

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Verhalten der Hauptstückepithelien beim experimentellen Niereninfarkt der Ratte

V. TOTOVIĆ

Pathologisches Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. P. GEDIGK)

Eingegangen am 7. August 1965

Während über Veränderungen der Hauptstückepithelien bei der Entwicklung eines ischämischen Niereninfarktes zahlreiche lichtmikroskopische und histochemische (Literatur bei HOLLE u. Mitarb., 1955, sowie RUDOLPH und SCHOLL, 1958) Befunde vorliegen, wurden elektronenmikroskopisch bisher nur Untersuchungen bei einer unvollständigen Drosselung des arteriellen Zuflusses (HATT, DVOJAKOVIC und CORNET, 1962) oder bei einer temporären Nierenischämie (ROTTNER, LAPP und ZIMMERMANN, 1962; THOENES, 1962, 1964) durchgeführt. Das Verhalten der einzelnen Zellorganellen bei einer arteriellen Dauerunterbindung, also bei der Entstehung eines Niereninfarktes, ist deshalb noch weitgehend unbekannt.

Zur Klärung dieser Frage unterbanden wir bei Ratten den caudalen Ast der Arteria renalis sinistra und untersuchten in den entstandenen Infarkten in verschiedenen Zeitabständen die Hauptstückepithelien, die erfahrungsgemäß auf Schädigungen besonders stark und früh reagieren.

Material und Methodik

Bei 60 etwa 200 g schweren Wistar-Ratten wurde unter Beatmung mit einem Äther-Sauerstoff-Gemisch nach einer Dekapsulation der Niere und des Nierenhilus der caudale Ast der A. renalis sinistra mit einem Seidenfaden unterbunden. Je drei Tiere töteten wir 5, 10, 15, 20 und 30 min, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 Std sowie 1, 2, 3 und 5 Tage nach der Operation durch Nackenschlag. Für elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden jeweils mehrere Gewebsstücke der Nierenrinde und des Markes aus dem Versorgungsgebiet des unterbundenen Arterienastes lebensfrisch in gepufferter isotonischer Osmiumsäure-Lösung nach CAULFIELD fixiert. Zur Schnittherstellung des in Vestopal W eingebetteten Materials verwendeten wir ein Porter-Blum-Ultramikrotom. Die Kontrastierung der Schnitte erfolgte z. T. mit Uranylacetat und z. T. mit Bleihydroxyd. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen nahmen wir mit einem Siemens-Elmiskop I vor. — Das restliche Gewebe wurde für lichtmikroskopische Kontrolluntersuchungen verwendet.

Untersuchungsergebnisse

Entsprechend der Größe des Versorgungsgebietes des unterbundenen Arterienastes erstreckten sich die Infarkte über ein Drittel bis zwei Drittel der Niere. Sie waren scharf vom gesunden Gewebe abgegrenzt und wölbten sich in den ersten 10—12 Std an der Nierenoberfläche vor. Später bildete sich allmählich eine flache Einsenkung.

1. Lichtmikroskopische Befunde

Histologisch konnten frühestens 60 min nach der Unterbindung im Infarktbereich sichere Veränderungen an den Hauptstückepithelien festgestellt werden. Die Tubuli ließen eine geringe Erweiterung der Lichtungen erkennen, in denen gelegentlich ein teils scholliges und teils feinfädiges eosinophiles Material lag. Das Cytoplasma der geschwollenen Zellen war blaß und mitunter vacuolisiert; ab und zu enthielt es vereinzelte hyaline Tropfen. Mit der PAS- und

Trichrom-Färbung nach MASSON stellte sich häufig ein partieller Verlust des Bürstensaumes dar. Von diesen Veränderungen wurden in den nächsten Stunden immer mehr Epithelien erfaßt, wobei gleichzeitig ein Schwund der basalen Stäbchenstruktur zu beobachten war. 3—4 Std nach dem Versuchsbeginn ließen sich vornehmlich an der Infarktperipherie, gelegentlich aber auch im Zentrum, einzelne und in Gruppen liegende Epithelzellen darstellen, die ein verdichtetes, stark eosinophiles Cytoplasma und pyknotische Kerne besaßen. Nach 5—6 Std war es bereits zu einer Nekrose zahlreicher Hauptstückepithelien gekommen, die mit einem Zerfall und einer Auflösung der Zellen einherging; und nach 8—12 Std war der Zelluntergang im Infarktbereich nahezu vollständig. 24 Std nach der Arterienunterbindung waren die Tubuli stark deformiert und wurden nur noch von einem mehr oder weniger eosinophilen, kernlosen Detritus ausgefüllt. Ihre Grenzen waren dann lediglich durch die noch verhältnismäßig gut anfärbbare peritubuläre Basalmembran erkennbar, die selbst nach 5 Tagen noch erhalten blieb.

2. Elektronenmikroskopische Befunde

In Übereinstimmung mit den lichtmikroskopischen Untersuchungen erwiesen sich die hochdifferenzierten *Hauptstückepithelien* auch elektronenmikroskopisch als die empfindlichsten Abschnitte des Nephrons. So konnten hier in einigen Zellen schon 10—20 min nach der Arterienunterbindung erste Zeichen einer Schädigung beobachtet werden. Obwohl die Zahl der betroffenen Zellen in den nächsten 30—60 min schnell zunahm, waren die regressiven Veränderungen zunächst nicht diffus ausgebreitet. Das Ausmaß der Schädigung unterschied sich nicht nur von Tubulus zu Tubulus, sondern sogar von Zelle zu Zelle innerhalb eines Tubulusquerschnittes.

Schon kurze Zeit nach dem Versuchsbeginn ließen sich zwei verschiedene Typen des Zellunterganges voneinander abgrenzen. Meistens ging die Nekrobiose mit einem Zellhydrops einher und führte zu einer Cytolyse (A). In einigen Zellen waren die regressiven Veränderungen dagegen durch eine Verdichtung des Grundplasmas und der Zellorganellen gekennzeichnet (B).

A. *Hydropsischer Typ der Zellnekrose*. Bei dieser Form wird die Nekrose durch einen Hydrops des Grundplasmas sowie durch eine Schwellung der Zellorganellen eingeleitet. Als Folge einer ödematösen Auflockerung im Bereich des apikalen Zellpoles traten bereits nach 20—30 min erhebliche Unregelmäßigkeiten am *Bürstensaum* auf. Die normalerweise schmalen, stäbchenförmigen Mikrovilli wurden kolbig oder blasig aufgetrieben und verkürzt (Abb. 1). Durch den gleichzeitigen Kollaps anderer Mikrovilli und die Zusammenlagerung ihrer Grenzmembranen entstanden daneben lamellär geschichtete Strukturen, die mitunter zur Ausbildung von Myelinfiguren führten (Abb. 1). Bei der Kombination dieser Umwandlungsformen konnte der Bürstensaum eine überaus bizarre Gestalt annehmen. Die Abstoßung mehr oder weniger geschwollener Mikrovilli führte stellenweise zu einem partiellen oder völligen Schwund des Bürstensaumes.

In der Tubuluslichtung fanden sich häufig verhältnismäßig große, dicht gelagerte, von einer einfachen Membran begrenzte *Blasen* (Abb. 2), die ein feinflockiges Material mit Gruppen von freien Ribosomen, Membranprofilen des endoplasmatischen Reticulums, vereinzelten Golgi-Vacuolen und gelegentlich sogar Mitochondrien einschlossen. Bei einer geeigneten Schnittrichtung ließ sich manchmal — allerdings sehr selten — eine schmale cytoplasmatische Verbindung dieser Blasen zu dem apikalen Zellpol nachweisen. Nicht selten wurden stark

geschwollene apikale Zellpole hernienförmig in die Lichtung ausgestülpt. Durch eine Kontinuitätsunterbrechung der gedehnten und abgeflachten apikalen Zellmembran kam es gelegentlich bereits in frühesten Versuchsstadien zu einer Entleerung des Zellinhaltes in die Tubuluslichtung, womit der Zelltod unter dem Bild einer Cytolyse eingeleitet wurde. Das zunehmende Ödem des Grundplasmas war aber nicht nur auf die apikalen Zellabschnitte beschränkt; es erstreckte sich über den gesamten Zelleib (Abb. 3) und führte oft zur Abflachung der basalen Zellmembraneinfaltungen. Dadurch kam es zu einer Auseinanderdrängung und gleichmäßigen Verteilung der normalerweise in basalen Cytoplasmafächern gelegenen Mitochondrien.

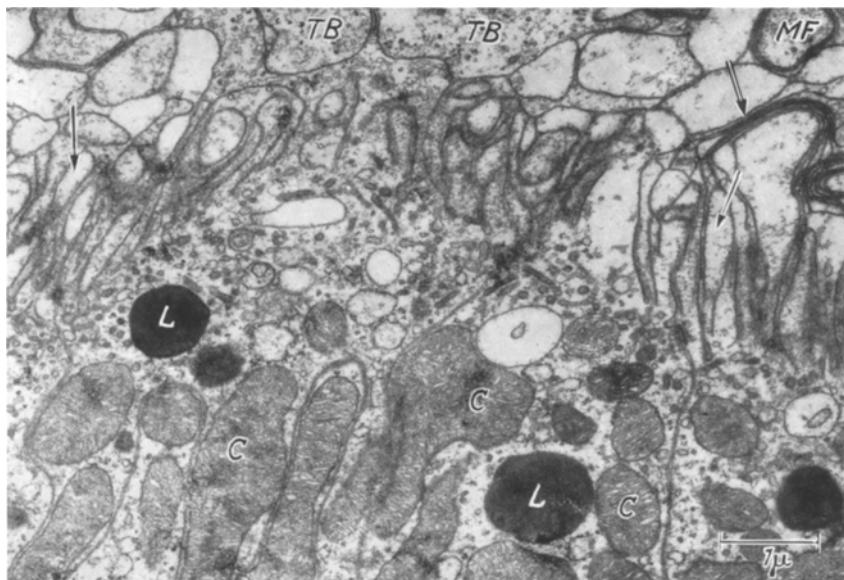


Abb. 1. Apikale Anteile von Hauptstückepithelien der Ratteniere nach 30 min Ischämie. Kolbige Auftreibungen der Mikrovilli (↗). Zusammenlagerung von Grenzmembranen der kollabierten Mikrovilli (⇒) mit Ausbildung lamellar geschichteter Körper (MF). Beginnende Schwellung der Mitochondrien vom Crista-Typ (C). Ange schnittene tubulocelluläre Blasen in der Tubuluslichtung (TB). L Lysosomen. Vergrößerung 13250fach

Veränderungen der *Mitochondrien* stellten einen konstanten Frühbefund dar. Bereits 10—15 min nach der Arterienunterbindung zeigten die Mitochondrien in den hydropischen Hauptstückepithelien eine rasch zunehmende Schwellung. Dabei ließen sich bei unseren Versuchen drei verschiedene Typen der Mitochondrienschwellung voneinander abgrenzen, die wir in Anlehnung an THOENES sowie VOGELL und KLINGENBERG als Matrix-, Crista- und Misch-Typ bezeichnen möchten. Am häufigsten fand sich der sog. *Matrix-Typ* der Mitochondrienschwellung (Abb. 3, 5, 8, 9). Er war durch einen frühen Schwund der Mitochondriengranula, einer Aufhellung der Matrix, eine Reduktion und Fragmentierung der Cristae sowie eine erhebliche Vergrößerung und Abrundung des Mitochondrions gekennzeichnet. Selbst bei hochgradiger Schwellung waren die intracristalen Spalträume kaum erweitert (Abb. 3, 9). Etwas seltener trat der sog. *Crista-Typ* auf (Abb. 3). Die Schwellung war hier auf die Cristae mitochondriales beschränkt. Die intracristalen Spalträume zeigten diffuse oder kolbenförmige, optisch „leere“ Auf-

reibungen, wobei die Matrix in der Regel verdichtet war. Das Mitochondrion als Ganzes war zwar vergrößert, diese Vergrößerung erreichte aber nie die Ausmaße des Matrix-Typen. Während bei der ersten Form eine sphärische Transformation vorherrschte, besaßen die Mitochondrien des Crista-Typen eine längliche oder unregelmäßige Gestalt. Die mitunter an umschriebenen Stellen ausgebuchteten

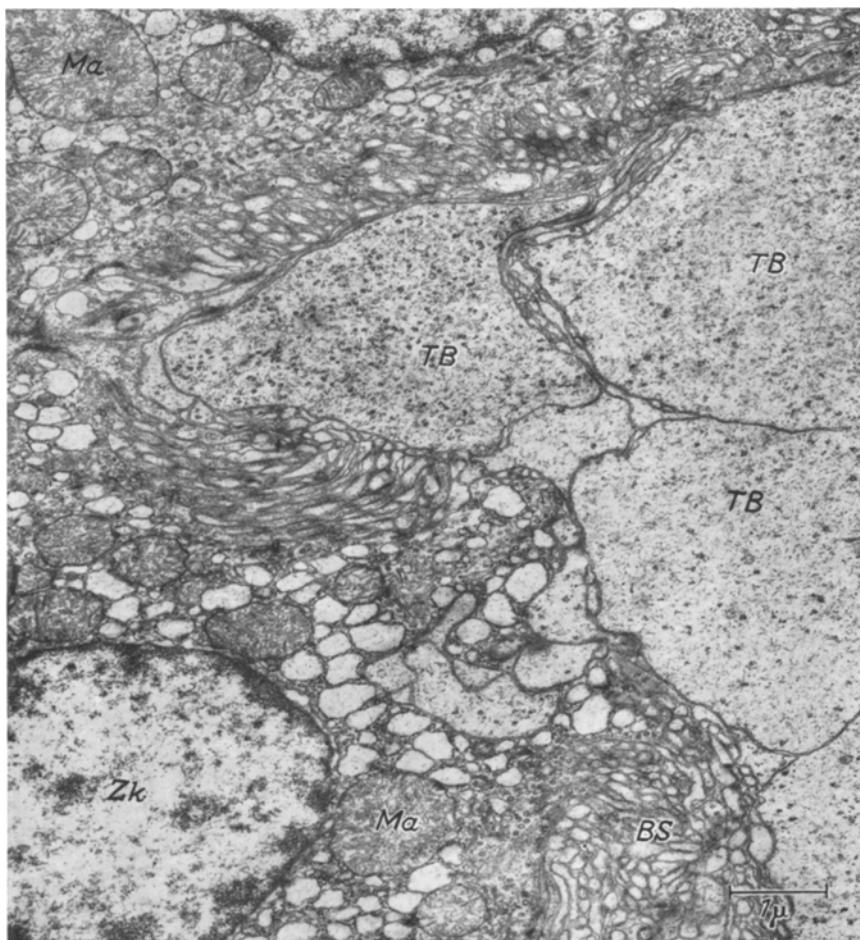


Abb. 2. Sog. tubulocelluläre Blasen (TB) in der Lichtung eines Hauptstückes der Rattenniere nach 30 min Ischämie. In ihrem feinflockigen Inhalt zahlreiche in Gruppen angeordnete Ribosomen. Unregelmäßigkeiten im Bereich des Bürstensaumes (BS) mit kolbigen Aufreibungen der Mikrovilli. Beginnende Mitochondrienschwellung vom Matrix-Typ (Ma). ZK Zellkern. Vergrößerung 12000fach

Außenmembranen waren gelegentlich unterbrochen, so daß die erweiterten Spalten der Cristae mit der Umgebung in direkter Verbindung zu stehen schienen. Schließlich traf man in den geschädigten Zellen eine Mitochondrienschwellung, die offenbar eine Übergangsform der beiden ersten Typen darstellte und die somit als *Misch-Typ* aufzufassen war. Geschwollene Mitochondrien vom *Misch-Typ* waren deutlich vergrößert und besaßen eine rundliche bis ovale Gestalt. Sie zeigten sowohl eine Aufhellung der Matrix als auch vacuolenartige Aufreibungen der Crista-Spalten (Abb. 6c und d).

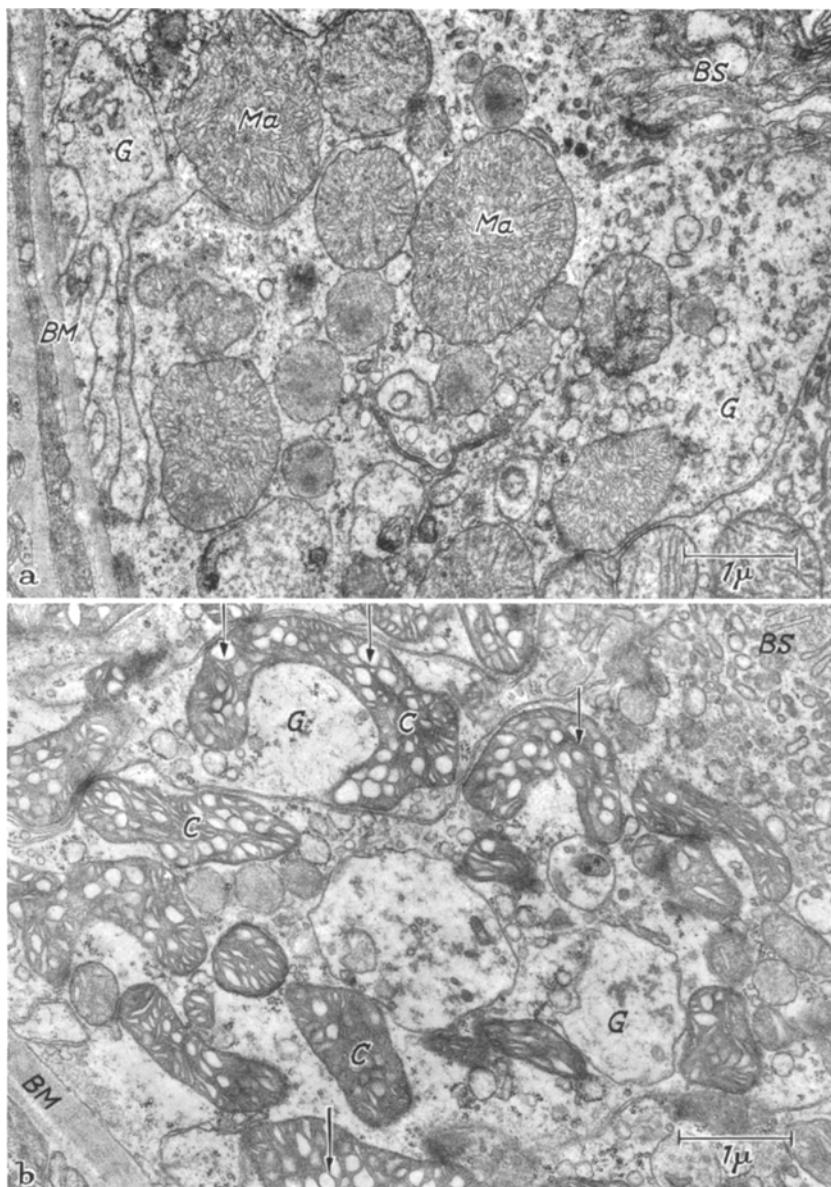


Abb. 3a u. b. Ödematöse Auflockerung des Grundplasmas (*G*) sowie Mitochondrienschwellung vom Matrix- (*Ma*) und vom Crista-Typ (*C*) in Hauptstückepithelien der Rattenniere: a nach 30 min, b nach 2 Std Ischämie. *BS* Bürstensaum. *BM* Peritubuläre Basalmembran. Der Pfeil zeigt vacuolig aufgetriebene intracristale Spalträume. Vergrößerung 15000fach

Während in den ersten Stunden nach der Unterbindung in den hydropischen Zellen stark geschwollene Mitochondrien vom Matrix-Typ meist dicht nebeneinander lagen, so daß manchmal fast der Eindruck entstand, ob der Zellhydrops fast ausschließlich auf die Mitochondrien beschränkt wäre, waren die geschwollenen Mitochondrien vom Crista-Typ überwiegend locker in einem stark ödematösen

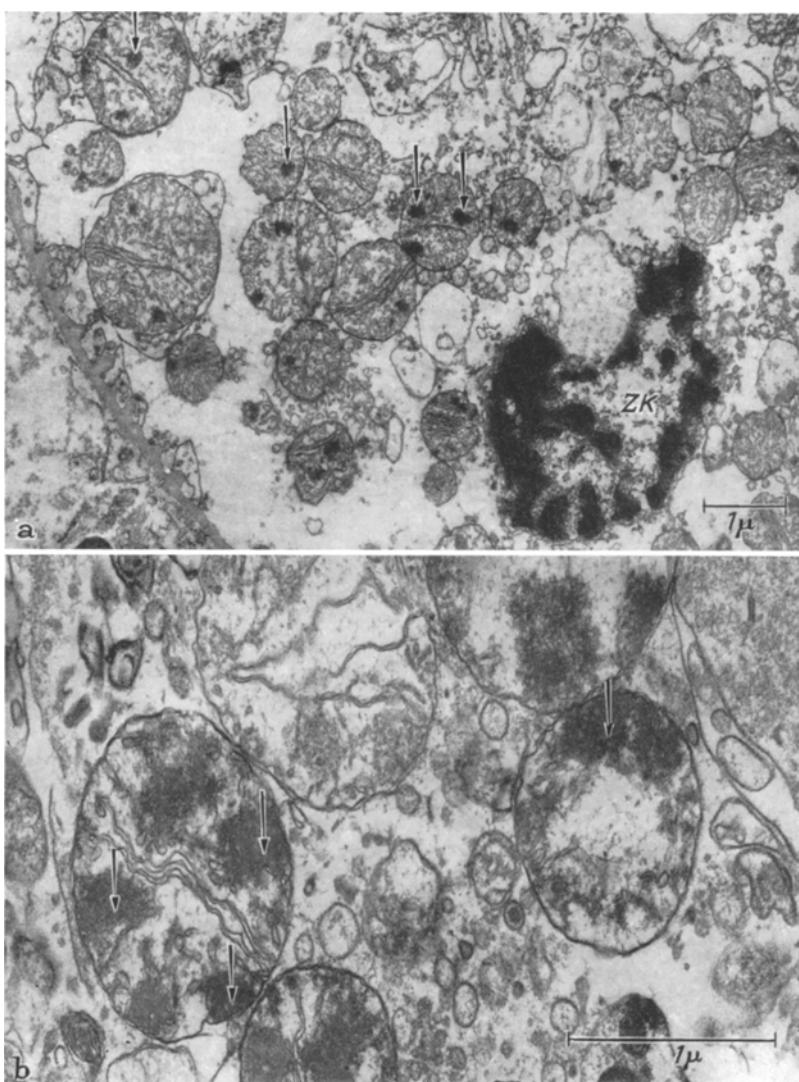


Abb. 4a u. b. Dichte osmiophile Körper (\nearrow) in regressiv veränderten Mitochondrien. a In einer nekrotischen Hauptstückepithelzelle 8 Std nach der Arterienligatur; ZK Zellkern mit klumpiger Entmischung des Karyoplasmas. Vergrößerung 10000fach. b Im nekrotischen Detritus in der Tubuluslichtung in einem 5 Tage alten Niereninfarkt. Vergrößerung 28000fach

Grundplasma angeordnet (Abb. 3b). Nach 3—4 Std erreichte die Mitochondrienschwellung in zahlreichen Hauptstückepithelien einen gewissen Höhepunkt. Dabei konnten die Mitochondrien durch eine völlige Destruktion der Cristae und der Innenmembran in optisch leere Vacuolen umgewandelt werden.

Zum gleichen Zeitpunkt traten mitunter in den geschwollenen Mitochondrien vom Matrix- und Misch-Typ eigentümliche 200—600 μ große, etwas unscharf begrenzte, amorphe osmiophile Verdichtungen auf (Abb. 4), die ab und zu der Mitochondrienaußenmembran anlagen. 6 Std nach der Unterbindung waren die beschriebenen Mitochondrienkörper fast regelmäßig in sämtlichen noch erhal-

tenen Mitochondrien vorhanden. Dann fand man oft auch Verklumpungen und Verschmelzungen mehrerer Mitochondrien.

Das in den Hauptstückepithelien nur spärlich ausgebildete *endoplasmatische Reticulum* wies in den ersten Stunden nach der Arterienunterbindung umschriebene Erweiterungen der Cysternen auf. In späteren Stadien der Nekrose kam es auch im Bereich des endoplasmatischen Reticulum zur völligen Desintegration der Membranen, die zu unregelmäßigen mehr oder weniger osmiophilen Bruchstücken zerfielen.

Die in kleinen Gruppen angeordneten freien *Ribosomen* wurden durch das Zellödem auseinander gedrängt. Ihre Gesamtzahl erschien während der ersten Stunden nicht vermindert. Erst nach mehrstündiger Ischämie konnte in den weitgehend zerstörten Zellen ein Schwund der Ribosomen festgestellt werden.

Im *Golgi-Feld* bestanden zunächst keine charakteristischen Veränderungen. Nur in stark hydropischen Zellen waren die Golgi-Zonen etwas aufgelockert. Ihre Bläschen und Säcke waren dann ab und zu erweitert.

Die normalerweise in den Hauptstückepithelien vorhandenen *Lysosomen* waren bereits nach 2—3 Std stark reduziert.

Neben einer diffusen, ödematösen Auflockerung der cytoplasmatischen Matrix konnte die Einwässerung des Cytoplasmas auch mit der Ausbildung zahlreicher kleinerer und größerer *Vacuolen* einhergehen. Solche Vacuolen besaßen eine rundliche Form und waren von einer einfachen Membran begrenzt. Ihre Innenräume erschienen meistens optisch leer; gelegentlich erkannte man aber in größeren Vacuolen einen feinflockigen Inhalt. Von diesen „echten“ Vacuolen waren die gelegentlich erweiterten Cysternen des basalen Labyrinthes zu unterscheiden, die meistens länglich oder polygonal gestaltet und basal gelegen waren.

Im Bereich der basalen Zellabschnitte konnten außerdem im Verlauf der hydropischen Zellschädigung noch weitere tiefgreifende Veränderungen beobachtet werden. So fanden wir neben der bereits beschriebenen Aufquellung der basalen Cytoplasmafächer und einer dadurch bedingten Abflachung der basalen Zellmembraneinfaltungen manchmal auch einen Kollaps der cytoplasmatischen Fächer, der ähnlich wie am Bürstensaum, zur Zusammenlagerung der β -Cyto-membranen und Ausbildung lamellär geschichteter Körper führte, welche Myelinfiguren ähnelten (Abb. 5).

Die *peritubuläre Basalmembran* verhielt sich in den ersten Stunden nach der Arterienligatur uneinheitlich. Während sie an vielen Hauptstücken eine regelrechte Dichte zeigte, beobachteten wir manchmal diffuse oder umschriebene Verdickungen. Nach 6—8 Std und später war sie dagegen oft erheblich verschmälert und aufgefaserst (Abb. 7). Kontinuitätsunterbrechungen mit einer Entleerung von Zellbestandteilen in das Interstitium (sog. „Tubulorhexis“) ließen sich in den bisherigen Experimenten nicht nachweisen. Auch bei der voll entwickelten Nekrose mit einem Zerfall der Epithelien war die Basalmembran noch gut erkennbar.

Als erstes Zeichen einer Schädigung des *Zellkernes* stellte sich bereits 30 bis 60 min nach der Unterbindung in manchen Hauptstückepithelien ein sog. Kernödem dar. Andere Kerne zeigten zu dem gleichen Zeitpunkt eine Verklumpung der Chromatinsubstanz und des Nucleolus, sowie unregelmäßige, verschieden

große Aufhellungsbezirke im Kerninneren (Abb. 6a). Die verklumpte und verdichtete Kernsubstanz lagerte sich dann an die inzwischen oft wellig gewordene Kernmembran an, deren Außenlamelle häufig ausgebuchtet war. Im weiteren Verlauf kam es zu einer Schrumpfung und Verkleinerung solcher Kerne sowie zu einer zunehmenden Verdichtung des verklumpten Chromatins (Abb. 6a und b), bis schließlich nur noch kleine, sehr dichte, kaum strukturierte Körper anzutreffen waren (Abb. 6c und d). Neben diesen pyknotischen Kernveränderungen

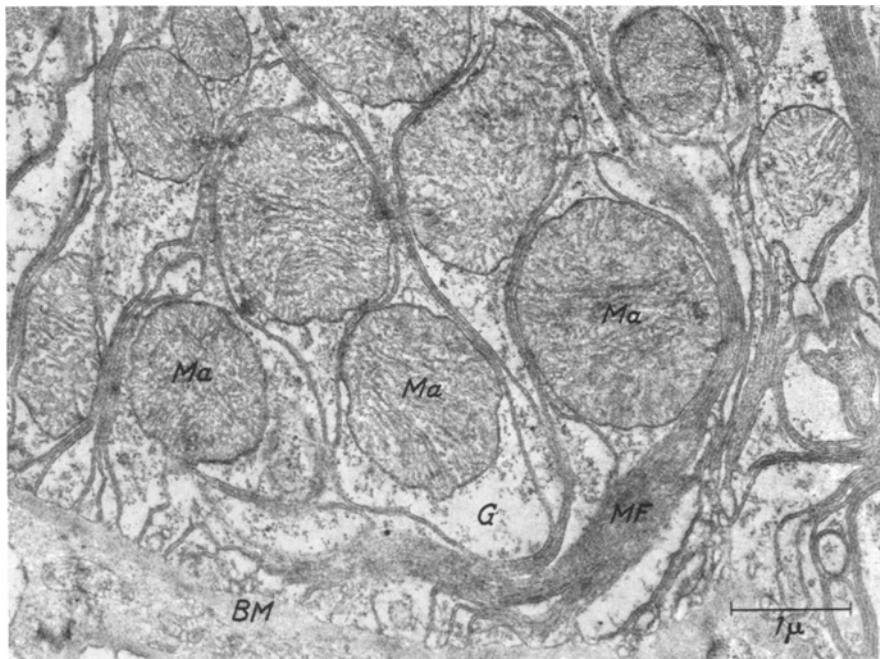


Abb. 5. Kollaps der basalen Cytoplasmafächer mit Zusammenlagerung der Zellmembran-Einfaltungen (MF) in einer Hauptstückepithelzelle der Rattenniere nach 2 Std Ischämie. Geschwollene Mitochondrien vom Matrix-Typ (Ma) in stark ödematos aufgelockertem Grundplasma (G). Vergrößerung 15000fach

waren gelegentlich auch Fragmentierungen verdichteter Kerne im Sinne einer Karyorhexis zu sehen. Kernuntergänge unter dem Bild einer Karyolyse traten demgegenüber in den Hintergrund. Während in den ersten 60 min die eben geschilderten Kernveränderungen nur in einzelnen Zellen oder Zellgruppen nachweisbar waren, nahm die Zahl der geschädigten Kerne nach 2–3 Std erheblich zu. Nach 8–10 Std waren in den Hauptstückepithelien des Infarktgebietes kaum noch intakte Kerne anzutreffen.

Der Untergang hydropisch veränderter Zellen erfolgte meistens unter dem Bild einer Cytolyse. Sie konnte an manchen Zellen bereits 30–60 min nach der Arterienunterbindung durch die Ruptur der apikalen Zellmembran eingeleitet werden. Dann traten noch verhältnismäßig gut erhaltene Zellorganellen in die Tubuluslichtung aus. In der Regel begann die Lysis jedoch erst nach 4–5 Std, also zu einem Zeitpunkt, zu dem bereits ein schwerer Schaden der gesamten Zelle vorlag. Dann waren von der Cytolyse meistens mehrere benachbarte Zellen und ganze Zellverbände betroffen. Hierbei lösten sich die nekrotischen Zellen

nicht nur aus ihren seitlichen Verbindungen, sondern auch von der tubulären Basalmembran ab (Abb. 7).

Bemerkenswert ist, daß einige Zellen trotz schwersten irreversiblen Veränderungen noch lange Zeit im Verband verankert blieben, bis sie zu einem

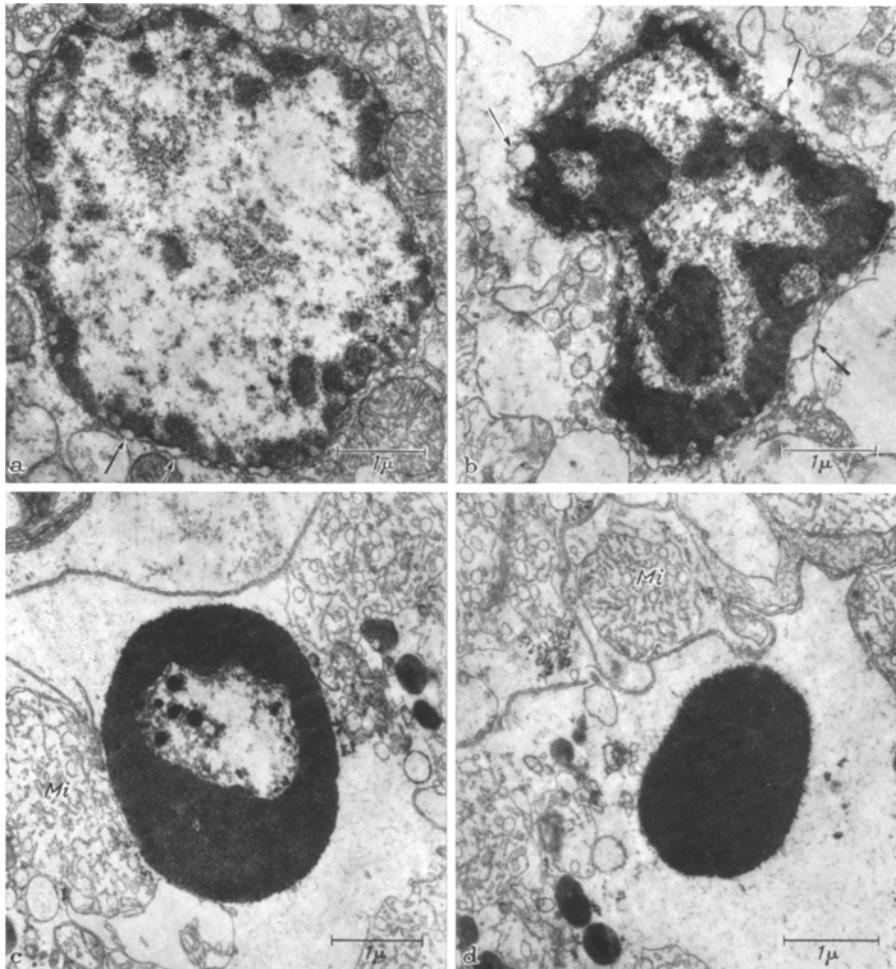


Abb. 6a—d. Verschiedene Stadien der Kernveränderungen in hydropischen Hauptstückepithelien der Ratteniere nach 3 Std Ischämie. a Beginnende Verklumfung des Chromatins mit unregelmäßigen Aufhellungsbezirken im Karyoplasma. b Fortgeschrittenes Schrumpfen des Kernes mit einer Verdichtung des verklumpten Chromatins. Ausbuchtungen der äußeren Lamelle der Kernmembran (↗). c und d Pyknotische Zellkerne. Geschwollene Mitochondrien vom Mischtyp (*Mi*). Vergrößerung 12000fach

Detritus zerfielen. Als Reste ausgedehnter Epitheluntergänge fanden sich schließlich z. T. kollabierte, lediglich von der tubulären Basalmembran begrenzte Schläuche, in deren Lichtungen Trümmer zerfallender Zellen lagen (Abb. 7).

B. Anhydrosischer Typ der Zellnekrose. Bei dieser Nekroseform, die wir regelmäßig bereits 30 min nach der Arterienunterbindung in einem Teil der Hauptstückepithelien beobachten konnten, standen von Anfang an eine Entwässerung und eine damit verbundene Schrumpfung der Zellen im Vordergrund. Derartige

Zellen oder Zellgruppen hoben sich von den benachbarten normalen oder hydroatisch veränderten Epithelen durch eine erhebliche Dichte der cytoplasmatischen Matrix und der Organellen ab. Dabei hatte man den Eindruck, daß der Prozeß durch eine Schrumpfung und Verkleinerung der Mitochondrien eingeleitet wurde.

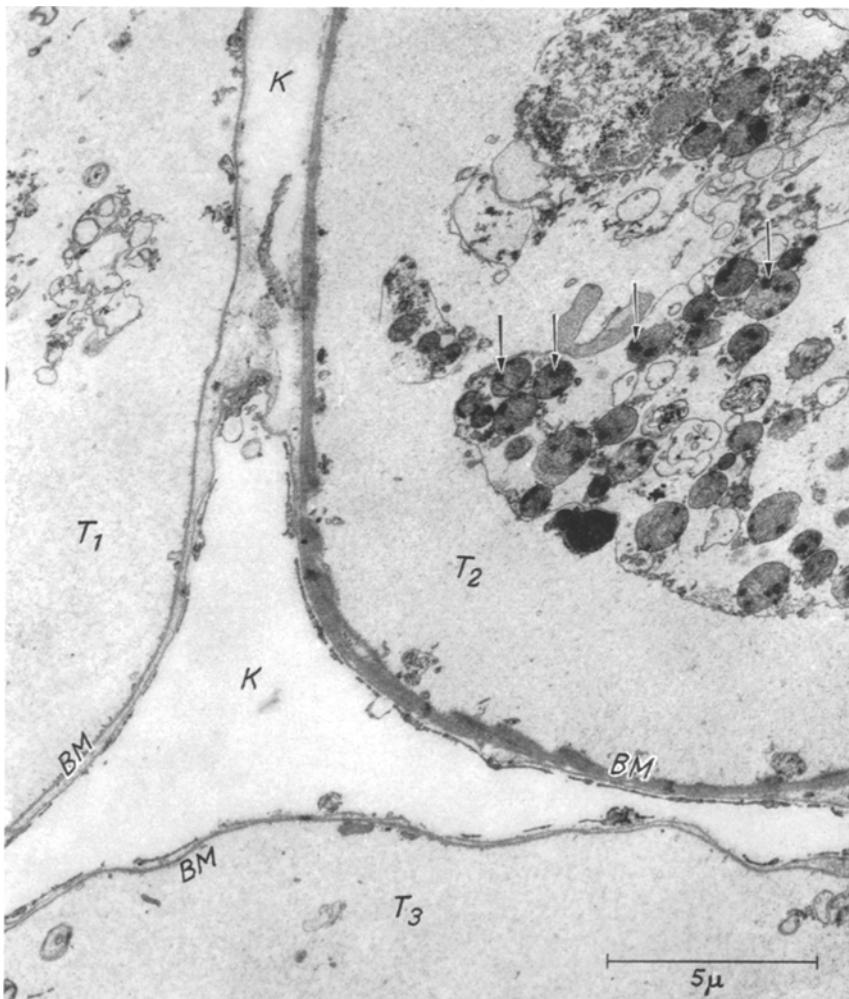


Abb. 7. Fortgeschrittene Cytolyse in drei benachbarten Tubuli (T₁—T₃) in einem 18 Std alten Infarkt der Ratteniere. In den Lichtungen Anteile zerfallender Epithelen. Im rechten Tubulus (T₂) regressiv veränderte Mitochondrien mit eigentümlichen dichten osmiophilen Körpern (↗). Linker (T₁) und unterer Tubulus (T₃) sind von stark verschmälerten peritubulären Basalmembranen begrenzt. Die Basalmembran des rechten Tubulus (T₂) ist etwas aufgefaserst. Peritubuläre Capillaren (K). Vergrößerung 5500fach

Diese Mitochondrien waren durch eine sehr dichte Matrix gekennzeichnet, von der sich die Cristae mit verschmälerten, intracristalen Spalträumen anfangs noch gut abhoben (Abb. 8). Kurz danach trat auch eine Verdichtung des Grundplasmas ein, die sich von der Zellbasis rasch zum apikalen Pol und dem Bürstensaum ausbreitete. Die Mikrovilli schrumpften, fragmentierten und wurden manchmal in das Tubuluslumen abgestoßen. Die Cysternen des basalen Laby-

rinthes waren im Bereich solcher Epithelien oft stark erweitert und mitunter unregelmäßig gestaltet. Sie erschienen optisch „leer“ oder enthielten feinflockige Massen, in die verdichtete, aus den Verzahnungen ausgelöste Cytoplasmaausläufer spornartig hineinragten. Durch die Retraktion des gesamten Zelleibes lösten sich

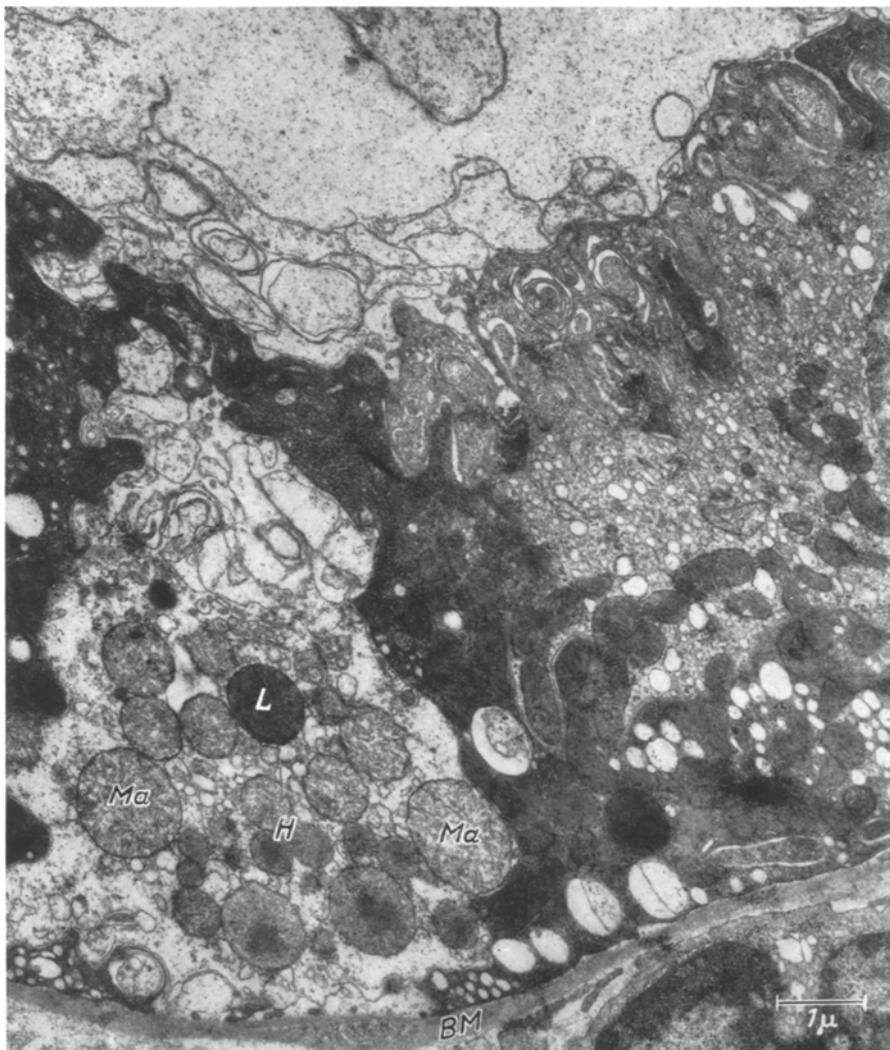


Abb. 8. Anteile einer hydropischen Epithelzelle (*H*) zwischen verdichteten und geschrumpften Hauptstückepithelien der Rattenniere in einem 1 Std alten Infarkt. Im rechten Bildteil ist die Verdichtung vornehmlich in basalen Zellanteilen ausgeprägt. Geschwollene Mitochondrien vom Matrix-Typ (*Ma*). *L* Lysosom.
Vergroßerung 10000fach

nicht selten die verdichteten Epithelien aus ihren lateralen und basalen Verbindungen von den benachbarten Zellen und wurden in die Lichtung abgestoßen. In voll entwickelten Stadien dieses Types der Zellschädigung ließen sich auch bei stärkerer Vergrößerung in der elektronendichten cytoplasmatischen Matrix nur noch Konturen verklumperter und verdichteter Mitochondrien, dicht gepackte

Ansammlungen von Ribosomen sowie verkleinerte Zellkerne erfassen (Abb. 9). Auch diese Kerne zeigten verhältnismäßig früh eine Kernwandhyperchromatose und eine klumpige Entmischung des Karyoplasmas, die ähnlich wie bei der hydropsischen Nekroseform zu einer Kernpyknose führte. Während bei der hydropsischen Form der Nekrose frühzeitig Auflösungserscheinungen auftraten, kam es in den verdichteten Zellen erst nach 10—12 Std zu einem scholligen oder granulären Zerfall. Aufgrund gezielter Gewebsentnahmen besteht der Eindruck, daß der anhydropische Typ der Epithelnekrose bevorzugt in den peripheren Infarktanteilen auftritt.

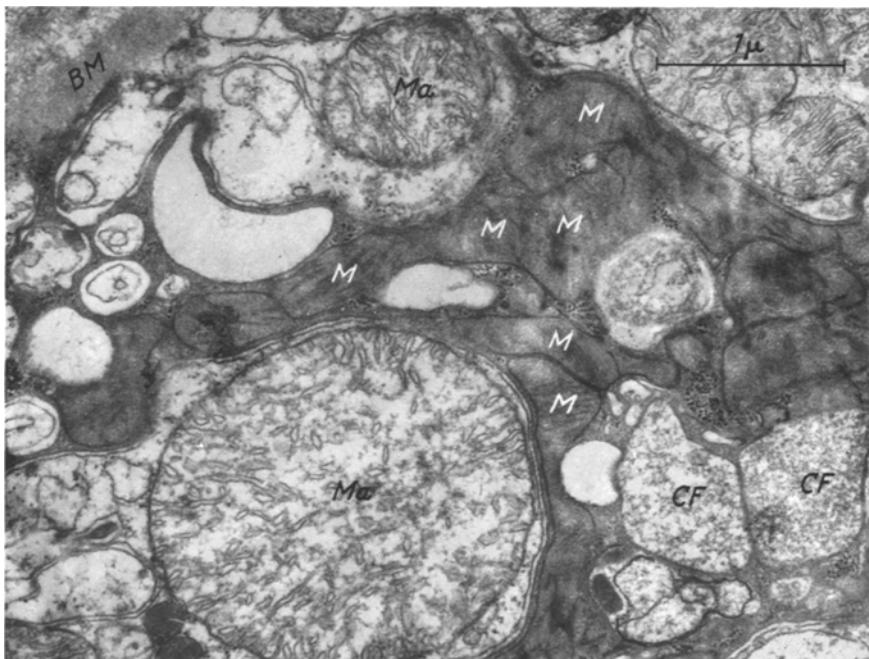


Abb. 9. Anhydropischer Typ der Nekrose in einer Hauptstückepithelzelle nach 30 min Ischämie. Verdichtete und verklumpte Mitochondrien (M), deren Cristae kaum zu erkennen sind. Geschwollene Mitochondrien vom Matrix-Typ (Ma) in Cytoplasmafortsätzen der benachbarten hydropsisch veränderten Zellen (CF). Vergrößerung 24000fach

Diskussion

Bei dem *hydropsischen Typ der Nekrose*, der weitgehend das Bild des Infarktes beherrscht, gehört eine ödematöse *Auflockerung des Grundplasmas* zu den ersten Veränderungen, die sich auch lichtmikroskopisch nach einigen Stunden durch eine Volumenvergrößerung der Zellen sowie eine Aufhellung und gelegentlich eine Vacuolisierung des Cytoplasmas darstellen. Sie beruht auf einer vermehrten Flüssigkeitseinlagerung in das Cytoplasma, die offenbar durch eine energetische Insuffizienz der Zelle bedingt ist.

Nach der heutigen Auffassung wird der Wasserhaushalt der Zelle in erster Linie durch einen aktiven Austausch von Natrium- und Kalium-Ionen zwischen dem intra- und extracellulären Raum reguliert. Normalerweise werden die Natrium-Ionen aktiv, d. h. in Verbindung mit einer energetischen Zelleistung, weitgehend aus der Zelle eliminiert, die Kalium-Ionen dagegen im Zellinneren angereichert (BURCK, 1963, dort auch weitere Literatur). Bei

Stoffwechselstörungen ist die für die Aufrechterhaltung dieses Konzentrationsgradienten notwendige Energie verringert. Dadurch kommt es in der Zelle zu einem Konzentrationsanstieg der Natrium-Ionen und einem — allerdings geringeren — Konzentrationsabfall der Kalium-Ionen. Infolge der Zunahme der gesamten intracellulären „Basen“ steigt der osmotische Druck innerhalb der Zelle, in die nun passiv Wasser diffundiert (BURCK, 1963). Diese Vorgänge dürften in der Niere durch einen organbedingten Flüssigkeitsreichtum zusätzlich beeinflußt werden (ALTMANN, 1955).

Neben einem diffusen Zellödem tritt die Flüssigkeitseinlagerung im Cytoplasma auch unter Ausbildung kleinerer und größerer *Vacuolen* in Erscheinung. Diese Vacuolisierung des Cytoplasmas ist bei der Infarktnekrose nach einer arteriellen Dauerunterbindung weniger ausgeprägt (vgl. auch HOLLE u. Mitarb., 1955) als bei histotoxischen Hypoxydosen (BECKER und NEUBERT, 1959) oder bei den Zellschädigungen infolge einer temporären Ischämie (HÜBNER und BERNHARD, 1961; ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN, 1962; THOENES, 1962, 1964).

Bei kleineren Vacuolen handelt es sich offenbar z. T. um erweiterte Cysternen des endoplasmatischen Reticulums. Daneben ist in der ersten Phase der Zellschädigung auch eine Vacuolenbildung ohne Beteiligung bereits vorhandener Membransysteme möglich (WACHSTEIN und BESEN, 1964). Schließlich werden in späteren Stadien der Nekrobiose hochgradig geschwollene Mitochondrien durch einen Schwund der Cristae und der inneren Mitochondrienmembran gelegentlich in Vacuolen umgewandelt.

Entsprechend den bisherigen Untersuchungen über die ischämischen Zellschädigungen in verschiedenen Organen (HÜBNER und BERNHARD, 1961; HÜCHT, KORB und DAVID, 1961, HATT u. Mitarb., 1962; ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN, 1962; THOENES, 1962) kam es auch unter unseren Versuchsbedingungen in den hydroptischen Zellen zu einer Mitochondrienschwellung, die nach BÜCHNER und seiner Schule in erster Linie ein Ausdruck der hypoxischen Schädigung, d. h. der energetischen Insuffizienz der Zelle darstellt. Dabei entstehen gleichzeitig drei verschiedene Formen der Mitochondrienschwellung, und zwar der Matrix-, Crista- und Misch-Typ. Während der Matrix-Typ relativ häufig vorkommt, sind die Mitochondrientransformationen vom Crista-Typ im tierischen Gewebe bisher nur selten beschrieben worden (SCHULZ, 1958; ANDRÉ, 1962; THOENES, 1964). Ähnliche Reaktionsformen wurden an isolierten Mitochondrien beobachtet und mit der Tonizität der Isolierungslösung in Verbindung gebracht (WATSON und SIEKEWITZ, 1956; LEVER und CHAPPEL, 1958; BERRY und SIMPSON, 1962; VOGELL und KLINGENBERG, 1965). Warum in dem gleichen Gewebe und unter gleichen Versuchsbedingungen, d. h. in unserem Falle bei einer Dauerischämie der Niere, verschiedene Typen der Mitochondrienschwellung auftreten, läßt sich vorerst nicht entscheiden, zumal wir noch keine ausreichenden Kenntnisse über die genauen intramitochondrialen Lokalisationen der für die Energiegewinnung der Zelle wichtigen Enzymsysteme besitzen. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß der Matrix- und Crista-Typ der Mitochondrienschwellung fast nie in einer Zelle zu beobachten ist. Dies könnte darauf hinweisen, daß die Art der Mitochondrienschwellung an einen bestimmten Funktionszustand oder an eine bestimmte Stoffwechsellelage einzelner Zellen gebunden ist.

Verfolgt man das Schicksal des geschwollenen Chondrioms, so läßt sich feststellen, daß sich ein großer Teil der Mitochondrien vom Matrix- und Misch-Typ

durch einen Schwund der Cristae und Auflösung der Mitochondrienmembran in Vacuolen umwandeln kann oder durch Kontinuitätsunterbrechung der Außenmembran einer Chondriolyse verfällt. Ein Teil dieser Mitochondrien bleibt dagegen noch längere Zeit verhältnismäßig gut erhalten. Schließlich bilden sich als Zeichen einer offenbar irreversiblen Schädigung eigentümliche amorphe, dichte Mitochondrienkörper (Abb. 4), wie sie auch in geschädigten Parenchymzellen der Leber (DAVID, MARX und UERLINGS, 1961; CAESAR, 1961) und des Herzmuskels (RABIN, HASSAN, JENSON und MELNICK, 1964) beschrieben worden sind. Aufgrund unserer Untersuchungen vermuten wir, daß es sich hierbei um Ansammlungen von Zerfallsprodukten der Mitochondrienbestandteile handelt, die sich aus Proteinen und Lipiden zusammensetzen. Für Calciumablagerungen, die vielleicht aufgrund der Untersuchungen von D'AGOSTINO (1964), HEGGTVEIT, HERMAN und MISHRA (1964) sowie HERDSON, SOMMERS und JENNINGS (1965) zu erwarten wären, ergeben sich in unserem Material keine Hinweise.

Wesentlich schwieriger ist eine Aussage über das Schicksal der geschwollenen Mitochondrien vom Crista-Typ, die morphologisch weitgehend den „lamellenförmig“ transformierten Mitochondrien nach SCHULZ (1958) entsprechen. Den von SCHULZ für diese Mitochondrien als charakteristisch bezeichneten „lamellären-Zerfall“ konnten wir nur sehr selten beobachten. Andererseits war bemerkenswert, daß die Zahl der geschwollenen Mitochondrien vom Crista-Typ nach 4 Std deutlich abnahm, während gleichzeitig die geschwollenen Mitochondrien vom Misch-Typ mehr und mehr in Erscheinung traten. Wir vermuten daher, daß die geschwollenen Mitochondrien vom Crista-Typ später in den sog. Misch-Typ übergehen können, zumal diese beiden Mitochondrienveränderungen nach 2–3 Std oft in den gleichen Zellen zu beobachten waren.

Das frühe Auftreten tiefgreifender Veränderungen am *Bürstensaum* unterstreicht seine auch bei anderen Versuchsbedingungen festgestellte (ITO, 1962; DAVID, 1963) Empfindlichkeit und Labilität. In Übereinstimmung mit den Befunden bei einer temporären Nierenischämie konnten wir auch bei unseren Experimenten zu einem Zeitpunkt, in dem die übrigen Zellorganellen noch keine irreversiblen Veränderungen aufwiesen, schon einen mehr oder weniger ausgeprägten Schwund des Bürstensaumes beobachten.

Eine besondere Form der Veränderungen im apikalen Zellbereich stellt die Ausbildung blasiger membranbegrenzter Gebilde in den Tubuluslichtungen dar, bei denen es sich um abgestoßene Teile des apikalen Cytoplasmas handelt. Diese „*tubulocellulären Blasen*“ (THOENES, 1964) entsprechen offenbar den bei lichtmikroskopischen Untersuchungen beschriebenen „zungenförmigen Ausläufern“ (HOLLE u. Mitarb., 1955) bzw. „apikalen Zellblasen“ (CAIN und FAZEKAS, 1963). Daß es sich hier nicht um Fixierungsartefakte oder etwa um den Ausdruck einer echten tubulären Sekretion handelt, wird u. a. durch unsere Kontrolluntersuchungen an normalen Rattennieren belegt. Während wir bei Kontrolltieren derartige Blasen nur selten vgefunden, sind sie in den ersten Stunden nach der Arterienunterbindung massenhaft vorhanden. Ihre Entstehung ist fast immer an einen Zellhydrops und Veränderungen an der apikalen Zellmembran gebunden. Ob die tubulocellulären Blasen nur als eine Folge des Zellhydrops und der Schwellung der Epithelien anzusehen sind, oder ob sie als eine Entlastungsmaßnahme der Zelle entstehen, die sich gegen eine energetische Insuffizienz durch Abgabe der

wasserreichen Cytoplasmaanteile schützt (THOENES, 1964), läßt sich aufgrund unserer Versuche nicht entscheiden.

Im Gegensatz zu den Befunden bei einer temporären Ischämie treten während der ersten Stunden nach der Arterienunterbindung in den hydropischen Hauptstückepithelien *Kernveränderungen* im Sinne eines sog. Kernödems nur selten auf. Zum gleichen Zeitpunkt — und später weitaus häufiger — fallen in vielen Zellen klumpige und schollige Entmischungen des Karyoplasmas mit einer deutlichen Verdichtung und Margination des Chromatins auf. Hierbei handelt es sich offenbar um das elektronenmikroskopische Äquivalent der aus der Lichtmikroskopie bekannten Kernwandhyperchromatose bzw. des „glänzenden Kerntyps“ (ZOLLINGER, 1945). Solche klumpigen Entmischungsvorgänge und Dispersitätsverschiebungen im Kern sind bei den verschiedensten Formen einer Zellschädigung beobachtet und als erste Zeichen einer irreversiblen, sogar „pränekrotischen“ Veränderung gedeutet worden (CAESAR, 1961; HECHT u. Mitarb., 1961; HAGER, 1962; FASSKE und THEMANN, 1963). In unserem Material war es möglich, alle Übergänge von einer beginnenden klumpigen Entmischung und Margination des Chromatins bis zu einer völligen Schrumpfung oder einem bröcklichen Zerfall der Kerne zu verfolgen. Da Karyolyse dagegen nur sehr selten zu sehen waren, ist anzunehmen, daß die Zellkerne bei einem ischämischen Niereninfarkt vornehmlich unter dem Bild einer Karyopyknose und z. T. auch einer Karyorhexis zugrunde gehen.

Bei der hydropischen Form der Nekrose tritt der Zelltod fast ausschließlich unter dem Bild einer *Cytolyse* ein. Während in den ersten Stunden nach der Unterbindung nur an einzelnen stark geschwollenen Zellen die Cytolyse durch eine umschriebene Ruptur der apikalen Zellmembran eingeleitet wird, lösen sich 2—3 Std später ganze Zellgruppen und Zellverbände gleichzeitig auf.

Neben der hydropischen Form der Nekrose fanden wir mit großer Regelmäßigkeit frühestens 30 min nach der Arterienligatur noch eine andere Art des Zelluntergangs, die in einigen wesentlichen Punkten von der zuerst beschriebenen abweicht, und die wir als *anhydropische Nekroseform* bezeichnen möchten. Hierbei ist zu keinem Zeitpunkt, und zwar auch nicht in den Frühstadien, eine vermehrte intracelluläre Wasseranreicherung zu beobachten. Offenbar findet gleich zu Beginn eine Wasserabgabe aus den Mitochondrien und auch aus dem Grundplasma statt, die zu einer Verdichtung und Schrumpfung der ganzen Zelle sowie zur Erweiterung der intercellulär gelegenen Cysternen des basalen Labyrinthes führt. Da es uns trotz ausgedehnter Untersuchungen nur selten gelang, frühe Entwicklungsstadien dieser Nekroseform zu erfassen, ist die Annahme naheliegend, daß dieser Typ des Zelluntergangs in einer sehr kurzen Zeitspanne entsteht. Im Gegensatz zur hydropischen Nekroseform, die durch frühzeitige Auflösungserscheinungen gekennzeichnet ist, zeigen die verdichteten Zellen auffallend lange keine nennenswerten weiteren Veränderungen im submikroskopischen Gefüge, bis sie schließlich entweder in die Lichtung abgestoßen werden oder schollig zerfallen.

Ähnliche Veränderungen in den Hauptstückepithelien der Niere wurden bisher unseres Wissens nur nach Injektionen von d-L-Serin beschrieben (WACHSTEIN und BESEN, 1964) und als reine „Koagulationsnekrosen“ gedeutet.

Während die hydropische Form der Nekrose (Cytolyse) vornehmlich im Zentrum des ischämischen Gebietes auftritt, findet sich der anhydropische Typ des Zelltodes bevorzugt in den peripheren Abschnitten. Es sei aber hervorgehoben, daß auch in ein und demselben Tubulusabschnitt mitunter beide Nekroseformen nebeneinander auftreten (Abb. 8, 9). Warum bei einer Ischämie der Zelluntergang auf zwei Wegen erfolgen kann, läßt sich durch die bisherigen Untersuchungen noch nicht klären. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß z. B. auch in Herzinfarkten nebeneinanderliegende geschädigte Zellen durchaus verschiedenartige Gefügealterationen aufweisen können (HECHT u. Mitarb., 1961).

Bei einem bleibenden Gefäßverschluß ist das Schicksal der Zellen in dem ischämischen Gebiet zwar endgültig entschieden. Trotzdem erhebt sich die Frage, zu welchem Zeitpunkt noch ein reversibler Zellschaden vorliegt, und welche morphologischen Veränderungen den eigentlichen Zelltod kennzeichnen.

Aufgrund der früheren elektronenmikroskopischen Befunde (ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN, 1962; THOENES, 1962, 1964) bei einer temporären Ischämie und der vorliegenden eigenen Untersuchungen nehmen wir an, daß das Ödem des Grundplasmas, die Schwellung der Mitochondrien, das sog. Kernödem und der partielle Untergang des Bürstensaumes zwar eine Nekrose einleiten können; in der Regel sind diese Veränderungen aber noch reversibel, da sie sich nach dem Fortfall der Durchblutungsstörung nicht selten wieder zurückbilden. Erst die klumpige Entmischung des Karyoplasma und die Kernwandhyperchromatose sowie das Auftreten der beschriebenen eigentümlichen, dichten Mitochondrienkörper in den hydropischen Zellen stellen offenbar Zeichen einer irreversiblen Schädigung dar. — Die Entwässerung und Verdichtung des Grundplasmas und der Zellorganellen, also die anhydropische Nekroseform, dürften von Anfang an irreversible Veränderungen sein, zumal solche Zellen sehr frühzeitig tiefgreifende Kernschädigungen aufweisen.

In einzelnen Zellen tritt ein Teil dieser irreversiblen Kern- und Cytoplasma-veränderungen bereits 30—60 min nach der Arterienligatur auf. In der Mehrzahl der Hauptstückepithelien sind die irreversiblen Schäden jedoch erst nach 3 bis 4 Std zu erkennen. Dieses uneinheitliche Verhalten der Hauptstückepithelien, worauf schon bei den Untersuchungen nach einer temporären Ischämie besonders hingewiesen wurde, beruht offenbar auf einer unterschiedlichen Vulnerabilität einzelner Zellen, für die anscheinend ein verschiedenes Zellalter (ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN, 1962) und/oder Unterschiede im Funktionszustand sowie der damit verbundene Energiebedarf einzelner Zellen zum Zeitpunkt des Einsetzens der Noxe (THOENES, 1964) verantwortlich sind. Bei einer Dauerischämie werden die Unterschiede im Ausmaß der Kern- und Cytoplasmaläsionen im weiteren Versuchsverlauf naturgemäß immer geringer, da eine Erholung der zunächst noch reversibel geschädigten Zellen nicht mehr erfolgt und der gesamte ischämische Bezirk nach 10—12 Std nekrotisch ist.

Überblicken wir die vorliegenden Befunde bei dem anämischen Niereninfarkt, so zeigt es sich, daß die bei der Nekrobiose an den Hauptstückepithelien auftretenden Veränderungen an den Kernen sowie an den Cytoplasmabestandteilen z. T. auch bei anderen experimentellen Nierenschädigungen wie z. B. bei Schwermetallvergiftungen (SCHÖRCHER u. LÖBLICH, 1960; STONE u. Mitarb., 1961; MÖLBERT, HUHN u. BÜCHNER, 1964; Totović, 1965), bei Dioxanvergiftung

(DAVID, 1964), nach Injektionen von d-1-Serin (WACHSTEIN u. BESEN, 1964), bei Harnstauung (DAVID, 1963) und der osmotischen Nephrose (HÜBNER, 1962) entstehen können. Sie sind also im einzelnen für die ischämische Nekrose nicht spezifisch. Diese Feststellung bestätigt die bekannte Tatsache, daß die lebende Substanz auf sehr verschiedenartige Schädigungen häufig mit gleichartigen Veränderungen reagiert. Offenbar stehen auch im submikroskopischen Bereich der Vielzahl der äußeren schädigenden Einwirkungen nur relativ wenige Möglichkeiten der Reizbeantwortung der Zellen gegenüber.

Das Besondere der anämischen Nekrobiose liegt in dem Ausmaß und in dem zeitlichen Auftreten der einzelnen submikroskopischen Veränderungen. Dabei stehen — ähnlich wie bei anderen hypoxischen Schäden — auch bei der ischämischen Nekrose Veränderungen des Chondrioms zunächst im Vordergrund, während der Um- bzw. Abbau der anderen Cytoplasmaorganellen anfangs weniger stark ausgeprägt ist und erst später erfolgt.

Zusammenfassung

Bei 60 Ratten wurden durch die Unterbindung des caudalen Astes der linken A. renalis anämische Infarkte erzeugt und nach 5 min bis 5 Tagen elektronenmikroskopisch untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Infarktnekrose an den Hauptstückepithelien in zwei verschiedenen Formen ablaufen kann. Vorherrschend war ein hydropischer Nekrosetyp, der über eine ödematöse Auflockerung und Vacuolisierung des Grundplasmas, Mitochondrienschwellungen, einen Lysosomenschwund, Veränderungen am Bürstensaum und der basalen Zellmembran und die Kernpyknosen zu einer Cytolyse führte. Der zweite, anhydropische Nekrosetyp war durch eine schnell einsetzende Entwässerung und damit verbundene Verdichtung aller Zellbestandteile gekennzeichnet. Diese schließlich zum Zelltod führenden Veränderungen traten im Infarktgebiet nicht gleichzeitig ein. Als Zeichen einer irreversiblen Zellschädigung bei der hydropischen Nekroseform werden eine klumpige Entmischung des Karyoplasmas und eine Kernwandhyperchromatose sowie das Auftreten von eigentümlichen Mitochondrienkörpern angesehen. Die anhydropische Form der Nekrose stellt offenbar von Anfang an eine irreversible Zellschädigung dar.

Electron Microscopic Studies of the Proximal Tubule in the Experimental Renal Infarct of the Rat

Summary

Ischemic renal infarction was produced by ligating the caudal branch of the left renal artery. Electron microscopic studies were made after five minutes and at intervals up to five days. Two different forms of infarctive necrosis of the proximal tubular epithelium were found. A hydropic type of necrosis was dominant, characterized by edema and vacuolization of the ground plasma, by swelling of mitochondria, by a decrease in the number of lysosomes, by alteration of the brush border and the basal cell-membrane, and by pyknosis of the nucleus, finally leading to cytosis. The second, anhydropic type of necrosis showed rapid dehydration and the resulting condensation of all cytoplasmic constituents. The sequence of various changes finally leading to the death of the cells did not

occur coincidentally in the infarcted region. Clumping of the nucleoplasm, margination of the chromatin substance, and peculiar bodies in the mitochondria were regarded as evidence of irreversible cell damage in the hydropic form of necrosis. The anhydropic form of necrosis seemed to be an irreversible damage of the cell from the very beginning.

Literatur

- AGOSTINO, A. N. DE: An electron microscopic study of cardiac necrosis produced by 9-fluorocortisol and sodium phosphate. *Amer. J. Path.* **45**, 633—644 (1964).
- ALTMANN, H.-W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. Die Pathobiosen. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie* (Hrsg. F. BÜCHNER, E. LETTERER u. F. ROULET), Bd. II/1, S. 419—612. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- ANDRÉ, J.: Contribution à la connaissance du chondriome. Études de ses modifications ultrastructurales pendant la spermiogénèse. *J. Ultrastr. Res., Suppl.* **2** (1962).
- BECKER, V., u. D. NEUBERT: Über die Entstehung der hydropisch-vakuolären Zellentartung. *Beitr. path. Anat.* **120**, 319—354 (1959).
- BERRY, M. N., and F. O. SIMPSON: Fine structure of cells isolated from adult mouse liver. *J. Cell Biol.* **15**, 9—17 (1962).
- BÜCHNER, F.: Allgemeine Pathologie, 4. Aufl. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1962.
- BURCK, H.-C.: Die Zellschwellung als Folge des passiven Wasserwechsels. Ionenbilanzstudien an inkubierten Leberschnitten. *Virchows Arch. path. Anat.* **336**, 326—341 (1963).
- CAESAR, R.: Elektronenoptische Beobachtungen bei der Autolyse in vivo. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **45**, 278—283 (1961).
- CAIN, H., u. S. 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).
- DAVID, H.: Submikroskopische Strukturveränderungen der Niere bei akuter und subakuter Harnstauung (Hydronephrose). *Acta biol. med. germ.* **10**, 164—173 (1963).
- Elektronenmikroskopische Befunde bei der dioxanbedingten Nephrose der Rattenniere. *Beitr. path. Anat.* **130**, 187—212 (1964).
- I. MARX u. I. UERLINGS: Über die Beeinflussung postmortaler Strukturveränderungen des submikroskopischen Leberbildes durch die Art des Einbettungsmittels. *Z. med. Labortechnik* **2**, 219—232 (1961).
- FASSKE, E., u. H. THEMANN: Die Reaktionen des somatischen Zellkerns auf ionisierende Strahlen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **47**, 246—253 (1963).
- HAGER, H.: Elektronenmikroskopische Befunde zur allgemeinen Zytopathologie des zentralnervösen Gewebes. IV. Internat. Kongr. Neuropathol. München 1961 (Hrsg. H. JACOB), Bd. II, S. 85—95. Stuttgart: Georg Thieme 1962.
- HATT, P.-Y., M. DVOJAKOVIC et P. CORNET: Contribution de la microscopie électronique à l'étude du mécanisme de l'hypertension artérielle expérimentale d'origine rénale. II. L'ischémie rénale chez le lapin. *Path. et Biol.* **10**, 23—40 (1962).
- HECHT, A., G. KORB u. H. DAVID: Vergleichende histochemische, fluoreszenzmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen zur Frühdiagnose des Herzinfarktes bei der Ratte. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 267—284 (1964).
- HEGGEVIT, A. H., L. HERMAN, and R. K. MISHRA: Cardiac necrosis and calcification in experimental magnesium deficiency. A light and electron microscopic study. *Amer. J. Path.* **45**, 757—782 (1964).
- HERDSON, P. B., H. M. SOMMERS, and R. B. JENNINGS: A comparative study of the fine structure of normal and ischemic dog myocardium with special reference to early changes following temporary occlusion of a coronary artery. *Amer. J. Path.* **46**, 367—386 (1965).
- HOLLE, G., R. BURCKHARDT, S. ARNDT u. M. BLÖDORN: Über manometrische, histochemische, histologische und phasenoptische Befunde bei ischämischer Hypoxydose. Beitrag zur Morphogenese und zur Frage des örtlichen Gewebetodes. *Virchows Arch. path. Anat.* **327**, 150—205 (1955).

- HÜBNER, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur sog. Kollidonnephrose. Beitr. path. Anat. **126**, 1—28 (1962).
- , u. W. BERNHARD: Das submikroskopische Bild der Leberzelle nach temporärer Durchblutungssperre. Beitr. path. Anat. **125**, 1—30 (1961).
- ITO, S.: Post mortem changes of the plasma membrane. 5th Internat. Congr. Electron Microscopy. Philadelphia 1962, vol. II L-5. New York and London: Academic Press 1962.
- LEVER, J. D., and J. B. CHAPPEL: Mitochondria isolated from brown adipose tissue and liver. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 287—290 (1958).
- MÖLBERT, E., D. HUHN u. F. BÜCHNER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Tubulusepithel der Niere sublimatvergifteter Ratten. Beitr. path. Anat. **129**, 222—246 (1964).
- RABIN, E. R., S. A. HASSAN, A. B. JENSON, and J. L. MELNICK: Coxackie virus B 3 myocarditis in mice. Amer. J. Path. **44**, 775—797 (1964).
- ROTTNER, W., H. LAPP u. H. ZIMMERMANN: Pathogenese und morphologisches Substrat des „akuten Nierenversagens“ und seine Erholungszeit. Dtsch. med. Wschr. **87**, 669—677 (1962).
- RUDOLPH, G., u. O. SCHOLL: Histochemische Untersuchungen zum Fermenthaushalt des experimentellen Niereninfarktes. (Zugleich ein Beitrag zur Morphologie und zum Wasserhaushalt des Niereninfarktes.) Beitr. path. Anat. **119**, 13—44 (1958).
- SCHÖRCHER, C., u. H. J. LÖBLICH: Elektronenmikroskopische Nierenbefunde bei akuter Sublimatvergiftung. Ein Beitrag zur Morphogenese der akuten Nephrose. Virchows Arch. path. Anat. **333**, 587—596 (1960).
- SCHULZ, H.: Die Pathologie der Mitochondrien im Alveolarepithel der Lunge. Beitr. path. Anat. **119**, 45—70 (1958).
- STONE, R. S., S. A. BENCOSME, H. LATTA, and S. C. MADDEN: Renal tubular fine structure studied during reaction to acute uranium injury. Arch. Path. **71**, 160—174 (1961).
- THOENES, W.: Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie. 5th Internat. Congr. Electron Microscopy. Philadelphia 1962, vol. II, Q-4.
- : Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie. Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie (Hrsg. W. BARGMANN u. W. DOERR.) H. 15. Stuttgart: Georg Thieme 1964.
- TOTOVIĆ, V.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an dem Tubulusapparat der Niere bei experimenteller chronischer Bleivergiftung der Ratte. Virchows Arch. path. Anat. **339**, 151—167 (1965).
- VOGELL, W., u. E. M. KLINGENBERG: Persönliche Mitteilung.
- WACHSTEIN, M., and M. BESEN: Electron microscopy of renal coagulative necrosis due to d-L-serine, with special reference to mitochondrial pyknosis. Amer. J. Path. **44**, 383—400 (1964).
- WATSON, M. C., and P. SIEKEWITZ: Cytochemical studies of mitochondria. I. The separation and identification of a membrane fraction from isolated mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 639—652 (1965).
- ZOLLINGER, H. U.: Phasenmikroskopische Beobachtungen über Zelltod. Schweiz. Z. Path. **11**, 276—282 (1948).

Dr. med. V. Totović
Laboratorium für Elektronenmikroskopie
am Pathologischen Institut der Universität
3550 Marburg a. d. Lahn, Robert-Koch-Straße 5