

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. MEESSEN)

Beitrag über die Frühstadien der Regeneration der Leber nach Teilhepatektomie und die Ursache des kompensatorischen Wachstums

Von

ERNESTO G. BADE *

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Februar 1964)

Schon v. PODWYSSOWSKI, PONFICK und v. MEISTER berichteten ausführlich über die große Regenerationsfähigkeit der Leber. Vom biologischen und morphologischen Standpunkt her, ist die erste Mitosewelle nach der Teilhepatektomie die wichtigste Erscheinung im normalen Verlauf der Regeneration. Diese erste Mitosewelle tritt bei der Ratte zwischen 24 und 28 Std nach der Operation [HARKNESS (1, 3); WEINBREN], bei der Maus etwas später, zwischen 40—50 Std nach der Hepatektomie [BARNUM u. Mitarb. (1); BADE u. ECHAVE LLANOS] auf. Nach der ersten Mitosewelle nimmt die Zahl der Zellteilungen innerhalb weniger Stunden schnell ab [BARNUM u. Mitarb. (1); BADE u. ECHAVE LLANOS], um in den nächsten Tagen wieder hohe Werte zu erreichen, die jedoch signifikant niedriger als die vorhergehenden sind (BADE). Die Mitosen laufen also in einem Rhythmus ab, der sowohl für die Ratte (JAFFE) als auch für die Maus (BADE) gesichert ist. In der regenerierenden Leber ist kurz nach der Operation ein Glykogenschwund [HARKNESS (1, 3); NOVIKOFF u. POTTER; ATERMAN (1)] und eine Zunahme der Lipide, vorwiegend der Neutralfette [HARKNESS (3)] zu erkennen.

Durch frühere Untersuchungen ist der Verlauf während und kurz vor der ersten Mitosewelle (BADE u. ECHAVE LLANOS) und am zweiten und dritten Tag nach der Hepatektomie (WILSON u. Mitarb.; BADE) bekannt. In den jetzigen Untersuchungen sollen die Frühstadien der Regeneration eingehend untersucht werden.

Material und Methoden

Es wurden insgesamt 66 männliche Cfw-Mäuse mit einem Körpergewicht von 20—25 g benutzt. Um unspezifische Reaktionen ausschließen zu können, wurden drei dieser Tiere laparotomiert und nach einigen Manipulationen an der Leber nicht teilhepatektomiert und 2 Std später getötet. Die restlichen 63 Mäuse wurden nach der Technik von BRUES, DRURY und BRUES teilhepatektomiert. Vor und nach der Operation erhielten alle Tiere Wasser und Futter „ad libitum“. Die Operationen wurden stets zwischen 10 und 12 Uhr durchgeführt und die Mäuse durch Dekapitation 2, 5, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46 und 50 Std nach der Hepatektomie in Gruppen von 3—5 Tieren getötet. Von allen Tieren wurde der dreieckige rechte Leberlappen sofort in Carnoy fixiert und danach in Paraffin eingebettet. Von dem ovalen rechten Leberlappen wurden nach Formalinfixierung Gefrierschnitte mit Sudan III gefärbt. Die Färbung der Paraffinschnitte erfolgte mit Hämatoxylin-Eosin nach HARKNESS (1) zur Auszählung der Mitosen und PAS zur Darstellung des Glykogens. Zum Nachweis der

* Jefe de Sección, Instituto de Patología General y Experimental, Mendoza, Argentina, zur Zeit Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung.

Ribonucleoproteide wurden Paraffinschnitte mit Azur B und Cresylviolett gefärbt. Als Kontrolle wurden einige Schnitte mit Ribonuclease vorbehandelt. Die Auszählung der Mitosen erfolgte bei einer Gesamtvergrößerung von $1000\times$. Von jedem Tier wurden mindestens 3000 Parenchymkerne und die dabei vorhandenen Mitosen gezählt. Nachdem die Ergebnisse auf 1000 Kerne umgerechnet waren, wurden sie mittels des „t-tests von STUDENT“ statistisch ausgewertet. Tiere, bei denen im Schnitt Nekrosen einzelner Leberzellen festgestellt wurden, sind in der Auswertung nicht berücksichtigt worden.

Ergebnisse

Schon 2 Std nach der Operation sind die Leberzellen der vier zu diesem Zeitpunkt untersuchten Tiere völlig frei von *Glykogen* (Abb. 1). Die Lebern der drei nur laparotomierten Kontrollen und der normalen Kontrollen zeigen dagegen

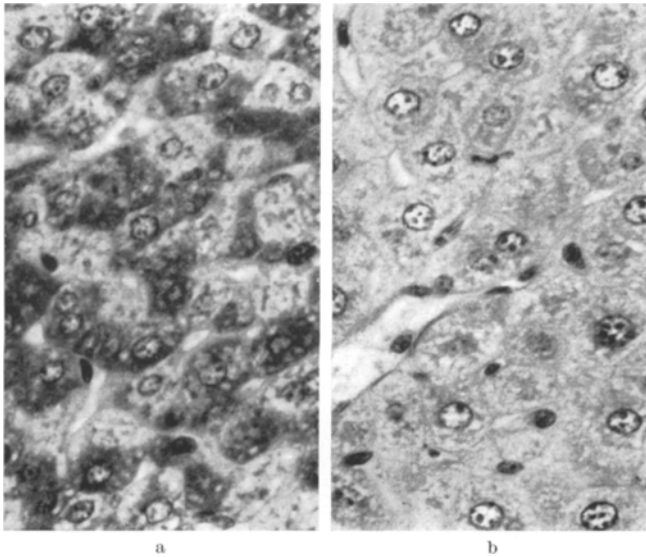


Abb. 1. a Normale Leber der Maus. Zahlreiche mit Glykogen beladene Leberzellen. Carnoy. PAS. $260\times$. b Regenerierende Leber der Maus 2 Std nach Teilhepatektomie. Glykogenschwund in allen Leberzellen. Carnoy. PAS. $270\times$

reichlich Glykogen, das in Form von Schollen und in geringerem Maße als Granula in allen Leberzellen nachzuweisen ist (Abb. 1). Bei den hepatektomierten Tieren dauert der Glykogenschwund noch 3 Std später an, 10 Std nach der Operation sind aber in den mittleren Abschnitten der Leberläppchen wieder kleine Glykogengranula zu finden. Zwischen 14 und 18 Std nach der Operation sind Glykogengranula in fast allen Leberzellen, ohne sich auf bestimmte Läppchenabschnitte zu beschränken, vorhanden. Der Bestand der Leberzellen an Glykogen nimmt weiterhin zu und scheint 26 Std nach der Operation einen Höhepunkt erreicht zu haben. Zu dieser Zeit ist die Substanz nicht nur in Form kleiner PAS-positiver Granula, sondern auch in regelrechten Schollen zu finden. Der Gehalt an Glykogen nimmt zwischen 30 und 34 Std nach der Operation wieder stark ab. Es sind keine Schollen mehr vorhanden und überhaupt nur noch sehr wenig Glykogen zu finden. Die PAS-positive Substanz besteht zu diesem Zeitpunkt nur aus feinen Granula. In den nächsten Gruppen nimmt der Glykogengehalt wieder zu, und zwischen 42 und 50 Std nach der Operation ist sogar noch mehr

Glykogen als während des ersten Höhepunktes (12/26: Tageszeit/Stunden nach Hepatektomie) vorhanden. Zahlreiche Schollen, die in einigen Fällen fast nur den Kern freilassen, erfüllen das Cytoplasma der Leberzellen.

In den Lebern der ersten Gruppe, 2 Std nach der Hepatektomie, ist schon eine deutliche, kleintropfige *Verfettung* der Leberzellen zu beobachten. Die Fetttropfen nehmen in den Tieren der späteren Gruppen an Zahl und Größe zu, erreichen aber in keinem Fall das Bild einer großtropfigen Verfettung. Auch sind im gesamten Verlauf der Regeneration niemals regressive Kernveränderungen der verfetteten Leberzellen zu sehen. Die Verfettung erreicht ihren Höhepunkt

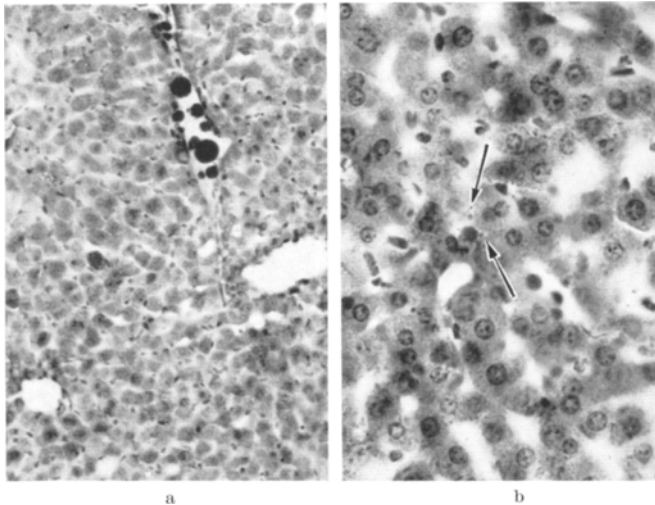


Abb. 2a u. b. Regenerierende Leber der Maus 5 Std nach Teilhepatektomie. a Fetttropfen verschiedener Größe in einer interlobulären Vene. Unterschiedlich ausgeprägte kleintropfige Verfettung der Leberzellen. Formol. Sudan III. 100 \times . b Fetttropfen verschiedener Größe in den Sinusoiden (Pfeile). Kleintropfige Verfettung der Leberzellen. Formol. Sudan III. 270 \times

zwischen 5 und 18 Std nach der Operation. Nachdem der histologisch nachweisbare Fettgehalt gegen 22 Std nach der Operation wieder zur Norm neigt, konnte keine, den frühen Stadien der Regeneration entsprechende Vermehrung des Fettgehaltes der Leberzellen mehr nachgewiesen werden. Die Verfettung betraf in allen Fällen fast ausschließlich die Parenchymzellen. Nur in einzelnen Lebern konnten gelegentlich kleine Fetttropfen in den Kupfferschen Sternzellen gesehen werden. In den Lebern von 2, 5 und 10 Std nach der Hepatektomie sahen wir zahlreiche Fetttropfen verschiedener Größe in den Gefäßen (Abb. 2). Auch in späteren Stadien haben wir gelegentlich intravasculäres Fett gesehen. In der Nähe der intravasculären Fetttropfen sind die Leberzellen oft stark mit Fett beladen. Die Kontrolltiere zeigten nur einen sehr geringen Fettgehalt, in Form kleiner Tropfen im Bereich der mittleren Läppchenabschnitte.

Als Kontrolle des Bestandes der Leberzellen an *Ribonucleoproteiden* dienten die drei nur laparotomierten Tiere, deren Lebern 2 Std nach der Operation entnommen wurden. Bei diesen Tieren zeigt die mit Ribonuclease extrahierbare basophile Substanz (Ribonucleoproteide), die für die Leberzellen typische Anordnung. Die RNP sind im Läppchenzentrum grob granulär und in der Läppchenperipherie

meist feingranulär. In fast allen Zellen sind die basophilen Schollen und Granula durch Ablagerungen von Glykogen teilweise verdrängt. In den Lebern, die 2 Std nach der Hepatektomie entnommen wurden, lassen die Leberzellen der Läppchenperipherie eine diffuse Verteilung der Ribonucleoproteide auf das gesamte Cytoplasma erkennen (Abb. 3). Im Zentrum des Läppchens und etwas weniger in der Mitte sind dagegen noch deutliche basophile Granula vorhanden. Von diesem Zeitpunkt an bleiben für die gesamte weitere Untersuchungsperiode die Ribonucleoproteide der Läppchenperipherie vorwiegend diffus verteilt. Eine ähnliche Anordnung wird in den mittleren Abschnitten der Läppchen erst 14 Std nach der

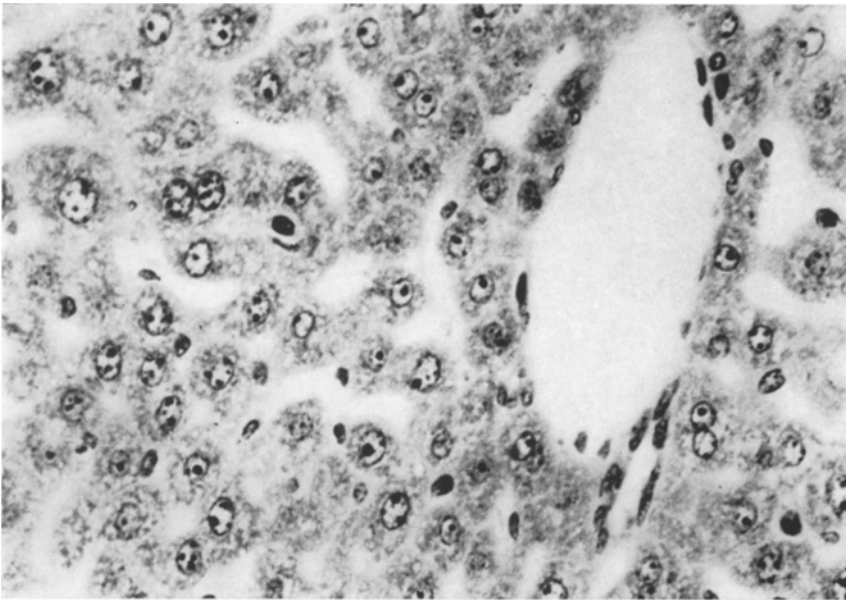


Abb. 3. Regenerierende Leber der Maus 2 Std nach Teilhepatektomie. Vorwiegend diffuse Verteilung der Ribonucleoproteide der Leberzellen. Carnoy. Cresylviolet. 300 \times

Operation erreicht. Diese mittleren Läppchenabschnitte sind 30 Std fast und 50 Std nach der Operation wieder ganz normal. Obwohl in den Läppchenzentren die basophile Substanz während der gesamten Untersuchungsperiode vorwiegend granulär bleibt, sind auch in diesen Abschnitten geringere Veränderungen zu verfolgen. Zwischen der 2. und der 30. Std nach der Operation sind die basophilen Schollen und Granula nicht mehr so deutlich wie bei den Kontrollen zu erkennen. Von der 34. Std an, bis zum Ende der untersuchten Periode, entspricht die Anordnung der RNP, insbesondere der zentralen und mittleren Läppchenabschnitte, dem normalen Bild (Abb. 4 und 5). Durch die einfachen histologischen Kontrollen kann nur über die qualitativen Veränderungen mit Sicherheit berichtet werden.

In den kurz nach der Operation untersuchten Gruppen sind fast keine *Mitosen* zu finden. Nur vereinzelt sind in einigen Lebern Meta- oder Anaphasen zu beobachten. Dieses Bild ändert sich um 0/38. Die Zahl der Zellteilungen ist zu dieser Zeit angestiegen. Die Werte sind 42 Std nach der Operation signifikant ($p < 0,05$) erhöht. Der Gipfel der ersten Mitosewelle ist 42 Std nach der Hepatektomie erreicht (Tabelle) und hält bis 4 Std später (8/46) an. Zwischen den Tieren

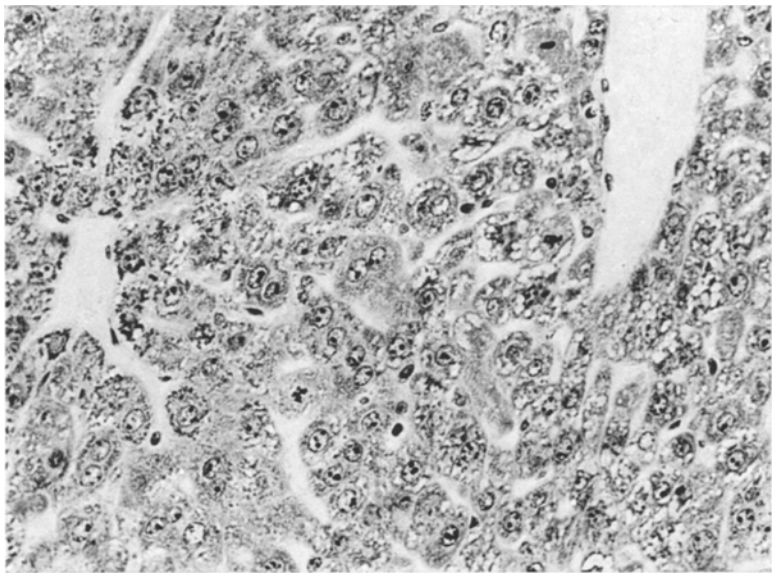


Abb. 4. Regenerierende Leber der Maus 38 Std nach Teilhepatektomie. Granulär-lamelläre Anordnung der Ribonucleoproteide im Läppchenzentrum. In der Peripherie diffuse Verteilung der Ribonucleoproteide und Vacuolen nichtgefärbten Glykogens. Carnoy. Cresylviolett. 260 ×

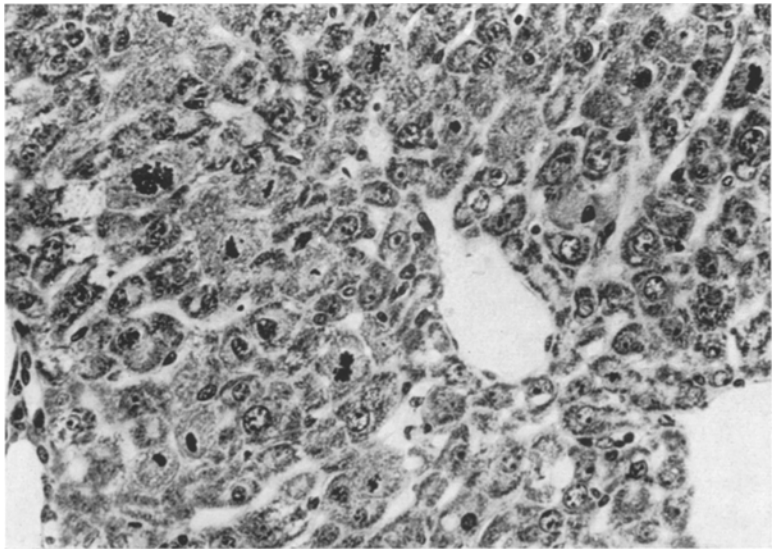


Abb. 5. Regenerierende Leber der Maus 46 Std nach Teilhepatektomie. Granulär-lamelläre Anordnung der Ribonucleoproteide in allen Läppchenabschnitten. Zahlreiche Mitosen, dabei eine poliploide. Carnoy. Cresylviolett. 270 ×

Tabelle. *Mitoserate (in Mitosen/1000 Kerne) in der regenerierenden Leber nach Teilhepatektomie*

Tageszeit/Std nach Hepatektomie	16/30	20/34	0/38	4/42	8/46	12/50
(N)	(3)	(2)	(3)	(5)	(5)	(8)
Mitoseraten	2 ± 1	9 ± 3	38 ± 13	64 ± 11	61 ± 14	21 ± 5

dieser beiden Gruppen ist kein Unterschied zu erkennen. In den nächsten Stunden nimmt die Zahl der Zellteilungen signifikant ($p < 0,01$) ab. Die meisten Mitosen zeigen eine normale Struktur, gelegentlich wurden aber auch tripolare Metaphasen beobachtet. Auch war in mehreren Fällen ein deutlicher Unterschied in der Menge der Chromosomen zu beobachten (polyploide Mitosen) (Abb. 5). Die Chromosomen konnten jedoch nicht ausgezählt werden.

Diskussion

Die erste Mitosewelle nimmt in den jetzigen Versuchen, im Vergleich zu früheren Ergebnissen (BADE u. ECHAVE LLANOS) einen etwas anderen Verlauf. Der Höhepunkt wird früher erreicht und hält länger an, als bei dem Inzuchtstamm C3H/mza unserer früheren Untersuchungen. Mit zunehmendem Alter der Tiere verlängert sich das Intervall zwischen der Hepatektomie und dem Beginn der Zellteilungen (MARSHAK u. BYRON). Da in den jetzigen Experimenten das Alter der Tiere nicht genau bekannt war und der Zeitpunkt, zu dem die verschiedenen Gruppen getötet wurden, vor und nach dem Gipfel der 44 Std unserer früheren Ergebnisse liegt, glauben wir die festgestellten Unterschiede auf diese beiden Faktoren zurückführen zu können. Die Streuung der Einzelwerte in den verschiedenen Gruppen dürfte dagegen besonders durch die unvermeidlichen Unterschiede in der Menge des entfernten Parenchyms (MACDONALD u. Mitarb.) hervorgerufen sein. Ungeachtet der erwähnten Verschiedenheiten in den Ergebnissen und trotz Benutzung eines anderen Mäusestammes stimmen die Ergebnisse so weit überein, daß wir nunmehr mit Gewißheit sagen können, daß bei der Maus die erste Mitosewelle nach der Hepatektomie immer zwischen 38 und 46 Std nach der Operation auftritt. Voraussetzung dafür ist, die Operation immer zu der hier angegebenen Tageszeit durchzuführen.

Schon in der normalen Leber ist ein Tagesrhythmus verschiedener Funktionen zu erkennen. Glykogenbildung und -abbau (FORSGREN), sowie der Einbau radioaktiver Phosphate in die Phospholipide und die Nucleinsäuren [BARNUM u. Mitarb. (2)] zeigen derartige Schwankungen. Es erhebt sich dadurch die Frage, ob die Folgen des Eingriffs durch eine Operation zu verschiedenen Tageszeiten geändert werden könnten. Die theoretisch ideale Situation ist ein Eingriff in der Phase des Tagesrhythmus, die eine zeitliche Übereinstimmung der regenerativen Vorgänge mit den normalen tagesperiodischen Veränderungen ermöglicht. Wir glauben diese Voraussetzung zumindest teilweise erfüllt zu haben, weil die festgestellten Glykogenschwankungen am zweiten Tag nach der Operation, sowie der Verlauf der ersten Mitosewelle mit den Ergebnissen aus der normalen Leber (FORSGREN; JACKSON; PETERS) zeitlich übereinstimmen.

Die bedeutendste Veränderung der Frühstadien ist der Glykogenschwund 2 Std nach der Hepatektomie. Dieser Befund wurde auch von NOVIKOFF u. POTTER, sowie von ATERMAN (1) und HARKNESS (1) erhoben und kann nicht Folge eines spontanen Rhythmus oder eine unspezifische Reaktion auf Narkose und Laparotomie sein, denn beide Möglichkeiten sind durch die bei den Kontrollen gefundenen Mengen an Glykogen ausgeschlossen.

Der Abbau des Leberglykogens kann Folge einer Ischämie, Anoxie oder der Senkung des Blutzuckerspiegels sein (KEELE u. NEIL). Durch die Hepatektomie wird die gesamte abdominelle Blutversorgung unter neue Bedingungen gestellt.

Der Blutdruck in der Pfortader (GRINDLAY u. BOLLMAN) und dadurch die Durchströmungsgeschwindigkeit der Leber (DANIEL u. PRICHARD), sind nach der Hepatektomie erhöht. Auf diesem Weg wird die Abgabe von Stoffwechselprodukten und wahrscheinlich auch die Aufnahme von Sauerstoff erschwert. Die Bedeutung letzteren Faktors wird durch die Feststellung von ATERMAN (2) unterstrichen, daß die fett- und glykogenfreien Vacuolen in der regenerierenden Leber dieselbe Pathogenese wie die von anoxisch geschädigten Leberzellen erkennen. Aus unserem Material können wir aber nicht schließen, ob der Abbau des Leberglykogens durch einen relativen Sauerstoffmangel oder durch einen Glucosebedarf des gesamten Organismus erfolgte.

Nach Zufuhr von Cl_4C spalten die geschädigten Leberzellen ihre Glykogenreserven (LEDUC u. WILSON). Dabei ist am Anfang kein Unterschied zwischen den später zugrunde gehenden und den nur reversibel geschädigten Leberzellen zu erkennen. Auch in unserem Material ist der Glykogenschwund, der in den Lebern mit einzelnen Zellnekrosen auch noch nach 38 Std deutlich ist, nur durch den weiteren Verlauf als reversibel zu beurteilen. Die übrigen Schwankungen im Bestand an Glykogen sind rhythmische Erscheinungen, der zeitliche Verlauf der Maxima und Minima entspricht dem der normalen Leber [FORSGRÉN; BARNUM u. Mitarb. (2)].

Eine Verfettung der Parenchymzellen in den Frühstadien der Regeneration wurde auch von STOWELL und HARKNESS (1) gefunden. Die Fetttropfen in den Gefäßen, besonders in den Sinusoiden, möchten wir als ein Überangebot von Fett an die Leberzellen ansehen. Dafür spricht auch der Befund, daß besonders die Leberzellen verfettet sind, die in der Nähe dieser intravasculären Fetttropfen liegen. Die Verfettung der regenerierenden Leber nach Teilhepatektomie kommt also durch die Aufnahme eines Überangebotes an Fett aus der Blutbahn zustande. Der Glykogenschwund könnte darauf hinweisen, daß die normale Verarbeitung der aufgenommenen Lipide durch einen relativen Energiemangel erschwert ist. Zur gleichen Zeit, zu der der Gehalt an Glykogen der Leberzellen wieder ansteigt, nimmt die Verfettung ab. Eine direkte Umwandlung der Lipide in Glykogen kommt dabei nicht in Frage (KEELE und NEIL). Nach Angaben von HARKNESS (3) bestehen die Fetttropfen in den Leberzellen vorwiegend aus Neutralfetten. Es wird allgemein angenommen, daß die Verfettung der Leber durch mobilisierte Depotfette zustande kommt (CAMERON). Obwohl diese Auffassung auch in den hier vorliegenden Resultaten sehr wahrscheinlich den Tatsachen entspricht, kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, daß es sich auch teilweise um durch die Nahrung aufgenommene Fette handelt, weil die Tiere während einer kurzen Zeit nach der Operation wieder fraßen.

Veränderungen an den Ribonucleoproteiden der Leberzellen sind unter verschiedenen Bedingungen und Einwirkungen festgestellt worden. Nach Blutentnahme, d.h. während der Restitution der Plasmaalbumine, beobachtete GLINOS (2) eine Umwandlung der basophilen Schollen und Granula in eine diffus verteilte Basophilie. Besonders aber für die regenerierende Leber hat derselbe Autor [GLINOS (1, 2)] wiederholt darauf hingewiesen, daß bei der Ratte schon 30 min nach der Hepatektomie die basophilen Schollen und Granula der Leberzellen aus der Peripherie des Läppchens verschwunden sind und das Cytoplasma dieser Zellen diffus basophil erscheint. Diese Veränderung dehnt sich auf das

ganze Lappchen aus, so daß 8 Std nach der Operation die gesamte Leber nur noch eine diffuse Basophilie zeigt. Die Veränderungen in den centrolobulären Abschnitten sind dabei immer etwas weniger ausgeprägt [GLINOS (1)].

2 Std nach der Operation ist diese von GLINOS beschriebene Veränderung in unseren Versuchstieren deutlich zu erkennen. Eine Reaktion gegenüber der Narkose, Laparotomie und Manipulation an der Leber haben wir durch unsere Kontrollen ausschließen können. Ob aber die Umwandlung der Ribonucleoproteide eine für die Regeneration und die Restitution des Plasmaalbumins spezifische Antwort der Zellen ist, oder ob es sich um eine Reaktion handelt, die als Antwort auf verschiedene Reize hin erfolgt, muß noch weiter untersucht werden. Der schon von GLINOS beobachtete zentripetale Verlauf der Veränderung, der auch in unserem Material verfolgt werden konnte, deutet auf noch nicht genauer untersuchte Zusammenhänge zwischen dieser Veränderung, der DNS-Synthese und den Mitosen, bei denen auch ein derartiger Gradient festgestellt worden ist [OEHLERT, HÄMMERLING u. BÜCHNER; HARKNESS (2); GLINOS (1)]. Es liegt nahe, die beobachteten Veränderungen an den Ribonucleoproteiden als einen Teil der prämitotischen Dedifferenzierung der Leberzellen anzusehen. Nach OEHLERT, KRAMSCH u. BECK erreichen differenzierte Leberzellen erst dann die Fähigkeit zur DNS-Synthese wieder, wenn spezifische cytoplasmatische Strukturen abgebaut worden sind.

1962 kommt BULLOUGH zu dem Schluß, in einem normalen, erwachsenen Säuger seien alle nutritiven Bedingungen, die eine Zelle zur Teilung benötigt, vorhanden. Ein besonderer Vorgang im Sinne einer spezifischen Stimulation käme infolgedessen kaum in Frage. Er vertritt auch weiterhin die Ansicht, daß in dem Beginn der Mitose in erster Linie eine Folge der Verringerung spezifischer mitosehemmender Stoffe zu sehen sei.

Da alle Leberfunktionen rhythmischen Schwankungen unterliegen und auch die Mitosen dieser Regel folgen [HALBERG; JACKSON; JAFFE; BARNUM u. Mitarb. (2); PETERS; BADE], müssen entsprechende Schwankungen in der Konzentration der mitosehemmenden Faktoren angenommen werden (BADE). Diese Schwankungen könnten die Voraussetzung der von BÜNNING festgestellten tagesperiodischen Schwankungen in der „Mitosebereitschaft“ der Zellen im allgemeinen und der von BUCHER u. Mitarb. nachgewiesenen Veränderungen im Kernvolumen der Leberzellen sein. PILGRIM u. Mitarb. haben in verschiedenen Geweben rhythmische Schwankungen der DNS-Synthese nachgewiesen und bestätigen damit die von BARNUM u. Mitarb. (2) berichteten Resultate für die Leber. Aus diesen Feststellungen kann jedoch nicht geschlossen werden, daß die nachgewiesenen Mitoserhythmen eine natürliche Folge der DNS-Synthese seien. Insbesondere für die Leber dürfte diese Annahme nicht zutreffen, weil auch für die Poliploidisierung eine Zunahme der DNS notwendig ist. Auch können von der Zellteilung relativ unabhängige Veränderungen des Gehaltes der Zellkerne an DNS („metabolische DNS“) nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Die Verdoppelung der DNS ist wohl die unbedingte, aber nicht die einzige Voraussetzung für den Beginn der Mitose. Andere Vorgänge, wie der Aufbau eines besonderen Energiereservoirs [SWANN (1)], die Synthese von mitosespezifi-

schen Proteiden [SWANN (1)] und weitere, noch unvollständig bekannte Faktoren sind dazu notwendig.

Es bestehen einige Anhaltspunkte für die Auffassung, daß die Mitosehemmung kein rein cellulärer Vorgang, sondern das Resultat bestimmter, in Zellkomplexen und Geweben herrschender Situationen darstellt. In dieser Hinsicht hat SWANN (2) auf die Bedeutung des Kontaktes der Zellen untereinander hingewiesen.

Auch in den letzten Jahren haben sich unsere Kenntnisse über die Ursache des kompensatorischen Wachstums der Leber nach Teilhepatektomie nicht wesentlich erweitert. Deswegen ist die Feststellung von HARKNESS (3), unsere Unkenntnis auf diesem Gebiet sei noch fast vollständig, weiterhin gültig. Weder endokrine noch hämodynamische Veränderungen oder humorale Faktoren konnten sich bisher als einzig auslösende Faktoren der regenerativen Vorgänge behaupten. 1947 äußerte WEISS die Theorie, die Organe würden im Laufe der Entwicklung in ihrem Wachstum allmählich durch von ihnen selbst produzierte gewebespezifische Faktoren gehemmt. Obwohl derartige Faktoren in verschiedenen Geweben nachgewiesen worden sind (WEISS), ist ein endgültiger Schluß über ihre genauere Bedeutung vorerst noch nicht möglich. Dieser kurze Überblick zeigt, daß alle Faktoren und Mechanismen, denen in verschiedenen Epochen die führende Rolle in der Auslösung des Regenerationsvorganges zugeschrieben wurde, nach und nach an absoluter Bedeutung verloren haben und nun nur noch als Faktoren, die das Wachstum ermöglichen (BRAUER) oder verändern können (WEINBREN), angesehen werden. Infolgedessen ist der Beginn der Zellteilungen als biologisch wichtigstes Phänomen der *p*-Phase (NEEDHAM) nicht die Folge eines einzelnen Vorganges, sondern vielmehr das Ergebnis einer zwangsläufig bedingten Reihenfolge von Einwirkungen und Reaktionen.

Mit unseren Kontrollen können wir nicht beantworten, ob die Glykogenolyse die erste Reaktion auf die Hepatektomie darstellt. Der regelmäßige Auftritt der Veränderung auch bei der Ratte unterstreicht nur die Bedeutung dieser Reaktion. Durch den Ausfall von 60—75 % des Parenchyms ist die restliche Leber zweifellos einer erheblichen Belastung ausgesetzt. Obwohl besonders dieses Organ über sehr große funktionelle Reserven verfügt, dürften diese jedoch nur ausreichen, um die lebenswichtigen Funktionen zu erfüllen. Die Belastung des restlichen Parenchyms wird durch die Aufnahme der erheblichen Fettmengen gesteigert. Der langsame Verlauf der dadurch entstandenen transportativen Verfettung ist auch ein Ausdruck der erheblichen Belastung des Organs, denn normalerweise ist die durch die Nahrung zustandegekommene Verfettung schon spätestens am nächsten Tag, wenn der Glykogengehalt wieder einen Höhepunkt erreicht, rückgängig geworden. Während der zeitliche Verlauf der Veränderungen auch unsere Auffassung der funktionellen Überbelastung bestätigt, beweist die Reversibilität der Veränderungen, daß die Grenze der Reaktionsfähigkeit des Organs dabei nicht überschritten wurde.

Die beobachteten Veränderungen an den Ribonucleoproteiden haben wir als morphologischen Beweis der Dedifferenzierung der Leberzellen angeführt. Aus unseren Ergebnissen geht allerdings nicht deutlich hervor, ob es Folge oder Nebenerscheinung der beobachteten Glykogenolyse ist. Wir möchten auch diese

Veränderungen als eine Folge der funktionellen Belastung ansehen, denn unter ganz anderen Einwirkungen, wie die Verringerung der Konzentration der Plasmaproteide, findet dieselbe Umwandlung der Ribonucleoproteide statt [GLINOS (1)]. In diesem Fall handelt es sich sogar um eine relativ spezifische funktionelle Belastung, denn zumindest die Albumine des Plasmas werden fast ausschließlich in der Leber gebildet (KEELE u. NEIL). Von all den beobachteten Veränderungen ist diese diffuse Umwandlung der Ribonucleoproteide noch in relativ späten Phasen anzutreffen, wenn Glykogen und Fett in normalen Mengen vorhanden sind. In Lebern mit Nekrosen einzelner Parenchymzellen ist sie noch ausgeprägter und hält länger an. Wir sehen darin eine länger anhaltende prämitotische Differenzierung der Leberzellen, denn in diesen Lebern mit einzelnen Nekrosen ist die Mitoserate noch länger erhöht als bei Tieren mit einem normalen Verlauf der Regeneration (BADE).

Zahlreiche Untersuchungen an der normalen Leber haben bewiesen, daß die Auffassung von FORSGREN, die Leber führe verschiedene Funktionen zu verschiedenen Tageszeiten durch, vollständig gerechtfertigt ist. Deswegen nehmen wir auch an, daß die mitosehemmenden Stoffe derartigen Schwankungen unterliegen (BADE). Da während der von uns hier untersuchten Periode, kurz nach der Hepatektomie, ausreichende Beweise für eine andauernde funktionelle Belastung der restlichen Leber vorliegen, und die Leber ihre verschiedenen Funktionen nicht zur gleichen Zeit durchführen kann, glauben wir zu der Annahme berechtigt zu sein, die Konzentration der mitosehemmenden Stoffe nehme infolge unausreichender Produktion während der *r*-Phase (NEEDHAM) der Regeneration, d.h. vor der 30. Std nach der Operation schnell ab. In welcher Phase der Vorbereitung zur Mitose diese Stoffe eingreifen müssen, um sie verhindern zu können, kann mit diesen Resultaten nicht beantwortet werden. Es bestehen aber Beweise dafür, daß die Verabreichung eine Hemmung der Mitosen dann erzeugt, wenn sie 18 Std vor der entsprechenden Mitosewelle erfolgt (BADE).

Zusammenfassung

63 männlichen Mäusen wurden zwei Drittel ihrer Leber entnommen. 2 Std nach der Hepatektomie sind sämtliche Leberzellen frei von *Glykogen*, nach 26 Std enthalten sie wieder reichlich Glykogen. *Fetttröpfchen* in den Gefäßen 2, 5 und 10 Std nach der Hepatektomie deuten auf ein Überangebot von Fett hin. Es kommt zu einer transportativen Verfettung der Leberzellen, die nach 22 Std wieder zurückgeht. Die *Ribonucleoproteide* der Leberzellen der Läppchenperipherie sind schon 2 Std nach der Hepatektomie diffus auf das gesamte Cytoplasma verteilt. Nach 42 Std ist die granuläre Anordnung der Ribonucleoproteide wieder in allen Läppchenabschnitten deutlich. Der Höhepunkt der ersten *Mitosewelle* wird zwischen 42 und 46 Std nach der Hepatektomie erreicht.

Glykogenschwund, Ansammlung von Fett in den Gefäßen und Verfettung der Leberzellen sind Ausdruck einer funktionellen Überbelastung des restlichen Organs. Wir nehmen an, daß es durch unausreichende Produktion zu einer Verringerung der Konzentration mitosehemmender Stoffe kommt. Die beobachteten Veränderungen müssen von den Leberzellen durchlaufen werden, damit die *p*-Phase der Regeneration in der restlichen Leber einsetzen kann.

The Early Stages of Regeneration of the Liver after Partial Hepatectomy and the Causes for Compensatory Growth

Summary

Sixty-three mice were subjected to partial hepatectomy. Two hours after operation all liver cells are glycogen-free. *Glycogen* is again present 26 hours after hepatectomy. Different sized fat droplets in the vessels of the remaining liver two, five and ten hours after hepatectomy, demonstrate that *fatty change* in regenerating liver is due to the uptake of a large quantity of circulating lipid. Two hours after operation the *ribonucleoprotein* associated basophilic bodies of the liver cells have been changed into a diffuse basophilic staining of the cytoplasm. From 42 hours after the operation, normal distribution of the basophilic bodies is again evident. The first *mitotic peak* occurs between 42 and 46 hours after partial hepatectomy.

Loss of glycogen, fatty change and changes in cytoplasmic ribonucleoproteins are considered as manifestations of a functional overload of the remaining liver. It is postulated that as a consequence of this excessive functional demand the production of specific mitotic inhibitors is lowered, leading in this way to compensatory growth.

Literatur

- ATERMAN, K.: (1) Some local factors in the restoration of the rat's liver after partial hepatectomy. *Arch. Path.* **53**, 197—208 (1952).
 — (2) Some local factors in the restoration of the rat's liver after partial hepatectomy. *Arch. Path.* **53**, 209—216 (1952).
 BADE, E. G.: Tesis; Facultad de Ciencias Médicas Mendoza 1962.
 —, and J. M. ECHAVE LLANOS: Variation in the mitotic activity of the liver during the second day of posthepatectomy regeneration. *Naturwissenschaften* **50**, 693—694 (1963).
 BARNUM, C. P., C. D. JARDETZKY and F. HALBERG: (1) Nucleic acid synthesis in regenerating liver. *Tex. Rep. Biol. Med.* **15**, 134—147 (1957).
 — — — (2) Time relations among metabolic and morphologic 24-hour changes in mouse liver. *Amer. J. Physiol.* **195**, 301—310 (1958).
 BRAUER, R. W.: Liver circulation and liver function. *Physiol. Rev.* **43**, 115—213 (1963).
 BRUES, A. M., D. R. DRURY, and M. C. BRUES: A quantitative study of cell growth in regenerating liver. *Arch. Path.* **22**, 658—673 (1936).
 BUCHER, O., I. KOLB et P. IVHASZ: L'influence du rythme diurne sur l'état fonctionnel des reins et du foie. *Med. exp. (Basel)* **5**, 42—48 (1961).
 BÜNNING, E.: *Die physiologische Uhr*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.
 BULLOUGH, W. S.: Control of mitotic activity in adult mammalian tissues. *Biol. Rev.* **37**, 307—342 (1962).
 CAMERON, G. R.: *Pathology of the cell*. Edinburgh: Oliver and Boyd 1952).
 DANIEL, P. M., and M. M. L. PRICHARD: Variations in the circulation of the portal venous blood within the liver. *J. Physiol. (Lond.)* **114**, 521—537 (1951).
 FORSGREN, E.: Über Glykogen- und Gallebildung in der Leber. *Skand. Arch. Physiol.* **55**, 144—161 (1929).
 GLINOS, A. D.: (1) The mechanism of liver growth and regeneration. In: *A Symposium on the chemical basis of development* (W. E. McELROY and B. GLASS, eds.). Baltimore: Johns Hopkins Press 1958.
 — (2) Environmental feedback control of cell division. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **90**, 592—602 (1960).
 GRINDLAY, J. H., and J. L. BOLLMAN: Regeneration of the liver in the dog after partial hepatectomy. *Surg. Gynec. Obstet.* **94**, 491—496 (1952).
 HALBERG, F.: Young NH-mice for the study of mitosis in intact liver. *Experientia (Basel)* **13**, 502—503 (1957).

- HARKNESS, R. D.: (1) Changes in the liver of the rat after partial hepatectomy. *J. Physiol. (Lond.)* **117**, 267—277 (1952).
- (2) The spatial distribution of dividing cells in the liver of the rat after partial hepatectomy. *J. Physiol. (Lond.)* **116**, 373—379 (1952).
- (3) Regeneration of liver. *Brit. med. Bull.* **13**, 87—93 (1957).
- JACKSON, B.: Time-associated variations of mitotic activity in livers of young rats. *Anat. Rec.* **134**, 365—377 (1959).
- JAFFE, J. J.: Diurnal mitotic periodicity in regenerating rat liver. *Anat. Rec.* **120**, 935—954 (1954).
- KEELE, C. A., and E. NEIL: *Samson Wright's applied physiology*. London: Oxford University Press 1962.
- LEDUC, E. H., and J. W. WILSON: Injury to liver cells in carbon tetrachloride poisoning. *Arch. Path.* **65**, 147—157 (1958).
- MACDONALD, R. A., A. E. ROGERS, and G. PECHET: Regeneration of the liver. Relation of regenerative response to size of partial hepatectomy. *Lab. Invest.* **11**, 544—548 (1962).
- MARSHAK, A., and R. L. BYRON: The use of regenerating liver as a method of assay. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **59**, 200—202 (1945).
- MEISTER, V. v.: *Recreation des Lebergewebes nach Abtragung ganzer Leberlappen*. *Beitr. path. Anat.* **15**, 1—116 (1894).
- NEEDHAM, A. E.: *Regeneration and wound-healing*. London: Methuen 1952.
- NOVICKOFF, A. B., and V. R. POTTER: Biochemical studies on regenerating liver. *J. biol. Chem.* **173**, 223—238 (1948).
- OEHLERT, W., W. HÄMMERLING u. F. BÜCHNER: Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie. *Beitr. path. Anat.* **126**, 91—112 (1962).
- D. KRAMSCH u. V. BECK: Der Einfluß des Abbaues cytoplasmischer Strukturen auf die DNS-Neubildung bei der experimentellen Äthioninvergiftung. *Naturwissenschaften* **50**, 307—308 (1963).
- PETERS, R.: Die Mitosehäufigkeit in der Rattenleber in Abhängigkeit von der Tageszeit, dem Gewicht der Tiere und der Ernährung. *Z. Naturforsch.* **17b**, 164—168 (1962).
- PILGRIM, C., W. ERB, and W. MAURER: Diurnal fluctuations in the numbers of DNA synthesising nuclei in various mouse tissues. *Nature (Lond.)* **199**, 863—864 (1963).
- PODWYSSOZKI, W. v.: Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe. *Beitr. path. Anat.* **1**, 259—360 (1886).
- PONFICK, E.: Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Leber. *Virchows Arch. path. Anat.* **118**, 209—249 (1889).
- Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Leber. *Virchows Arch. path. Anat.* **138**, Suppl., 81—117 (1895).
- STOWELL, R. E.: Nucleic acids and cytologic changes in regenerating rat liver. *Arch. Path.* **46**, 164—178 (1948).
- SWANN, M. M.: (1) The control of cell division: A review. *Cancer Res.* **17**, 727—757 (1957).
- (2) The control of cell division: A review. *Cancer Res.* **18**, 1118—1166 (1958).
- WEINBREN, K.: Regeneration of the liver. *Gastroenterology* **37**, 657—668 (1959).
- WEISS, P.: Specificity in growth control. In: *Biological specificity and growth* (E. G. BUTLER, ed.). Princeton: University Press 1955.
- WILSON, M. E., R. E. STOWELL, H. O. YOKOYAMA, and K. K. TSUBOI: Cytological changes in regenerating mouse liver. *Cancer Res.* **13**, 86—92 (1953).

Dr. E. G. BADE,

Pathologisches Institut der Medizinischen Akademie,
4 Düsseldorf, Moorenstraße

Ab Juli: Instituto de Patología General y Experimental,
Facultad de Ciencias Médicas, Mendoza, Argentina