

Aus dem Pathologischen Institut, Abteilung II, der Universität zu Helsinki
(Direktor: Prof. Dr. H. TEIR)

Die regenerative Reaktion auf einmalige Kohlenstofftetrachloridverabreichung in den verschiedenen Geweben*

Von

A. LAHTIHARJU

(Eingegangen am 13. März 1964)

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, unter Verwendung von H^3 -Thymidin die regenerative Reaktion verschiedener Gewebe nach einmaliger Kohlenstofftetrachloridverabreichung zu bestimmen.

Material und Methoden

Versuchstiere waren insgesamt 15 zwei Monate alte weiße männliche Mäuse nichthomologer Stämme mit einem Durchschnittsgewicht von 30 g. Wasser wie Futter der üblichen käuflichen Mischung wurden ad libitum gegeben. Das Kohlenstofftetrachlorid wurde den Versuchstieren in Dosen von $0,02 \text{ cm}^3$ (32 mg) intraperitoneal in einer Paraffinlösung von 1:5 verabreicht. Die Kontrolltiere erhielten die entsprechende Menge reines Paraffinöl. Die Dekapitation wurde 1, 2 und 4 Tage nach der Injektion zur gleichen Tageszeit vorgenommen. 1 Std vor der Dekapitation wurde jedem Tier intraperitoneal $1 \mu\text{C/g}$ Schwarzes H^3 -Thymidin injiziert, das die spezifische Aktivität 3,0 C/mmol hat. Die Proben wurden der Leber, der Niere sowie dem Drüsen- und dem Vordermagen entnommen, in 4%igem Formalin fixiert und in 4 μ dicke Schnitte zerlegt. Die Autoradiogramme wurden unter Verwendung von Ilford K 5-Emulsion und einer Belichtungszeit von 10 Tagen fertiggestellt, mit Hämatoxylin-Eosin eingefärbt und der prozentuale Anteil der markierten Zellen sowie der Mitosen (Thymidin- und Mitoseindex) pro 2000 Zellen in Ölimmersion gezählt. Die statistische Signifikanz wurde nach STUDENT'S *t*-Test bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse gehen aus der Tabelle hervor. Das Maximum des Thymidin- und des Mitoseindexes der Leberzellen scheint auf den 2. Tag zu fallen und entspricht somit früheren Ergebnissen (POST et al., LEEVY et al., LEEVY). Was den

Tabelle. Thymidin- und Mitoseindexe \pm mittlerer Fehler in den verschiedenen Geweben nach 1, 2 und 4 Tagen nach einmaliger Kohlenstofftetrachloridgebung

	Kontrolle	CCl ₄ 1 Tag	CCl ₄ 2 Tage	CCl ₄ 4 Tage
	Anzahl der Tiere			
	4	4	4	3
<i>Thymidinindexe:</i>				
a) Hepatocyten	$0,21 \pm 0,09$	$0,55 \pm 0,15$	$18,52 \pm 3,55$	$3,77 \pm 2,09$
b) Mesenchymzellen der Leber .	$1,34 \pm 0,34$	$1,36 \pm 0,30$	$9,60 \pm 0,79$	$5,90 \pm 2,62$
c) Tubuluszellen der Niere . .	$0,34 \pm 0,12$	$0,23 \pm 0,14$	$2,94 \pm 1,96$	$0,70 \pm 0,45$
d) Vordermagenzellen	$8,58 \pm 0,93$	$3,35 \pm 0,73$	$11,20 \pm 1,78$	$5,48 \pm 1,06$
e) Drüsenmagenzellen.	$9,73 \pm 0,46$	$7,68 \pm 0,93$	$6,45 \pm 0,61$	$6,43 \pm 1,01$
<i>Mitoseindexe:</i>				
Hepatocyten	0	$0,04 \pm 0,02$	$2,15 \pm 1,03$	$0,27 \pm 0,25$

* Diese Untersuchung wurde unterstützt durch Stipendien aus dem Damon Runyon-Fonds, der Siegrid Juséliusschen Stiftung und der Staatlichen Kommission für die medizinischen Wissenschaften.

Thymidinindex betrifft, so war der Unterschied gegenüber dem Kontrollmaterial statistisch signifikant ($P < 0,01$). Der Thymidinindex der Mesenchymzellen entspricht nach 1 Tag noch demjenigen der Kontrollen, nach 2 Tagen erreicht er mit $9,6 \pm 0,79$ einen Höchststand und fällt am 4. Tage auf $5,90 \pm 2,62$. Der Thymidinindex der Mesenchymzellen erreicht nie die hohen Werte des Thymidin-indexes der Hepatocyten, liegt aber am 4. Tage höher als bei den Parenchymzellen. Dieses Ergebnis weist auf eine langsamere Reaktion der Mesenchymzellen hin und entspricht somit den Erfahrungen bei partieller Hepatektomie (GRISHAM). In den Nierentubuluszellen ist nach 2 Tagen ein deutlich gestiegener Thymidinindex feststellbar, jedoch erlangt der Unterschied mit den Kontrollen wegen der hohen Abweichungen keine Signifikanz. An der Magenschleimhaut zeigt sich ein Rückgang des Thymidinindexes, der nach 1 Tag im Vordermagen signifikant ist ($P < 0,01$), im Drüsennmagen 2 Tage ($P < 0,01$) und 4 Tage ($P < 0,05$) nach der Injektion. Beachtenswert ist der hohe Thymidinindex des Vordermagens 2 Tage nach der Injektion, d. h. gleichzeitig mit der maximalen Regeneration bei Leber und Nieren. Wegen der Abweichungen war die Differenz jedoch nicht signifikant.

Die regenerative Reaktion in Leber und Nieren folgt der durch Kohlenstoff-tetrachlorid verursachten Nekrose. Degenerative Veränderungen des Ventrikulum konnten nicht nachgewiesen werden und der Rückgang des Thymidin-indexes dürfte hier auf der Verschlechterung des Allgemeinzustandes beruhen. Die letzten Forschungen haben die Möglichkeiten eines humoralen Faktors in der auf Kohlenstofftetrachloridnekrose folgenden Regeneration gezeigt (LEEVY et al., LEEVY). Eine interessante Frage stellt die organspezifische Regeneration dar. Dieser Faktor könnte Berührungspunkte haben mit dem im autolytischen Lebergewebe auftretenden Faktor, der spezifisch die Regeneration der Hepatocyten stimuliert (TEIR et al., LAHTIHARJU, TEIR, LAHTIHARJU et al.).

Zusammenfassung

Unter Verwendung von H^3 -Thymidin wurde 2 Tage nach einmaliger Injektion von Kohlenstofftetrachlorid an Mäusen autoradiographisch eine statistisch signifikante regenerative Reaktion bei den Leberzellen und den Mesenchymzellen der Leber sowie eine nicht signifikante Reaktion bei den Nierentubuluszellen und den Epithelzellen des Vormagens festgestellt. Ein signifikanter Rückgang des Thymidinindexes trat im Vormagen 1 Tag, im Drüsennmagen sowohl 2 wie 4 Tage nach der Injektion auf.

A Regenerative Response in Various Tissues after Injecting a Single Dose of Carbon Tetrachloride

Summary

Autoradiographic studies using H_3 -thymidine were carried out in mice two days after they had been injected with a single dose of carbon tetrachloride. A statistically significant regeneration was detected in the hepatic parenchymal and mesenchymal cells, but the renal tubular cells and the epithelial cells of the forestomach showed a non-significant regenerative response. A significant decrease in the thymidine indices occurred in the forestomach 1 day, in the glandular stomach 2 and 4 days after the injection.

Literatur

- GRISHAM, J. W.: A morphologic study of Deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver. *Cancer Res.* **22**, 842—849 (1962).
- LAHTIHARJU, A.: Influence of autolytic and necrotic liver tissue on liver regeneration in rat. *Acta path. microbiol. scand., Suppl.* **150**, 1—99 (1961).
- , and H. TEIR: Specific increase in the utilisation of ^3H -thymidine by liver cells in hepatectomized mice following injection of autolytic liver tissue. *Exp. Cell Res.* **34**, 205—207 (1964).
- LEEVY, C. M.: Observations on the effect of drug-induced injury on hepatic DNA synthesis in experimental animals and man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **104**, 939—953 (1963).
- , W. GEORGE, M. DEYSINE, and A. M. GNASSI: DNA synthesis in hepatotoxic liver injury. *Exp. Molecular Path.* **1**, 457—469 (1962).
- POST, J., A. KLEIN, and J. HOFFMAN: Responses of the liver to injury. Effects of age upon the healing pattern after acute carbon tetrachloride poisoning. *Arch. Path.* **70**, 314—321 (1960).
- TEIR, H.: Wachstumsfördernde Wirkung autolytischen und nekrotischen Gewebes. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **45**. Tagg **1961**, 150—154.
- , and A. LAHTIHARJU: Effects of necrotic liver tissue on regeneration in hepatectomized rats. *Exp. Cell Res.* **24**, 424—428 (1961).

Dr. A. LAHTIHARJU,
Pathologisches Institut, Abteilung II, der Universität,
Helsinki (Finnland), Snellmaninkatu 10