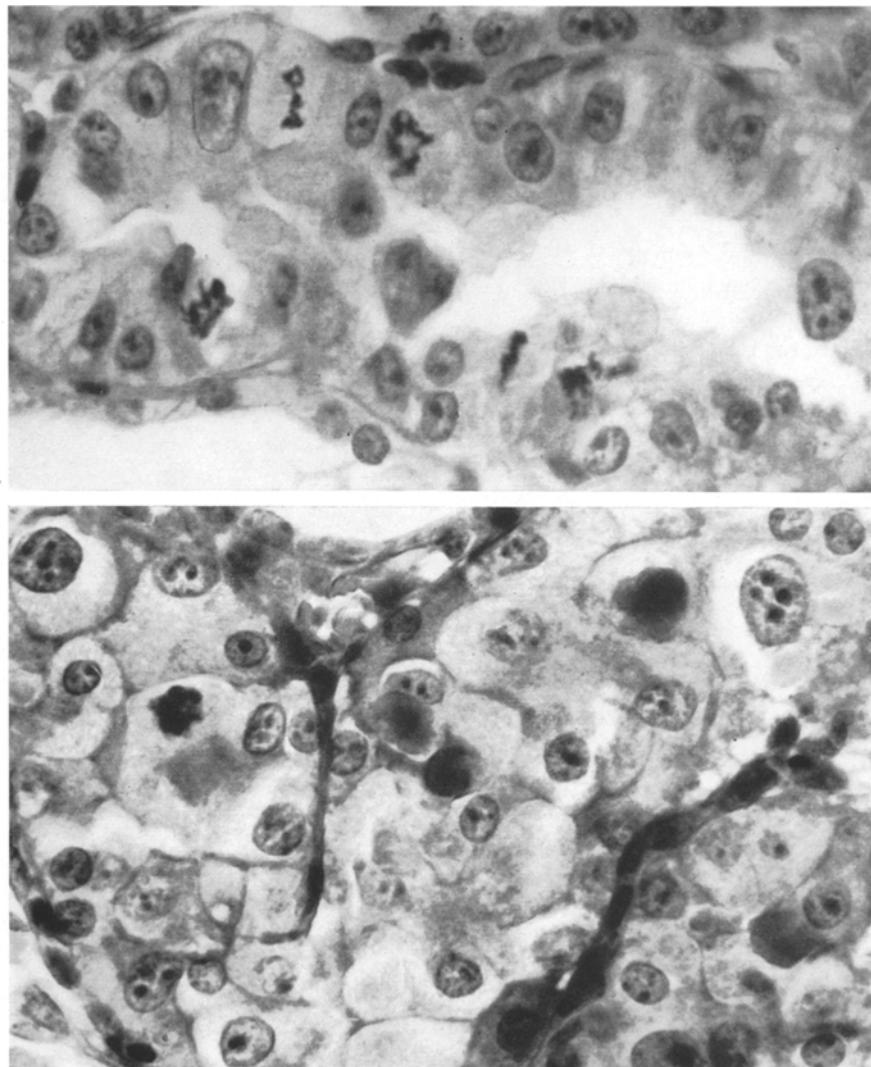


Abb. 3 a u. b. Buntes Kernmuster, Pearse, 960fach; a starke Mitosetätigkeit ( $1\frac{1}{2}$  tägige Manifestation); b obturierende Überschußproliferate (nach 4 Tagen)

Im übrigen ist das Kernbild in allen Rinden- und Markabschnitten wesentlich bunter geworden. Aus der Vielfalt nuclearer Form- und Größenänderungen lassen sich mindestens zwei Hauptgruppen abgrenzen. Die eine, die schon nach 12 Std in Erscheinung trat, ist durch ein lockeres Kerngerüst sowie vergrößerte und meist vermehrte Nucleolen gekennzeichnet (Abb. 2b). Manche hypertrophierte Kernkörperchen leuchten bei der Acridinorange-Fluorochromierung gleichmäßig intensiv hellrot. Andere zeigen im Innern eine unregelmäßige wolkige Abblässung

oder sogar vacuolige Ausparungen der Rotfluoreszenz, wodurch die randständigen Anteile entweder halbmond förmig oder schalenartig verstärkt sich hervorheben. Oft sind außerdem im Karyoplasma und an der Kernmembran feingranuläre hellrot leuchtende Teilchen nachweisbar. Die 2. Gruppe umfaßt erstens unregelmäßig gestaltete, blasig aufgetriebene glykogenfreie Kerne, in denen das Chromatin an die Kernmembran gepreßt ist, zum andern morulaartige Formen mit mehreren, kleineren, durch einförmig dicke Chromatinballen voneinander getrennten wasserhellen Räumen (Abb. 4).

Am 3. Tage stehen fast überall regeneratorische Vorgänge im Vordergrund. Im Stratum subcorticale liegen die meisten, in der Zona basalis die wenigsten Mitosen. Sie betreffen verschiedene Ploidiestufen (Abb. 5).

Um einen besseren Überblick über die topographische Verteilung der regelhaften Mitosen und über den zeitlichen Ablauf etwa mehrerer Mitosewellen zu erhalten, haben wir Auszählungen und Häufigkeitsanalytische Untersuchungen vorgenommen. Dazu verwendeten wir aus der Gesamtserie die Nieren von 10 Tieren mit einer Wiederdurchblutungsdauer von 12 Std, 24 Std,  $1\frac{1}{2}$ , 2,  $2\frac{1}{2}$ , 3,  $3\frac{1}{2}$ , 4, 5 und 7 Tagen (aber bei gleichbleibender Tötungszeit morgens 10,00 Uhr).  $5\mu$  dicke Kresylviolett-Präparate wurden bei 1000facher Vergrößerung von

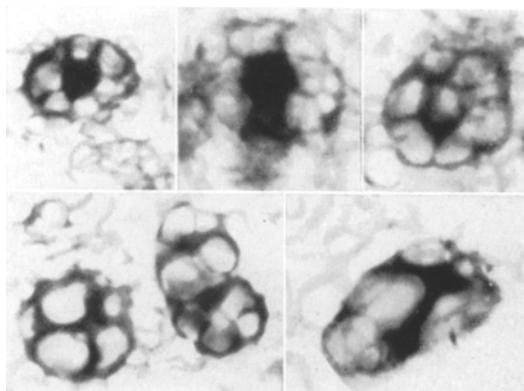


Abb. 4. Postischämischer Kernhydrops mit Dehydratation des Kerngerüstes, oben stark vergrößerter teils tiefbasophiler, teils zentral aufgeholtter Nucleolus; 3 Tage Wiederdurchblutung, Kresylviolett 2000fach

Tabelle

Tag	Gesichtsfeld	Mitosen	Kollektiv		
			I.	II.	III.
0,5	1796	30			
1,0	1355	69	65	4	
1,5	1898	1128	913	215	
2,0	1895	1017	103	914	
2,5	2390	1622	1	1621	
3,0	1904	1053		1050	3
3,5	2116	687		636	51
4,0	1909	450		257	193
5,0	2279	241		43	198
7,0	1745	70			
	19287	6367			

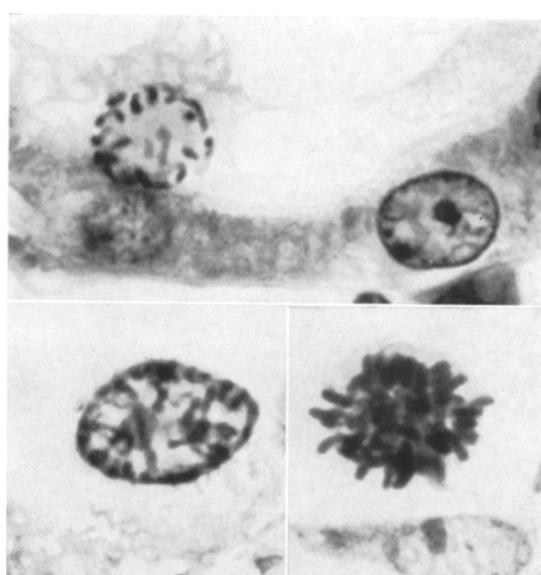


Abb. 5. Mitotische Teilungsfiguren von verschiedenen Ploidiestufen; 3 Tage Wiederdurchblutung, Kresylviolett, 2000fach

Blickfeld zu Blickfeld durchgemustert und die Mitosen in das Nierenschema eingetragen. Ein Blickfeld entspricht in der Originalzeichnung einer  $5 \text{ mm } \varnothing$  betragenden Kreisfläche (in den Abb. 6a—d am linken unteren Rand). Jeder Punkt repräsentiert eine indirekte Kernteilung. Die so erhaltenen Werte liegen eher noch zu niedrig als zu hoch, weil frühe

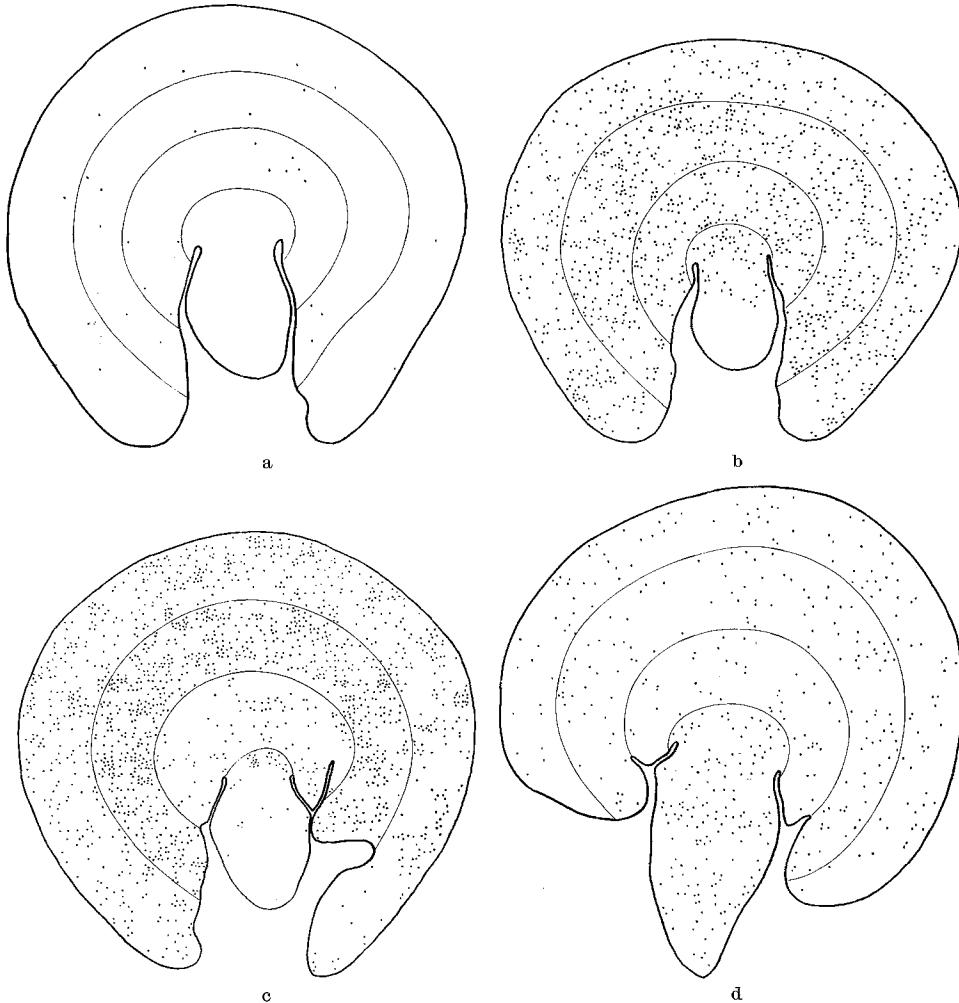


Abb. 6a—d. Mitosehäufigkeit; a nach  $1/2$  Tag Wiederdurchblutung; b nach  $1 \frac{1}{2}$  Tagen Wiederdurchblutung; c nach  $2 \frac{1}{2}$  Tagen Wiederdurchblutung; d nach 4 Tagen Wiederdurchblutung

Prophasen nicht berücksichtigt und Telophasen nur dann mitgezählt wurden, wenn das Chromatin noch kondensiert war. Zum Schluß wurden alle Gesichtsfelder und Mitosen eines Nierenquerschnittes zusammengezählt und die durchschnittliche Mitosezahl für 100 Gesichtsfelder errechnet. Abb. 6 zeigt die Häufigkeit und Verteilung der Mitosen nach 12 Std,  $1 \frac{1}{2}$ ,  $2 \frac{1}{2}$  und 4 Tagen Wiederdurchblutung.

Die Häufigkeitsanalyse (DAEVES und BECKEL) ergibt zunächst, daß die Geschwindigkeit der mitotischen Regeneration der geometrischen Reihe folgt, denn sie weist eine eindeutig logarithmische Verteilung auf. Dabei verläuft die Häufigkeitslinie der Gesamtverteilung wellenförmig mit drei gut erkennbaren Gipfeln (Abb. 7). Es handelt sich also um eine aus mehreren Teilkollektiven

zusammengesetzte Mischverteilung. Sie läßt sich unschwer in die zugrunde liegenden Normalverteilungen aufspalten, wobei über 98 % der in 10 Präparaten gezählten 6367 Mitosen in drei Kollektive eingeordnet werden müssen. Die Tabelle zeigt den absoluten Anteil der Mitosen in den einzelnen Kollektiven.

Das 1. Kollektiv mit 18,60 % Anteil hat eine steile Wahrscheinlichkeitslinie. Sie weist auf eine nur geringe Streuung hin. Das bedeutet, daß die hier zusammengefaßten Kernteilungen nach 24 Std ziemlich plötzlich einsetzen, ihr Maximum nach weiteren 12 Std erreichen und dann ebenso rasch wieder verschwinden. Dieses 1. Kollektiv bildet im Gesamtlauf der postischämischen Mitosekurve gleichsam einen kurzdauernden Vorgipfel.

Das 2. auffallend breite Kollektiv mit rund 73 % erstreckt sich mit seinen Schenkeln über die ganze Zeitspanne der Beobachtungen. Die Kurve erreicht ihr Maximum etwa 60 Std nach Beginn der Wiederdurchblutung und fällt dann bis zum 7. Tag, also bis weit in die postnekrotische Phase hinein, langsam ab. Alle

Parenchymzonen enthalten ungefähr gleich viele Mitosen. Eine Ausnahme macht lediglich die Papille, in der bis zum 3. Tag nur einzelne Kernteilungsfiguren zu sehen sind (vgl. Abb. 6). Der Gipfel des 2. Mitosekollektivs folgt zeitlich der Hauptmenge der Nekrosen um etwa 10—12 Std.

Beim 3. Kollektiv (etwa 7 %) liegt das Maximum nach 5 Tagen Wiederdurchblutung. Seine Wahrscheinlichkeitslinie läuft beinahe derjenigen des 1. Kollektivs parallel, was für ein plötzliches An- und Abschwellen auch dieser Gruppe (im Gegensatz zum 2. Kollektiv) spricht. Interessanterweise ist an ihr die hohe Mitoseaktivität der Zona basalis zwischen 4. und 5. Tag, trotz fast völligen

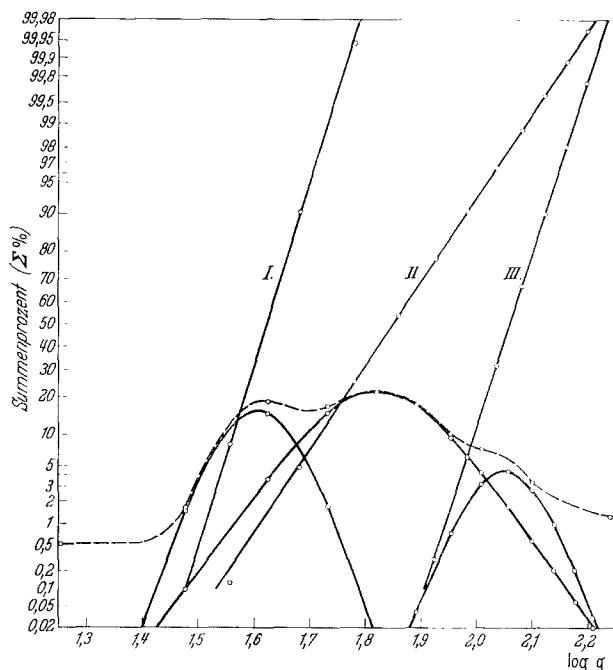


Abb. 7. Verteilung der jeweils in 12ständigem Abstand registrierten Mitosen in der 1. postischämischen Woche mit Darstellung dreier Teilkollektive (s. Text). Wahrscheinlichkeitsnetz. Abszisse: Logarithmus der Stunden der Wiederdurchblutung. Ordinate: Summenprozente

Kollektiv	I.	II.	III.
%-Anteil	18,60	72,80	6,79
log C	1,6210	1,8475	2,0570
log g <sub>5</sub>	1,5450	1,6800	1,9770
log g <sub>95</sub>	1,6970	2,0150	2,1370
log gs	± 0,0760	± 0,1675	± 0,0800
num C	41,78	70,39	114,02
num g <sub>5</sub>	35,07	47,87	94,84
num g <sub>95</sub>	49,77	103,51	137,08
num gs = F	1,1913	1,4706	1,2023

Fehlens von Nekrosen in dem Bezirk, besonders stark beteiligt (Abb. 6d). Diese Tubuluselage zeichnet sich jetzt durch eine ungewöhnlich starke tropfige Eiweiß-Ablagerung im Cytoplasma aus.

Außer regelhaften Kernteilungsfiguren finden wir nicht selten *Mitoseanomalien*, z. B. dreipolige Spindeln mit asymmetrisch verteilem Chromosomenmaterial und Mitosestörungen wie verschiedenartige Chromosomenversprengungen und Ausbleiben der Plasmateilung. Dementsprechend resultieren mitunter bizarre Kernformen oder Exemplare mit knospenähnlichen Vorwölbungen bzw. Kernanhängseln, in denen ein Nucleolus gewöhnlich fehlt. Manchmal liegen aber auch

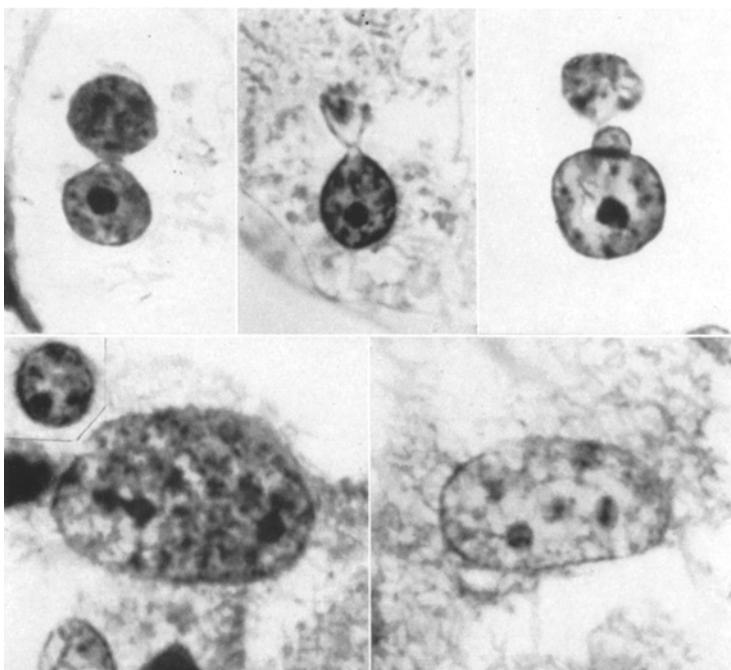


Abb. 8. Dreitägige Wiederdurchblutung, Kresylviolett, 2000fach; oben: Pseudo-Amitosen; unten: Großkerne verschiedener Ploidiestufen (vgl. den normalen Kern in der unteren Reihe links oben)

mehrere karyomerenartige Kleinkerne dicht nebeneinander oder unregelmäßig über ein größeres Zellareal verstreut. Ferner gibt es alle möglichen Übergangsstadien von nicht gleichwertigen Kernteilen bis zu zwei nahezu identischen, dann aber durch mehr oder minder breite chromosomale Verbindungsbrücken zusammenhängenden Kernzwillingen (Abb. 8 oben). Die Buntheit der Formvarianten wird noch gesteigert durch die im Laufe der 1. Regenerationswoche zunehmende Häufigkeit von Großkernen (über  $100 \mu^2$ ), ohne daß eine gleichgerichtete Cytoplasmavermehrung erkennbar ist. Manche von ihnen enthalten bis sechs dunkle Nucleolen in dem sonst chromatinlockeren Binnenraum (Abb. 8 unten).

Das in der 1. Woche regenerierte Epithel besitzt im Vergleich zu dem niedrigen Cytoplasma sehr große, oft die ganze Zellhöhe einnehmende Kerne. Dabei ist der schmale Zell-Leib meist wasserhell, gelegentlich auch basophil, teils von runder, nur selten von kubischer Form und durchweg arm an Formazangranula (Bernsteinsäuredehydrogenase-Reaktion). In solchen Regenerationsbezirken ist das Tubuluslumen (im Gegensatz zu den nur kurzfristig alterierten Partien, in

denen sich die reversibel getroffenen Zellen mehr oder minder gut erholt haben) entweder auffallend weit, oder aber infolge überschießender Neubildungen obturiert (vgl. Abb. 3 b). Andernorts sind immer wieder, ohne erkennbare Abhängigkeit von strukturellen Gefäßwandläsionen, Herde mit umschriebener apikal, basaler oder diffuser Cytoplasmaeinwässerung zu finden (Abb. 2 c). Da sie beispielsweise nach 5tägiger Wiederdurchblutung, wenn auch regional umschrieben, im ganzen gegenüber den Präparaten mit 3tägiger Manifestation deutlich vermehrt sind, halten wir sie für erst später neu entstandene Schädigungsfolgen.

Erst in der 2. Woche setzt eine allmähliche Wiederherstellung des regelhaften Zell- und Gewebsmusters ein. Mitosen sind selten, häufiger frische Einzelnekrosen besonders in Tubuli mit „Überschußproliferaten“. Vergrößerte Kerne von unterschiedlicher Form und wechselnder Chromatindichte kommen weiterhin in reichlicher Menge vor.

An der Wende von der 3. zur 4. Woche hat die Menge vergrößerter Kerne deutlich abgenommen. Dafür findet man aber erneut Doppelkerne, mit deren Auftreten ein merklicher zahlenmäßiger Rückgang von Großkernen parallel geht. Ferner fallen zahlreiche sog. Stiftzellen mit Verdichtung von Cytoplasma und Kern, spitzwinklig ausgezogenen Ecken und eingeschnürten Flanken auf. Sie dienen in diesem Fall offensichtlich der Abstoßung überflüssig gewordener Zellen (Abb. 9 a). Denn danach (Ende der 4. Woche) entspricht die Kanälchenauskleidung — abgesehen von der Persistenz einzelner Großkerne (Abb. 9 b) — wieder dem gewohnten Bild.

#### Erörterungen

Unsere Beobachtungen bestätigen zunächst die Erfahrung, daß bei vorübergehender hypoxischer Nierenschädigung nicht alle Nephrone, ja nicht einmal alle Zellen eines Nephrons, gleich stark getroffen werden. Sogar in einem

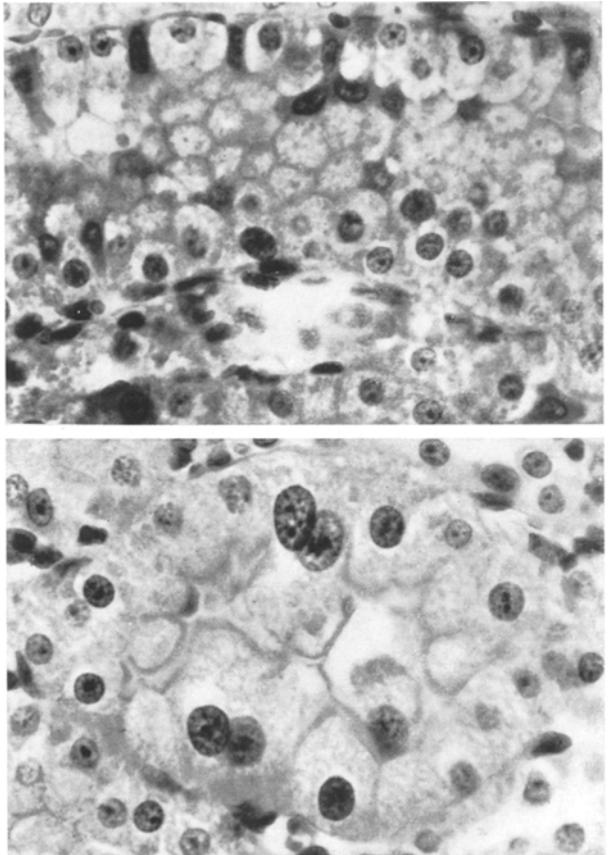


Abb. 9 a u. b. Tubuläres Zellmuster; a nach 3 Wochen Wiederdurchblutung, auffallender Zellreichtum, Stiftzellen z. T. noch im Verband, z. T. in Abstoßung; b nach 4 Wochen Wiederdurchblutung, persistierende Großkerne. Pearse, 712fach

einigen Tubulusquerschnitt gibt es beträchtliche Unterschiede in der Empfindlichkeit und in der Reaktionsart der Kanälchenepithelien. Dementsprechend spielen bei der Restitution des gesamten geweblichen Schadens zwei Vorgänge eine Rolle, nämlich eine Wiedererholung reversibel alterierter Zellen und eine regeneratorische Epithelneubildung.

### *1. Wiedererholung reversibel getroffener Tubulusepithelien*

**1. Cytoplasma.** Manche Kanälchenepithelien lassen bereits in den ersten Stunden der Wiederdurchblutung eine teilweise oder weitgehende Rückkehr zum gewohnten normalen Hydratationszustand erkennen. Sie äußert sich an vorher verkleinert und dabei meist basophil verdichtet gewesenen Zellen in einem Höher- und Hellerwerden des Cytoplasmaleibes mit gleichzeitiger Aufrichtung des Bürstensaumes bzw. der erhalten gebliebenen Bürstensaumteile und beruht auf einer, unter dem Einfluß von Elektrolyten gesteuerten Flüssigkeitsaufnahme. In anderen Elementen, die unmittelbar nach der Ischämie entweder diffus oder regional-umschrieben hyperhydriert waren, ist durch Abgabe eines Teiles der Flüssigkeit aus dem Cytoplasma eine geringe Verkleinerung der Zellfläche eingetreten. An den Mitochondrien kommt die Erholung histochemisch z. B. beim Succinodehydrogenase-Nachweis in einem besser geordneten Verteilungsmuster und in einer zahlenmäßigen Zunahme des Reaktionsproduktes zum Ausdruck. Das bedeutet aber nicht schon in jedem Fall die endgültige Rückkehr zur vollen Funktionsleistung, zumal es an vielen Zellen zunächst noch darum gehen muß, partiell verloren gegangene Arbeitsstrukturen (z. B. Bürstensaum) neu aufzubauen und andere Plasmaschäden auszugleichen. Das Wiedereinpendeln der cellulären Wasserbilanz in Form einer maßvollen Hydratation der Feinstrukturen scheint demnach ein frühzeitiges, aber längst nicht alleiniges Symptom der sich aufbessernden, zunächst der eigenen Zellerhaltung dienenden inneren Stoffwechsel-situation zu sein.

**2. Kerne.** In diesem Zusammenhang verdienen die Epithelkerne gerade im Anfangsstadium der Wiedererholung besondere Beachtung. Sie zeigen adaptiv-funktionell oder pathologisch zu deutende Gestalt- und Größenänderungen sowie allerlei Teilungsvorgänge, von denen uns zunächst die anfängliche direkte Kernzerlegung beschäftigen soll.

*a) Initiale Änderung des Kernmusters, Amitosen.* Nach 3—6 Std sieht man an den Tubuli eine Reduktion größerer (tetraploider) Kerne bei gleichzeitiger Zunahme von Angehörigen der 1. diploiden Kernklasse und prozentualem Anstieg zweikerniger Zellen. Das kann bei 3stündiger Manifestation, wo also erst ganz selten Mitosen (in einem Schnittpräparat 3) in der Prophase wahrnehmbar sind, unseres Erachtens eigentlich nur auf einer direkten Teilung vorher höher ploider Kerne beruhen. Dementsprechend erkennt man die verschiedensten Stadien von Kerneinschnürungen bis zu vollständiger „Dissektion“ ohne sonstige innere Veränderungen gegenüber dem Ruhekern. Die neu entstandenen Tochterkerne haben meist gleiche, jeweils „diploide“ Volumina und zeigen oft eine spiegelbildliche Anordnung der chromatischen Substanz und der Nucleolen. All dies möchten wir als Ausdruck und Resultat einer äqualen Amitose werten. Derartige Kernzustandsbilder in unseren Nieren erinnern weitgehend an Befunde von BUCHER und GAILLOUD (bei Belastungsversuchen in Mäusenieren) und von GRUNDMANN (nach  $\frac{2}{3}$ -Resektion der Rattenleber). Gleichzeitige Cytoplasmateilungen (über die

GRUNDMANN sowie BUSANNY-CASPARI bei experimentell gesteuerter Leberregeneration und GUSEK bei Plasmazellen berichten) haben wir ebenso wenig beobachtet wie etwaige Hinweise auf eine spätere Durchschnürung des Zell-Leibes. Der wesentliche Erfolg einer solchen Kernhalbierung dürfte also in einer Vergrößerung der Oberfläche, d. h. der Austauschfläche zwischen Kern und Cytoplasma zu suchen sein. Daher interpretieren wir die Amitosen im initialen Stadium der postischämischen Tubulusaffektion als sinnvolle Frühreaktion der zwar alterierten, aber nicht tödlich getroffenen Nierenepithelien (sog. Reaktionsamitose, BENNINGHOFF) im Rahmen funktioneller, in erster Linie der Zellerhaltung und der Restitution dienender Kompensationsmechanismen. Die nach 6—12-stündiger Wiederdurchblutung anzutreffenden Doppelkerne könnten allerdings auch aus Mitosen herrühren, die zu diesem Zeitpunkt bereits in größerer Menge nachweisbar sind, und dann Ausdruck einer unterbliebenen Cytoplasmateilung sein.

Außer gleich großen und gleichwertigen Doppelkernen sind nach 6 Std bisweilen auch andere Formen von Zwei- oder Mehrkernigkeit erkennbar. Hier sind aber die einzelnen nuclearen Teile ihrer differenten Größe wegen vermutlich von unterschiedlicher Wertigkeit und könnten daher als *inäquale Kernteile* begrifflich besonders gekennzeichnet und von den *äqualen Teilkernen* der massengleichen Amitose abgegrenzt werden. Ihre Erscheinungsformen lassen an verschiedene Entstehungsarten denken. Zunächst ist es naheliegend, sie als Folgen einer gestörten Karyokinese zu deuten. Das mag für einen Teil zutreffen, zumal jetzt auch Karyomeren auftreten, die ohne vorausgegangene indirekte Kernteilung gar nicht erklärbar wären. Andererseits gibt es aber auch gewisse Indizien dafür, daß einige ungleich große Kernteile aus einer inäqualen Amitose resultieren. Das ist einmal das frühzeitige Vorkommen asymmetrischer Kerneinschnürungen in den allerverschiedensten, bis zur endgültigen Trennung reichenden Stadien und zum andern die Tatsache, daß derartige Kernteile trotz erheblicher Größendifferenz im Innern gleich locker gebaut sind. Das letzte Argument besagt, daß es sich — sofern zwei unterschiedlich große Kernformen vorliegen — nicht um eine differente Zustandsvariante ursprünglich identischer Kernhälften handeln kann. Gleichwohl muß eingeräumt werden, daß bei anderen Zellen im Anschluß an eine äquale Amitose Volumendifferenzen durch Schwellung und Auflockerung des einen und Verkleinerung und Verdichtung des anderen Kernes zustande kommen können.

Manche Formen der inäqualen Amitose (besonders Kernfragmentationen) tragen bereits, ganz im Gegensatz zur äqualen Amitose, mehr oder minder deutliche regressive Züge und repräsentieren eine fortdauernde, vielleicht sogar zunehmende Störung des Betriebsstoffwechsels, besonders dann, wenn sie von einer Verdichtung des Cytoplasmas als Zeichen weiterbestehender abnormer Dehydrierung begleitet sind.

*b) Kernvergrößerung.* An anderen Tubulusepithelien fällt nach 6stündiger Wiederdurchblutung eine geringe, nach 12 Std aber bereits beträchtliche Flächenzunahme mit gleichzeitiger Auflockerung der Kerne auf. Sind zudem auch die Nucleolen vergrößert, „vacuolisiert“ und womöglich mit breiten membranwärts gerichteten Ausläufern versehen, so darf man darin das Zeichen einer nuclearen Funktionssteigerung im Dienste der RNS- und Eiweiß-Synthese sehen. Dafür spricht auch das gleichzeitige Auftreten kleiner RNS-haltiger und daher bei der

Acridinorange-Fluorochromierung rot leuchtender Granula innerhalb des Kernraumes. Angesichts der vorausgegangenen Zellschädigung kann die in der Wiedererholungsphase realisierte Größenzunahme des Kernkörperchens gleichsam als Gradmesser der vom Cytoplasma geforderten Restitutionsansprüche und damit wohl auch als ein gewisses Maß für die Menge verloren gegangener und jetzt neu zu bildender Plasmaproteine gelten.

Jedoch ist nicht jede Kernvergrößerung der ersten Stunden so zu deuten. In einem nicht geringen Prozentsatz stellt eine nucleare Volumenzunahme nämlich offensichtlich die Folge einer pathologischen, funktionell bedeutungslosen Kernenwässerung dar. Denn solche Hyperhydratationen des Gesamtkernes gehen mit einer Dehydrierung und Zusammenballung des karyoplasmatischen Chromatins und mit einer Verkleinerung der Nucleolen einher. Sie dokumentieren unseres Erachtens das Fortbestehen eines schweren Energiemangels der betreffenden Zellen und stellen demnach eine bedrohliche, wenn auch vielleicht nicht unbedingt tödliche Kernveränderung dar.

Außerdem gibt es nach 12 Std bereits Kerne, deren Größenzunahme einer in Gang befindlichen oder sogar schon abgeschlossenen (jedoch erst postischämisch begonnenen) DNS-Neubildung zuzuschreiben ist. Die vollzogene Reduplikation findet karyometrisch ihren Ausdruck in einer volumengerechten Verdoppelung und histologisch — nach Beendigung der prämitotischen Ruhephase — in dem Sichtbarwerden von Kernteilungsfiguren, die in der Folgezeit beträchtlich zunehmen.

### *II. Regeneratorische Prozesse*

Bei der Neubildung von Tubulusepithelien interessiert besonders die Regenerationsquelle (etwaige „Indifferenzzone“? STAEMMLER) sowie die nähere Art des Zellnachschubes. Eng damit verknüpft ist die Frage nach den maßgeblichen mitogenetischen Faktoren. Zwischen dem reinen Zellersatz und der endgültigen funktionellen Restitution liegt ein verhältnismäßig langes, offenbar der Epithelreifung dienendes Stadium. Dabei soll uns der Modus der Wiederherstellung des regelhaften Tubulus- und Epithel-Musters beschäftigen.

**1. Mitosen.** Überraschend ist das Auftreten der ersten Kernteilungsfiguren bereits nach 3- und 6stündiger Manifestation. Diese Beobachtung scheint um so merkwürdiger, als alle bisherigen Untersuchungen (unter anderen von KOBURG und SCHULTZE, KOBURG und MAURER, PILGRIM und MAURER) übereinstimmend gezeigt haben, daß der Beginn einer Mitose frühestens etwa 7—10 Std nach Einsetzen der DNS-Verdoppelung möglich ist. Selbst wenn einige Epithelien die 60 min lange Gefäßabklemmung gut überstanden oder sich so rasch erholt haben, daß sie schon kurze Zeit später eine DNS-Synthese einzuleiten vermochten, müßten sie sich nach 3 und 6 Std immer noch in der S-Phase, allenfalls in der anschließenden, unerlässlichen prämitotischen Ruhephase ( $G_2$ ) befinden. Es ist also nicht möglich, die DNS-Synthese, die den von uns gefundenen initialen Mitosen voraufgegangen sein muß, mit der Wirkung der Ischämie in Verbindung zu bringen. Denn nach allen bisherigen Erfahrungen kann nicht mit einer Verkürzung der DNS-Synthesezeit und der prämitotischen  $G_2$ -Phase, von FRANCK nach einseitiger Nephrektomie theoretisch diskutiert, gerechnet werden. Die Lösung des Problems scheint vielmehr, wie GELFANT am Beispiel der verletzten Epidermis des Mäuseohres dargelegt hat, darin zu liegen, daß in Organen mit langsamer

zellulärer Erneuerungsrate jeweils eine gewisse Zahl von Zellen für lange Zeit in der sonst rasch durchlaufenen prämitotischen Ruhephase ( $G_2$ ) verharrt und somit als ein im Notfall sofort einsatzbereites „Regenerationsblastem“ zu gelten hat. So sind wir also der Meinung, daß auch in der Niere ein solches Zellsystem existiert und daß die „vorzeitigen Mitosen“ in unseren Experimenten auf diese Weise zu erklären sind. Daß wir die frühen (vorzeitigen) Kernteilungen in den Ischämie-Nieren erst etwas später (nämlich nach 3 Std) antreffen als GELFANT, hängt damit zusammen, daß bei unseren Tieren die Folgen der allgemeinen Zellschädigung erst überwunden werden mußten und eine Wiederherstellung normaler kolloidaler Verhältnisse (als Voraussetzung für den Eintritt der Karyokinese) notwendig war. Eine weitere Stütze für diese Ansichten liegt in der Tatsache, daß die nicht unterbundenen rechten Nieren schon unmittelbar nach Lösen der linksseitigen Gefäßklemme, also 1 Std nach Beginn des Eingriffs, bereits 34 Prophasen in 1200 Blickfeldern eines Schnittpräparates und nach 6 Std mehr als doppelt so viel (jetzt fast ausschließlich Ana- und Metaphasen) enthalten.

Somit hat sich erwiesen, daß man bei der postischämischen Nierenregeneration mindestens *zwei große Gruppen von Mitosen* unterscheiden muß. Das sind einmal die „vorzeitigen“ *Mitosen*, die unmittelbar nach erfolgreicher Zellerholung aus der seit langem erreichten  $G_2$ -Phase einsetzen. Sie stehen vorwiegend in der Nieren-Rinde als einsatzbereites Notfall-System zur Verfügung. Die andere Gruppe enthält die *späteren Mitosen*, die eine — erst nach mehr oder weniger langer Epithelrestitution einsetzende — postischämische DNS-Synthese mit anschließender prämitotischer Ruhephase zur Voraussetzung haben.

Darüber hinaus zeigen unsere vergleichenden histologischen und Häufigkeitsanalytischen Befunde, daß jegliche postischämische tubulocelluläre Regeneration anscheinend ausschließlich auf mitotischem Wege erfolgt und nicht etwa vorwiegend durch Amitosen mit anschließenden Cytoplasmateilungen. Das Mitosestadium erstreckt sich in den eigenen Versuchen über 1 Woche. Seine Geschwindigkeit folgt der geometrischen Reihe. Diese Feststellung paßt gut zu gleichartigen Wahrnehmungen an anderen Geweben (E. WEBER, KULENKAMPFF) und spricht dafür, daß die logarithmische Verteilung nicht nur bei physiologischen Wachstumsvorgängen, sondern ebenso bei pathologisch verursachten Regenationsprozessen in noch nicht überalterten Organen etwas absolut Gesetzmäßiges ist.

Vom 2. Tage an sind alle Rinden- und Markzonen, abgesehen von zeitlichen Differenzen, annähernd gleich intensiv mitotisch aktiv. Daher darf die frühere Vermutung von STAEMMLER und KARHOFF, daß sich ein neuer Zellbesatz nur von den tieferen Teilen des Nephron nach oben auf der Basalmembran vorschreibt, und die These von SCHOENEMANN und BIENENGRÄBER (Ausgangsort der tubulären Regeneration sei die Intermediärzone), nicht grundsätzlich verallgemeinert werden. Vielmehr können sämtliche Nephronabschnitte die geforderte Mitotestätigkeit in hohem Maße entfalten, sofern nur in jeder Tubulusetage genügend teilungsfähige Elemente stehen geblieben sind. Daß die Regenerationskraft freilich auch vom Lebensalter des Organismus abhängt, haben Parallelversuche an  $1\frac{1}{2}$  Jahre alten Ratten gezeigt, bei denen unter sonst gleichen experimentellen Bedingungen ein mitotischer Zellersatz fast ganz ausblieb und stattdessen schwere persistierende Narben resultierten.

Bei der Häufigkeitsanalyse haben wir die initialen „vorzeitigen“ Mitosen nicht berücksichtigt. Vielmehr wurde die 2. große Mitosegruppe ausgewertet, d. h. alle von der 12. Std bis zu 7 Tagen nach Wiederdurchblutungsbeginn jeweils in 12stündigem Abstand registrierten Kernteilungen. Die so erhaltene Gesamtkurve zeigt 3 Gipfel. Sie lassen sich 3 Teilkollektiven zuordnen. Das 1. Kollektiv führt gleichsam zu einer Art Vorgipfel, das 3. bildet eine kurze Nachschwankung. Dem 2., auffallend breitbasigen Kollektiv (= 4740 Mitosen mit einem Maximum nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen) kommt zweifellos der Hauptanteil am regeneratorischen Epithelersatz zu. Es scheint zeitlich einem besonders massiven Nekroseschub etwa 12 Std zu folgen. Überdies gewinnt man bei allen 3 Kollektiven den Eindruck, daß die Zahl der Mitosen weit über der Zahl der Nekrosen liegt. Dafür sprechen auch die häufig anzutreffenden Überschußproliferationen mit stärkerer Einengung oder sogar totaler Obliteration der Kanälchenlichtung.

Es erhebt sich nun die Frage nach den *mitogenetischen Faktoren*. Vielfach wird angenommen, daß aus den nekrotischen Zellen freigewordene Zerfallsprodukte (sog. „Nekrohormone“) auf die benachbarten, erhalten gebliebenen Epithelien einen unmittelbaren Mitosereiz ausüben. In unserem Fall mag eine solche an Ort und Stelle erfolgende Reaktion auf einen lokalen Reiz für das 2. Kollektiv ausschlaggebend sein. Für das 1. Kollektiv kann er aber nicht allein entscheidend sein, denn hier fällt ein besonders starkes zahlenmäßiges Mißverhältnis zwischen Kernteilungen und Nekrosen zugunsten der Mitosen auf. Überdies finden wir zu diesem Zeitpunkt auch in der rechten Niere (die immer durchblutet war) erstaunlich viele Kernteilungen. Daraus läßt sich folgern, daß ein humorāl übertragbarer Mitosestimulus im Spiel sein muß. Dabei ist unseres Erachtens nicht nur an eine humorale Verschleppung sog. Nekrohormone über die nun wieder geöffnete Vene der linken Niere zu denken, sondern auch — wie die frühesten Mitosen in der rechten Niere wohl am besten zeigen — an einen Mitoseimpuls, der durch die Ausschaltung des gesamten Gefäßstieles der linken Niere, also durch die „scheinbare Nierenentfernung“, gesetzt und an der kontralateralen Niere ebenso wie (nach Lösen der Ligatur) an der bislang unterbundenen linken Niere selber wirksam wurde. In diesem Punkt hätte man eine gute Parallele zu den Beobachtungen von FRANCK nach einseitiger Nephrektomie. Freilich, ob es sich bei einem solchen Mitoseimpuls um einen besonderen, erst jetzt auftretenden Stoff, oder aber um den Wegfall eines unter normalen Umständen vorhandenen Hemmfaktors handelt, vermögen wir vorerst nicht sicher zu sagen. Immerhin scheint uns die zuletzt genannte Möglichkeit die wahrscheinlichere zu sein.

Bei dem 3. Kollektiv hat man zunächst an die Nachwirkung eines, wie auch immer gearteten, Stimulans zu denken (daher Mitose-Nachschwankung). Es kommt aber noch eine Besonderheit hinzu. Denn ein großer Teil aller Karyokinesen dieser Gruppe findet sich vorwiegend in der Zona basalis und zudem erst nach 4tägiger Wiederdurchblutung, also zu einem Zeitpunkt, wo Zelluntergänge nur ganz vereinzelt zu sehen sind. Im übrigen enthielt dieser Bezirk, verglichen mit den anderen Nephronabschnitten, schon vorher nur wenige Nekrosen. Dagegen besteht ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Mitosen und einer ungewöhnlich starken Eiweißablagerung in den Epithelien der stark erweiterten Ausführungsgänge. Es wäre denkbar, daß dieses aus zerfallenden Tubuluszellen höherer Parenchymbezirke stammende, nach unten abtransportierte und hier

aufgenommene Eiweiß ebenfalls ein Stimulans für die letzte Mitosewelle gewesen ist. Den intratubulären Druckanstieg glauben wir — im Gegensatz zu STAEMMLER — als mitogenetischen Faktor ausschließen zu können. Denn diesbezügliche eigene Testversuche mittels alleiniger Ureterligatur und konsekutiver Hydro-nephrose haben praktisch kaum Mitosen ergeben.

**2. Mitosestörungen.** Bei der postischämischen Regeneration sind besonders zwischen 3. und 5. Tag pathologische Teilungsformen, wie erwähnt, ein ziemlich häufiges Vorkommnis. Manche chromosomal Verteilungsstörungen dokumentieren sich im nachfolgenden Stadium des Ruhekerns in hantel- oder semmelförmigen Einschnürungen, die unseres Erachtens eine starke Ähnlichkeit mit Amitosen haben. Indessen gibt es ein untrügliches Zeichen, daß es sich dabei nicht um eine echte äquale Amitose handeln kann. Das ist eine, wenn auch noch so schmale Brücke zwischen beiden Kernhälften, die auf eine persistierende chromosomal Verbindung der Anaphasegruppen zurückgeht. Solche Formen repräsentieren also sog. Pseudoamitosen (HAECKER 1900), für die PFUHL die Bezeichnung Pyknomitosen vorgeschlagen hat (vgl. BUCHER). Über das weitere Schicksal der Pseudoamitosen können wir nichts Sichereres sagen. Später fehlen sie jedenfalls. Mitunter hat man den Eindruck, daß eine der beiden Hantelhälften noch länger erhalten bleibt, die andere dagegen unter pyknotischer Verkleinerung bald zugrunde geht. Wesentlich häufiger sind knospähnliche Vorwölbungen, die unter Umständen zu grotesken Kernverformungen führen. Derartige, im Schrifttum sehr unterschiedlich gedeutete Varianten halten wir für Folgen von Chromosomenversprengungen, die die Bildung eines abgerundeten einheitlichen Kernes unmöglich machen. Vorher höher ploide Kerne werden auch in diesem Stadium der Restitution zuweilen amitotisch aufgeteilt, so daß hier ähnliche Bilder wie in den ersten postischämischen Stunden resultieren.

**3. Unruhe des Kernmusters.** Auf dem Höhepunkt der Zellneubildung, d. h. zwischen dem 3. und 5. Tag der Wiederdurchblutung, finden wir eine in der Niere ungewohnt starke Polymorphie mit nuclearen Größenschwankungen von Kleinkernen bis zu Riesenkernen. Dabei kann man, von der funktionellen Kernschwellung abgesehen, mindestens noch zwei Gruppen unterscheiden, nämlich Kerne, bei denen das vergrößerte Volumen einer höheren Kernklasse entspricht und andere, bei denen die Größenzunahme außerhalb des Verdoppelungsrhythmus erfolgt ist.

In der *ersten Gruppe* sind rein chromosomale Vorgänge für die Vergrößerung verantwortlich zu machen. Sie enthält außer den G<sub>2</sub>-Kernen die Polyploiden. Für deren Entstehung spielen hauptsächlich Mitosestörungen, wahrscheinlich aber auch Endomitosen eine ursächliche Rolle. Beide Teilungsanomalien kommen vor allem in solchen Parenchymbezirken vor, die — vermutlich durch überdauernde bzw. rezidivierende regionale Gefäßspasmen — erneut geschädigt wurden (wofür unter anderem frische, herdförmige Hyperhydrierungen des Cytoplasmas sprechen). Daher möchten wir auch die Endomitosen in unserem Falle als Resultat einer fortbestehenden Beeinträchtigung der inneren Stoffwechselsituation, zumindest aber als Ausdruck einer Überforderung nicht voll leistungsfähiger, z. B. noch nicht ausreichend wiedererholter Epithelien (die zu einer regelhaften Karyokinese noch nicht fähig sind) werten. Schließlich gehören in diese 1. Gruppe auch Großkerne, die ihre Entstehung einer rückläufigen Kernverschmelzung, einem unseres

Erachtens gar nicht seltenen Ereignis (vgl. CLARA, JAKOBY, JERUSALEM), zu verdanken haben.

Die in der *zweiten Gruppe* zusammengefaßten Großkerne enthalten zunächst in der DNS-Synthese begriffene Zellen. Andere erwecken den Verdacht auf eine Aneuploidie, wahrscheinlich infolge Störung des Mitoseablaufs. Ferner gehört die große Zahl von Kernen hierher, bei denen die Volumenvermehrung auf besonderen Ereignissen im Wasserhaushalt beruht. Sie dokumentieren sich in einer Ausweitung der im fixierten Präparat sichtbaren Safräume und damit in einer Auseinanderdrängung der gleichzeitig vergröberten Chromatinbalken, also in einer Form, die wir als pathologisches, durch Energie-Mangel bedingtes Kernödem bzw. als postischämischen Kernhydrops bezeichnet (CAIN 1961) und hauptsächlich durch osmotische Wasseraufnahme aus der Umgebung des Kernes bei gleichzeitiger Dehydratation des Chromatins erklärt haben. Ihr herdförmig verstärktes Auftreten läßt uns wiederum an die Auslösung durch rezidivierende Blutverteilungsstörungen denken.

Auffallend kleine Kerne sind in diesem Stadium seltener. Sie machen meist einen pyknotischen Eindruck und sprechen daher für ihren degenerativen Charakter, besonders dann, wenn gleichzeitig das Cytoplasma entweder dehydriert und homogenisiert oder aber hyperhydriert ist. Gleichwohl läßt sich bei einigen anderen Exemplaren nicht ausschließen, daß es sich um haploide Kerne handelt.

Insgesamt müssen wir das im späteren postischämischen Wiederdurchblutungsstadium auftretende bunte Kernmuster zwar als Schädigungsfolge, aber nicht in jedem Einzelfalle als Zeichen einer irreversiblen, in den Gewebsuntergang mündenden Alteration betrachten. Je schwerer der anfängliche Schädigungsgrad, desto stärker scheint auch der Regenerationsimpuls und dementsprechend desto bunter das cytologische Äquivalent dieses Widerstreites von regelhafter Restitution, gestörter Regeneration und frischen Intervallen regionaler, akuter Schädigungen zu sein. Vergleichen wir die eigenen Beobachtungen in den Ischämie-Nieren mit früheren Befunden von GRUNDMANN und BACH (1960) nach  $\frac{2}{3}$ -Resektion der Rattenleber, so besteht ein wesentlicher Unterschied darin, daß in unseren Experimenten die Welle der Polyploidisierung nicht dem Gipfel der Mitosen voraufgeht, sondern mit ihm zusammenfällt. Das spricht für ihre Entstehung aus Mitoseanomalien, und zwar entweder in dem Sinne, daß eine angelaufene Karyokinese vorzeitig abgebrochen und so statt zu zwei diploiden zu einem polyploiden Kern führt, oder daß die endomitotische Chromosmentrennung an Stelle der echten Karyokinese tritt.

**4. Obturierende Regeneration.** Ein weiteres Merkmal dieses Stadiums sind überschießende, meist lokal begrenzte Zellneubildungen. Oft genug ragen vielzellige Knospen papillenähnlich in die Kanälchenlichtung hinein. Das Lumen kann dadurch unterteilt oder sogar obliteriert sein (vgl. auch NOLTENIUS, SHEEHAN und DAVIS). Gar nicht selten resultiert daraus eine beträchtliche, stauungsbedingte Dilatation der proximal gelegenen Kanälchen. Jedoch bleibt eine solche Tubulusverlegung nie längere Zeit bestehen, da sie bald durch Nekrosen, vielleicht auch durch Ausschwemmung nicht an der Basalmembran verankerter innerer Exemplare abgebaut wird. Womöglich spielt für die Rekanalisation zudem der von proximal wirksame Druck des gestauten Harnes eine begünstigende Rolle.

**5. Wiederherstellung eines geordneten Zellmusters.** Der regeneratorischen Zellneubildung (die nach etwa 7 Tagen Wiederdurchblutung beendet ist) folgt nun ein länger dauerndes Stadium der Epithelreifung, das sich über mehrere Wochen erstreckt. Bis Ende der 2. Woche sind immer noch viele Großkerne wahrnehmbar. Ende der 3. Woche tritt eine deutliche Zunahme sowohl der Kerne als auch der Zellen ein. Gleichzeitig nimmt die Anzahl der Großkerne progredient ab. Die Epithelien sind jetzt dicht gedrängt und hochprismatisch-schlank, ihre Kerne schmal-oval und radiär zur Tubuluslichtung gestellt. Da einerseits keine Mitosen, andererseits nur relativ wenige Doppelkerne zu sehen sind, muß man annehmen, daß die Großkerne amitotisch deploidisiert werden und daß dieser amitotischen Kernteilung alsbald auch eine Cytoplasmateilung folgte. Erst später werden überflüssig gewordene Elemente nach Umwandlung in sog. Stiftzellen abgestoßen. Diese zweite, späte Amitose-Welle dient also — im Gegensatz zu den initialen Amitosen — dem Aufbau eines hochdifferenzierten, definitiven Gewebsmusters und der endgültigen funktionellen Restitution. Sie hat nicht etwa regressive Züge, sondern ist unseres Erachtens ein charakteristisches Phänomen der sog. „akzidentellen Regeneration“ im Sinne STAEMMLERS.

Überblicken wir die gesamte Zeitspanne der *postischämischen Regeneration* noch einmal *kurz zusammengefaßt*, so ergibt sich etwa das folgende Bild. Schon erstaunlich rasch treten in der temporär ischämisch gewesenen linken Niere (3—6 Std nach Abnahme der Gefäßklemme) und in der kontralateralen Niere (1—6 Std) „vorzeitige“ Mitosen aus einem einsatzbereiten Notfall-System (das schon seit langem in der G<sub>2</sub>-Phase verharrt) auf. Die zweite, größere Mitosegruppe setzt erst nach einer postischämischen DNS-Synthese und anschließender Absolvierung der G<sub>2</sub>-Phase in allen Rinden- und Markbezirken ein. Sie hält eine Woche an und spiegelt sich bei der Häufigkeitsanalyse in drei Teilkollektiven innerhalb der Gesamtverteilungskurve wider. Aus zahlreichen Mitosestörungen und funktioneller Überbelastung resultiert ein sehr polymorphes Zellbild mit beträchtlichen nuclearen Volumenschwankungen und einer Frequenzzunahme von Großkernen. Deren Zustandekommen muß teils auf Änderungen des DNS-Gehaltes, teils auf eine Intensitätssteigerung der RNS- und Proteinsynthese, teils aber allein auf eine Flüssigkeitsvermehrung bezogen werden. Regionale Unterschiede in der Schnelligkeit und im Ausmaß des Zellnachschubs sind Ausdruck z. T. unterschwelliger, z. T. überschießender Regeneration. Der reine Zellersatz ist Ende der 1. Woche abgeschlossen. Dem Stadium der Materialbeschaffung schließt sich bis zur 4. Woche ein länger dauerndes Stadium der Epithelreifung und der Wiederherstellung des geordneten Bauplanes an. Mutmaßlich führen Amitosen zur Deploidisierung von polyploiden Großkernen.

### *III. Folgerungen für die späte, postischämische Funktionsstörung*

All die geschilderten Prozesse sind nun aber nicht allein für sich bedeutsam. Gerade aus der cellulären Perspektive der Wiedererholung und der Regeneration zeichnen sich einige, für die Erklärbarkeit der fortdauernden Funktionsstörung aufschlußreiche Gesichtspunkte ab. Funktionell äußert sich das 2. Stadium in einer mächtigen Polyurie. Sie ist — wie KABOTH gezeigt hat — von Hyposthenurie, Exsiccose und z. T. von Hypokaliämie begleitet. Deren Dauer beträgt für gewöhnlich 1 Woche. Bei einigen Tieren verläuft die Polyurie einphasisch, bei

anderen wird sie noch mehrmals abgelöst von oligurischen Intervallen. Konstantes histologisches Phänomen ist eine regionale Tubulusektasie.

Im einzelnen haben sich die folgenden feinstrukturellen Befunde als maßgebliche Ursachen für die späte Funktionsstörung erwiesen.

1. Die Wiedererholung nur vorübergehend getroffener Tubulusepithelien geht in manchen Nephronen ziemlich langsam vor sich, was unseres Erachtens mit überdauernden Blutverteilungsstörungen zusammenhängt.

2. Mit der regeneratorischen Ausfüllung von nekrotisch bedingten Zell-Lücken ist keineswegs schon der ganze Funktionsschaden behoben. Denn an das Stadium des reinen Materialersatzes schließt sich regelmäßig eine längere Spanne der Zellreifung an, die ihrerseits Voraussetzung einer funktionellen Restitutio ad integrum ist.

3. Überdies wird oft die strukturelle Reparation gestört, was dann eine erneute Verstärkung der Funktionsbeeinträchtigung zur Folge haben dürfte. Dafür sind verschiedene Kausalfaktoren verantwortlich zu machen. Einmal spielt eine frühzeitige Überlastung stehengebliebener (eventuell noch nicht voll wiedererholter) Zellen eine Rolle. Zum andern sind es Abweichungen im Mitoseverlauf, sei es in Form überstürzter Teilungen, sei es, daß die Karyokinese in falsche Bahnen gelenkt wurde und nun neue Elemente entstehen, die entweder kurzlebig oder nicht ausreichend leistungsfähig sind. Die bisherigen Befunde dokumentieren die tubulocelluläre Komponente an der Funktionsbehinderung während des Regenerationsstadiums. Sie muß vor allem als Resorptions-Insuffizienz bei wieder zunehmender glomerulärer Filtration aufgefaßt werden.

4. Zwischen 3. und 5. Tag der Manifestation fällt nun bei manchen Tieren eine erneute Oligurie nach vorausgegangener Polyurie auf. Zur gleichen Zeit finden wir temporär und herdförmig obturierende Tubulusproliferationen. Zwar haben die lokalen Kanälchenverschlüsse sicher einen gewissen Anteil an einer regionalen Abflußbehinderung, indessen sind sie für sich allein keinesfalls ausreichend, die rezidivierende Oligurie insgesamt zu erklären.

5. Zu eben diesem Zeitpunkt findet sich aber in den nicht dilatierten Kanälchen ein neuerlicher Zellhydrops und andernorts ein Kollaps von Tubuli und Glomerula. Aus der Eigenart dieser Tubulus- und Glomerulum-Befunde und aus ihrem Zusammentreffen mit der Oligurie schließen wir auf einen causalen Zusammenhang, indem wir beides für das Resultat erneuter spastischer Gefäßkontraktionen halten. Zusammenwirkend könnten dann Störungen der Regeneration in Form mangelhafter (eventuell protrahierter) Neubildungen oder in Gestalt überschießender obturierender Prozesse einerseits und frische Spasmen mit präglomerulärer Zuflußstörung andererseits das wiederholte Nachlassen der Harnausscheidung hinreichend erklären: nämlich als regional gesteigerte Rückresorptions-Insuffizienz bei gleichzeitiger mechanisch bedingter lokaler Abflußbehinderung und bei erneut eingeschränkter Filtration.

#### Zusammenfassung

Die Wiedererholung vorübergehend ischämisch getroffener Tubulusepithelien wird mit der Herstellung der cellulären Wasserbilanz eingeleitet. Karyologischer Ausdruck der frühen Zellerhaltungs- und Reparationsvorgänge sind außer funktioneller Kern-(einschließlich Nucleolus-)Schwellung vor allem äquale Amitosen.

Regeneratorische Epithelneubildungen beginnen bereits 3—6 Std nach Wiederdurchblutung mit „vorzeitigen“ Mitosen, mutmaßlich aus einem in der Rinde einsatzbereit vorhandenen Regenerationsblastem in stationärer G<sub>2</sub>-Phase. Die später auftretenden Mitosen haben eine postischämische DNS-Synthese zur Voraussetzung. Sie lassen sich bei der Häufigkeitsanalyse in drei Teilkollektive (entsprechend drei großen Mitosewellen) einordnen. Unter den mitogenetischen Faktoren spielt ein lokaler Reiz (Wirkung sog. Nekrohormone), aber auch ein allgemeinerer humoral übertragbarer Mitose-Impuls (Wegfall eines physiologischen Hemmfaktors?) eine Rolle, der sowohl für die „vorzeitigen“ Kernteilungen in der alterierten linken Niere wie für die noch früheren Mitosen in der kontralateralen (immer durchbluteten) Niere verantwortlich zu machen ist. Der Phase der reinen Materialbeschaffung (1. Woche) folgt ein längeres Stadium der Wiederherstellung des normalen Bauplanes (2.—4. Woche).

### Studies of the Results of a Transitory Experimental Renal Ischemia.

#### II. The Processes of Tubular Restitution

##### Summary

The restitution of tubular epithelium injured by transitory ischemia begins by a re-establishment of the cellular water balance. Karyological evidence of the early processes of cellular preservation and recovery are the functional nuclear and nucleolar swelling and especially the equal amitoses. Three to six hours after the circulation is restored regenerative processes of epithelial growth start with “premature” mitoses. These originate presumably from a cortical regeneration-blastema which is in the stationary G<sub>2</sub> phase and always ready to react. It is assumed that the mitoses appearing later indicate a post-ischemic DNA synthesis. They may be classified from the frequency analyses into three collective groups corresponding to three large waves of mitoses. Of the mitogenetic factors, a local stimulus plays a role (effect of a socalled necrohormone). A more general and humorally transplantable mitotic stimulus (suppression of a physiological inhibiting factor?), however, is not only responsible for the “premature” nuclear division in the affected left kidney, but as well for the still earlier mitoses in the contralateral kidney (with intact circulation). Following the period during pure acquisition of nutriments (first week), there is a longer phase of reconstruction of the normal architecture.

##### Literatur

- BENNINGHOFF, A.: Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitosenähnlicher Vorgänge. S.-B. der Ges. zur Förd. der ges. Naturw. Marburg, Nr 7, 45—68 (1922).
- Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung. Anat. Nachr. 1, 50—52 (1949).
- BUCHER, O.: Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Protoplasmatologia, Bd. VI, E 1. Wien: Springer 1959.
- , u. CL. GAILLOUD: Zum Verhalten der Zellkerne bei verschiedenen Funktionszuständen der Nierenkanälchen. Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 14, 254—272 (1958).
- BUSANNY-CASPARI, W.: Die Rolle der Amitose bei experimentell gesteuerter Leberregeneration. Verh. Dtsch. Ges. Path. 45. Tagg 1961, S. 155—157.
- CAIN, H.: Karyologische Befunde bei Regenerationsvorgängen in der Niere. Verh. Dtsch. Ges. Path. 45. Tagg 1961, S. 174—178.
- , u. ST. FAZEKAS: Studien über die Folgen einer vorübergehenden Nierenischämie. I. Die morphologischen Veränderungen des akuten Schadens und ihre funktionelle Deutung. Virchows Arch. path. Anat. 336, 389—416 (1963).

CLARA, M.: Untersuchungen über Wachstum und Regeneration der Nierenepithelien. *Z. Anat.* **104**, 103—132 (1935).

DAEVES, K., u. A. BECKEL: Großzahlmethodik und Häufigkeitsanalyse, 2. Aufl. von „Großzahlforschung und Häufigkeitsanalyse“. Weinheim 1958.

FRANCK, G.: Étude du métabolisme et de la synthèse des acides désoxyribonucléiques au cours de l'hypertrophie compensatrice du rein chez le rat jeune, par cytophotométrie, caryométrie et histoautoradiographie. *Arch. Biol. (Liège)* **71**, 489—525 (1960).

— Étude histoautoradiographique des acides désoxyribonucléiques au cours de l'hypertrophie compensatrice du rein chez le rat blanc jeune. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **251**, 1306—1308 (1960).

GELFANT, S.: Initiative of mitosis in relation to the cell division cycle. *Exp. Cell Res.* **26**, 395—403 (1962).

GRUNDMANN, E.: Beiträge zur Krebsentstehung in der Rattenleber, an Hand mikrophotometrischer DNS-Messungen. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **38**, Tgg 1955, S. 362—370.

—, u. E. BACH: Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller Hepatektomie. *Beitr. path. Anat.* **123**, 144—172 (1960).

GUSEK, W.: Disk.-Bemerkung, *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 45. Tagg 1961, S. 157.

HÄCKER, V.: Mitosen im Gefolge amitoseähnlicher Vorgänge. *Anat. Anz.* **17**, 9—20 (1900).

JERUSALEM, CH.: Über das Kernwachstum durch „innere amitotische“ Teilung. *Verh. anat. Ges. (Jena)*, Suppl. ad *Anat. Anz.* **105**, 108—117 (1958).

KABOTH, U.: Funktionelle und morphologische Untersuchungen an der ischämisch geschädigten Ratteniere. *Med. Inaug.-Diss. Würzburg* 1963.

KOBURG, E., u. W. MAURER: Untersuchungen mit H-3-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese und den zeitlichen Verlauf der DNS-Synthese bei verschiedenen Zellarten der Maus. *5. Internat. Symp. Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Bad Gastein* 1962.

— — Autoradiographische Untersuchungen mit H-3-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus. *Biochem. biophys. Acta* **61**, 229—242 (1962).

—, u. B. SCHULTZE: Autoradiographische Untersuchungen mit H-3-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese, der Ruhephase und der Mitose bei proliferierenden Systemen wie den Epithelien des Darms, des Oesophagus und der Cornea der Maus. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 45. Tagg 1961, S. 103—107.

KULENKAMPFF, H.: Mündliche Mitteilung.

NOLTENIUS, H.: Histologische Befunde an Nierenepithelien zur Rückbildung des akuten Nierenversagens. In: *Akutes Nierenversagen*, S. 27—36. Stuttgart: Georg Thieme 1962.

PFUHL, W.: Die mitotischen Teilungen der Leberzellen im Zusammenhang mit den allgemeinen Fragen über Mitose und Amitose. *Z. Anat.* **109**, 99—133 (1938).

PILGRIM, CH., u. W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdoppelungszeit verschiedener Zellarten von Maus und Ratte bei Doppelmarkierung mit  $^{3}\text{H}$ - und  $^{14}\text{C}$ -Thymidin. *Naturwissenschaften* **49**, 544—545 (1962).

SCHOENEMANN, J., u. A. BIENENGRÄBER: Morphologischer und fermenthistochemischer Beitrag zur Chronopathologie des akuten Nierenversagens. *Virchows Arch. path. Anat.* **336**, 59—76 (1962).

SHEEHAN, A. L.: Intermittent complete renal ischaemia. *J. Path. Bact.* **79**, 77—87 (1960).

—, and J. C. DAVIS: Renal ischaemia with good reflow. *J. Path. Bact.* **78**, 351—377 (1959).

STAEMMLER, M.: Über physiologische Regeneration und Gewebsverjüngung. *Beitr. path. Anat.* **80**, 512—569 (1928).

— Regeneration und kompensatorische Hypertrophie des Nierengewebes. In: *Spezielle Pathologie und Anatomie von KAUFMANN*, Bd. II/1, S. 733—738. Berlin: de Gruyter & Co. 1957.

—, u. B. KARHOFF: Die akuten Nephrosen. II. Nierenschäden durch Antibiotica. *Virchows Arch. path. Anat.* **328**, 481—502 (1956).

STÖCKER, E.: Zur Frage der funktionellen und pathologischen Kernschwellung (Autoradiographische Untersuchungen mit H-3-Phenylalanin und H-3-Cytidin an der Rattenleber nach Thioacetamid). *Naturwissenschaften* **50**, 130 (1963).

WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik, IV. Aufl. Jena 1961.