

Morphologische und autoradiographische Untersuchungen der Dünndarmschleimhaut von Ratten mit experimentell erzeugten Blindschlingen*

UDO LÖHRS, BALDUR WIEBECKE und HANS JOACHIM CASTRUP

Pathologisches Institut der Universität Köln (Direktor: Prof. Dr. M. Eder)

Eingegangen am 16. April 1970

Morphological and Autoradiographic Investigation of Alterations in the Small Intestinal Mucosa of Rats with Blind Loops

Summary. In the jejunum of rats isoperistaltic ("self-filling") and antiperistaltic ("self-emptying) blind loops or blind pouches were created. Four months post operationem the blind loops and the residual small intestine were histologically examined with morphometric and autoradiographic methods. In the blind loops different histological pictures with circumscribed highly altered mucosal patterns were found. Mucosal atrophy had developed focally in the terminal parts of the blind loops with signs of subtotal villous atrophy or so-called hyperregenerative atrophy in the self-filling loops. There was morphometrically in spite of focal decrease in mucosal height a clearly detectable tendency for mucosal hyperplasia in the blind loops and in the rest of the small intestine. The mucosal hyperplasia was combined with an absolute and partly with a relatively excessive increase of the regeneration zone in the deepened crypts. These changes were most distinctly developed in the self-filling loops. Especially the self-filling blind loops revealed a marked hypertrophy of the muscularis propria. An increased inflammatory infiltration of the stroma was seen only focally. Light microscopically and histochemically (non-specific alkaline phosphatase) there was no evidence for a general damage of the resorptive epithelium as a possible cause of malabsorption described in the blindloop-syndrome.

The morphological alterations and their proliferation kinetics were analysed and their possible causes discussed in connection with critical considerations about the used methods.

Zusammenfassung. In verschiedenen Abschnitten des Ratten-Jejunum wurden isoperistaltische („selbstfüllende“) und antiperistaltische („selbstentleerende“) Blindschlingen bzw. Blindsäcke (BS) angelegt. 4 Monate p. op. wurden die Blindschlingen und die übrigen Dünndarmabschnitte mit morphometrischen und autoradiographischen Methoden histologisch untersucht. Dabei zeigte sich in den BS ein stark wechselndes Schleimhautbild mit stellenweise hochgradigem Schleimhautumbau. Herdförmig wurde in den Endabschnitten der BS eine Schleimhautatrophie beobachtet, die in den selbstfüllenden BS das Bild einer subtotalen Zottenatrophie bzw. der sog. hyperregeneratorischen Atrophie bot. Morphometrisch wurde trotz herdförmiger Verschmälerungen eine deutliche Hyperplasie der Schleimhaut in den Blindschlingen und im übrigen Dünndarm nachgewiesen. Die Hyperplasie ging einher mit einer absoluten und teilweise auch relativ überschreitenden Verbreiterung der Regenerationszone in den vertieften Krypten. Diese Veränderungen waren in den selbstfüllenden BS am deutlichsten entwickelt. Vor allem in den selbstfüllenden BS war eine hochgradige Hypertrophie der Muscularis propria nachweisbar. Eine vermehrte entzündliche Stromainfiltration fand sich nur herdförmig. Es ergab sich bei lichtmikroskopischer Untersuchung auch histochemisch (unspezifische alkalische Phosphatase) kein Anhalt für eine generalisierte Epithelschädigung als mögliche Ursache der beim Blinde-Schlingen-Syndrom bekannten Malabsorption.

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Die morphologischen Veränderungen der Dünndarmschleimhaut wurden in Verbindung mit methodenkritischen Hinweisen im Hinblick auf ihre Proliferationskinetik analysiert und die in Frage kommenden Ursachen diskutiert.

Das Syndrom der „Blinden Schlinge“ (BS) als Variante des Malabsorptions-Syndroms (Becker, 1969; Demling, 1969) ist beim Menschen als Komplikation nach Enteroanastomosen und außerdem bei einer Reihe von anderen pathologischen Veränderungen des Dünndarms mit allgemeiner oder lokaler Stagnation des Darminhalts wie Divertikulose, Strikturen, Stenosen oder Fisteln beschrieben worden (Badenoch, 1965; Booth u. Mitarb., 1968; Cihak u. Mitarb., 1969; Ellis u. Smith, 1967; Goldstein u. Mitarbeit., 1969; Jeffries u. Mitarb., 1964; Jones u. Mitarb., 1968; Knauer u. Svoboda, 1968). Das BS-Syndrom zeichnet sich durch eine mangelhafte Absorption besonders von Fett und Vitamin B₁₂ aus. Als Ursache dafür wird allgemein eine von dem stagnierenden Darminhalt ausgehende unphysiologische Bakterienflora im Dünndarm angesehen. Das wurde sowohl beim Menschen als auch im Tierexperiment (Bishop, 1963; Donaldson, 1962, 1965; Panish, 1963) nachgewiesen. Durch die Bakterien wird offenbar sowohl der intestinale Gallensäureumsatz gestört als auch das Vitamin B₁₂ verbraucht. Einer Epithelschädigung als Ursache der Malabsorption beim BS-Syndrom wird allgemein keine Bedeutung zugemessen (Badenoch, 1965; Booth u. Mitarb., 1968; Goldstein u. Mitarb., 1969; Jeffries u. Mitarb., 1964). Den insgesamt spärlichen Mitteilungen über die Schleimhautmorphologie beim menschlichen und experimentellen BS-Syndrom zufolge wurden in den Blindschlingen und im übrigen Dünndarm dabei entweder keine oder nur herdförmige, uncharakteristische entzündlich-erosive Veränderungen beobachtet (Badenoch, 1965; Booth u. Mitarb., 1968; Donaldson, 1965; Morson, 1966).

Mit der hier vorgelegten Untersuchung sollte deshalb der Frage nach lichtmikroskopisch faßbaren Veränderungen der Dünndarmschleimhaut bei Ratten mit experimentell angelegten Blindschlingen systematisch mit Hilfe morphometrischer und autoradiographischer Methoden nachgegangen werden. Außerdem erschien die blinde Schlinge als geeignetes Modell, Veränderungen in der Proliferationskinetik der Schleimhaut eines funktionell gestörten Dünndarmabschnittes zu analysieren.

Methodik

Es wurden insgesamt 17 männliche Wistar-Ratten (Zentralinstitut für Versuchstierzucht Hannover) verwendet. Ausgangsgewicht 215 ± 16 g. Bei 11 Tieren Anlage unterschiedlich langer und lokalisierte iso- oder antiperistaltischer („selbstfüllend“ oder „selbstentleerend“) Blindschlingen bzw. Blindsäcke (BS) im Jejunum, durch Seit-zu-Seit-Anastomose mit einreißiger durchgreifender Catgut-Naht in Pentobarbital-(Nembutal®)-Narkose (vgl. Abb. 1). Haltung der überlebenden 7 BS- und 6 Kontrolltiere unter gleichen Bedingungen, Ernährung mit Standard-Preßfutter, Wasser ad libitum. Tötung der BS- und Kontrolltiere 4 Monate p.op. durch cervicale Dislokation im Ätherrausch. 5 BS- und 2 Kontrolltiere erhielten 40 min vorher je 1,5 µC/g Körpergewicht ³H-Thymidin intraperitoneal (spez. Akt. 2,0 C/mM, NEN, Boston, USA). Zur S-Phasen-Bestimmung bei 2 BS-Tieren schwach-stark-Doppelmarkierung mit ³H-Tdr., 1,0 µC/g als 1. und 10fache Dosis als 2. Injektion, Intervall 45 min; Tötung 45 min nach der 2. Injektion. Von den Kontrolltieren wurde entnommen: Dünndarm unmittelbar (Duo), sowie 10, 30 und 45 cm (Jeju) distal des Pylorus und 3 cm proximal der Bauhinschen Klappe (Ile). Untersuchte Abschnitte bei den BS-Tieren, vgl. Abb. 1. Die jeweils etwa 2 cm langen Darmabschnitte wurden unter Standardbedingungen auf Pappkärtchen genadelt. Nach

fermentgerechter Fixation und Einbettung zur gleichzeitigen Autoradiographie und Durchführung der Reaktion auf unspezifische alkalische Phosphatase (Azokopplungsmethode, Burstone, 1958, s. Barka, 1963) Herstellung der Autoradiogramme an 4—5 μ dicken Längsschnitten mit K2-Emulsion (Ilford, London), Exposition 3 Wochen, bei Doppelmarkierung 12 Tage (genaue autoradiographische Methodik s. Schultze, 1968, 1969). Nach Entwicklung der Autoradiogramme Hämalaun-Färbung. Von jedem Schnitt außerdem HE-, Giemsa- und Biebricher-Scharlach-Färbung (Schäfer u. Fischer, 1968).

Auswertung

Bei den Kontrolltieren wurden jeweils 10, bei den BS-Tieren jeweils 10, z. T. 8, einwandfrei längsgeschnittene Krypten und Zotten pro Abschnitt ausgewertet. Bestimmung der mittleren Gesamtzellzahl auf der Zotte und in der Krypten, daraus Ermittlung der mittleren Zellzahl in der vom Kryptengrund bis zur -ausmündung und vom Zottenhals bis zur spitze reichenden Zellsäule. Ermittlung der durchschnittlichen Zahl ^3H -markierter Epithelzellen und der Mitosen in der Krypten. Zur Lokalisation der Regenerationspopulation und der einzelnen Zelltypen Anwendung eines besonderen Registrierverfahrens mit Hilfe einer Schreibmaschine, wobei für jeden Zelltyp (unmarkierte, ^3H -markierte Saumzelle, Mitose, Becher-, Panethzelle und basalgekörnte Zelle) ein Buchstabsymbol gewählt wurde, so daß in der entstehenden Reihe die Position des einzelnen Zelltyps in der Zellsäule der Krypten unmittelbar abzulesen ist. Für eine summarische Auswertung erwies es sich jedoch als ausreichend, zur Bestimmung der Regenerationspopulation die mittlere Gesamtzellzahl bis zur höchstgelegenen ^3H -markierten Zelle oder Mitose zu ermitteln. Messungen mit dem Ocular-Mikrometer: Gesamtschleimhautdicke, Kryptentiefe, Regenerationszone, Dicke der Muscularis propria. Berechnung folgender Werte: Relative Höhe der Regen.-Zone auf Grund von Zellzählung und Messung; Längenverhältnis Krypten: Zotte; ^3H - und Mitose-Index bezogen auf die Krypten-Gesamt-population, korrigierter ^3H - und Mitose-Index bezogen auf die Regenerationspopulation. Statistik (Sachs, 1968): Vergleich der Mittelwerte mit dem Student-Test; Bestimmung des 95% Vertrauensbereiches der Relativwerte; Vergleich der relativen Häufigkeiten mit dem χ^2 -Test ($2 \times n$ -Tafel).

Ergebnisse

In ihrer Entwicklung zeigten die Tiere mit Blindschlingen bzw. Blindsäcken (BS) nach Überstehen der postoperativen Phase gegenüber den Kontrolltieren keine auffälligen Unterschiede. Bei den in 2wöchentlichen Abständen durchgeführten Gewichtskontrollen lag das Durchschnittsgewicht der BS-Tiere zwar immer unter dem der Kontrolltiere, der Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$). Bei einem gemeinsamen Ausgangsgewicht von 215 ± 16 g wogen die BS-Tiere 2 Monate p. op. 351 ± 48 g (Kontrollen 378 ± 48 g), nach 4 Monaten bei der Tötung 379 ± 53 g (393 ± 60 g). Ein nennenswerter Gewichtsunterschied der Ratten mit selbstfüllenden (isoperistaltischen) Blindschlingen gegenüber den anderen ergab sich nicht.

Die mittlere Gesamtlänge des Dünndarms bei BS- und Kontrolltieren betrug 88 ± 8 cm. 4 Monate nach der Operation waren die bis zu 20 cm langen selbstfüllenden Blindschlingen (vgl. Abb. 1, Tier A—D) besonders in ihren distalen zwei Dritteln z. T. bis auf über den 3fachen Durchmesser des normalen Dünndarms aufgetrieben. Sie waren mit faulig riechendem Inhalt und ausgelaugten pflanzlichen Nahrungsresten angefüllt. Die selbstentleerenden BS hatten einen normalen oder gering reduzierten Durchmesser, sie waren angefüllt mit einem zäh-schleimigen, eingedickten und der Schleimhaut anhaftenden Inhalt. Die durch Spontanperforation aus einer selbstentleerenden BS entstandene Zirkulationsschlinge (Tier F) hatte einen dünnflüssigen Inhalt. Der restliche Dünndarm erschien makroskopisch bis auf die aufgetriebenen Anastomosen normal.

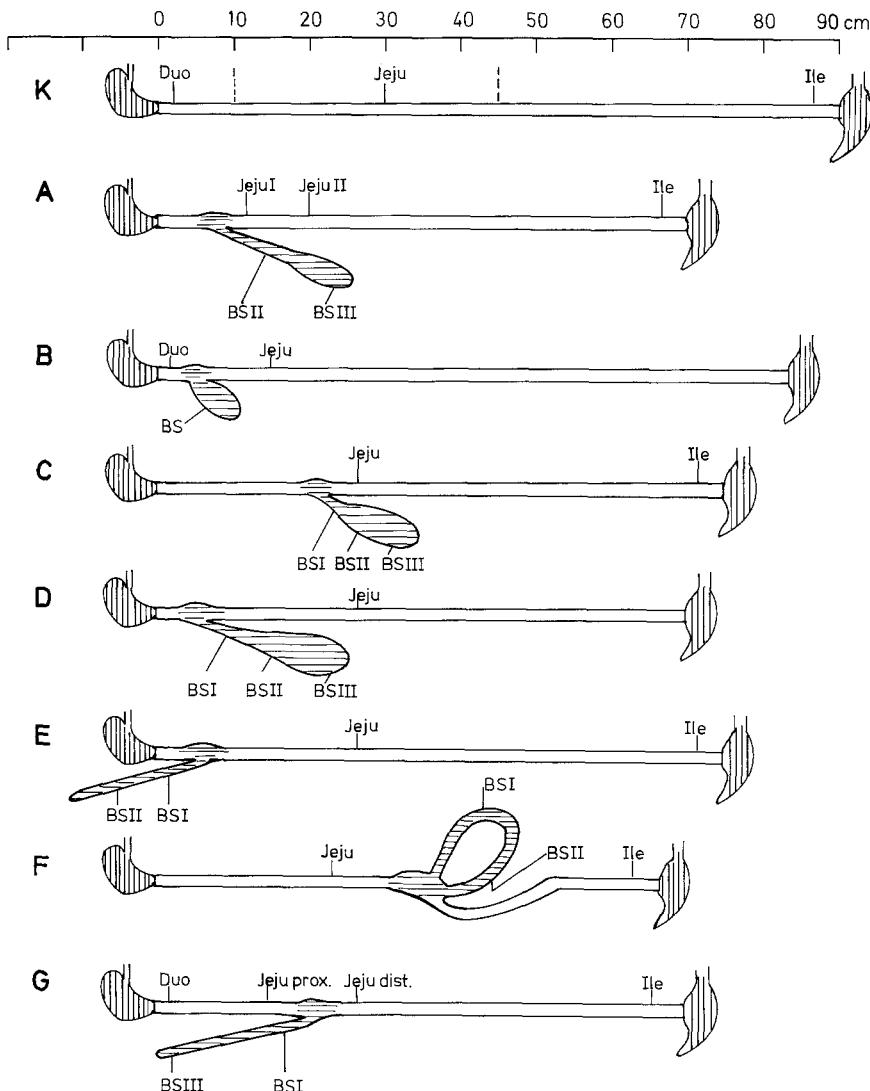


Abb. 1. Schematische Darstellung der bei den Ratten A—G angelegten Blindschlingen bzw. Blindsäcke mit Angabe der jeweils untersuchten Abschnitte (links Magen, rechts Coecum). Die Verkürzung des Restdünndarmes bzw. die Länge der Blindschlingen ist an der rechts eingerückten Strecke ablesbar

Histologische Befunde. Die Muscularis propria war besonders in den isoperistaltischen BS hochgradig verdickt (Abb. 2). Bei einem Kontrollwert von $140 \pm 25 \mu$ ergab sich in den selbstfüllenden BS eine mittlere Dicke von $342 \pm 98 \mu$ (Faktor 2,4; Maximum 480μ) und in den antiperistaltischen BS ein Mittelwert von $262 \pm 56 \mu$ (Faktor 1,9; Maximum 361μ).

Die Schleimhaut in den Blindschlingen bot mannigfache Veränderungen. Dabei fanden sich sehr unterschiedliche Schleimhautbilder häufig dicht benachbart. Um keine Unterschiede zu verdecken, wurden deshalb bei der quantitativen

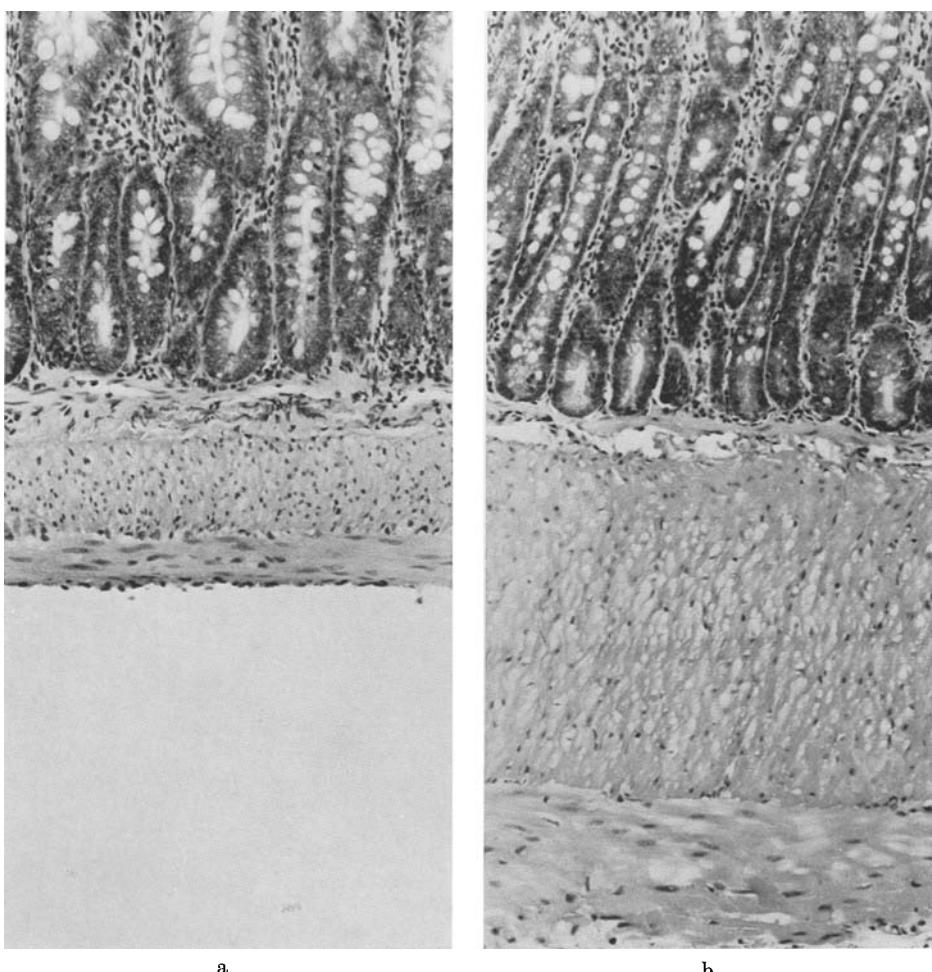


Abb. 2. a Normale Muscularis propria und Kryptenregion. b Hypertrophierte Muskulatur und verbreiterte Kryptenregion in einer selbstfüllenden Blindschlinge (gleiche Vergr. ca. $160\times$; HE-Färbung)

Auswertung nicht nur die einzelnen Tiere, sondern auch die verschiedenen untersuchten Abschnitte getrennt analysiert. Wie die Abb. 3 demonstriert und besonders auch die morphometrischen Ergebnisse erkennen lassen (Abb. 6), wurde vielfach eine ausgeprägte Schleimhauthyperplasie beobachtet. Daneben fanden sich herdförmig Erosionen und besonders in den Endstücken der Blindschlingen unterschiedlich ausgebildete Schleimhautatrophien (Abb. 4 und 5). Besonders in den selbstfüllenden BS fiel eine teilweise hochgradige Umgestaltung der normalen Schleimhauttextur auf, wobei sich konfluierende oder brückennartig miteinander verbundene, teils plumpe, teils schlanke stromaarme Zottenbilder zeigten (Abb. 3). Vor allem in den Endabschnitten (besonders Tier D) der selbstfüllenden BS war eine vollständig umgebauten, an Pylorusschleimhaut erinnernde

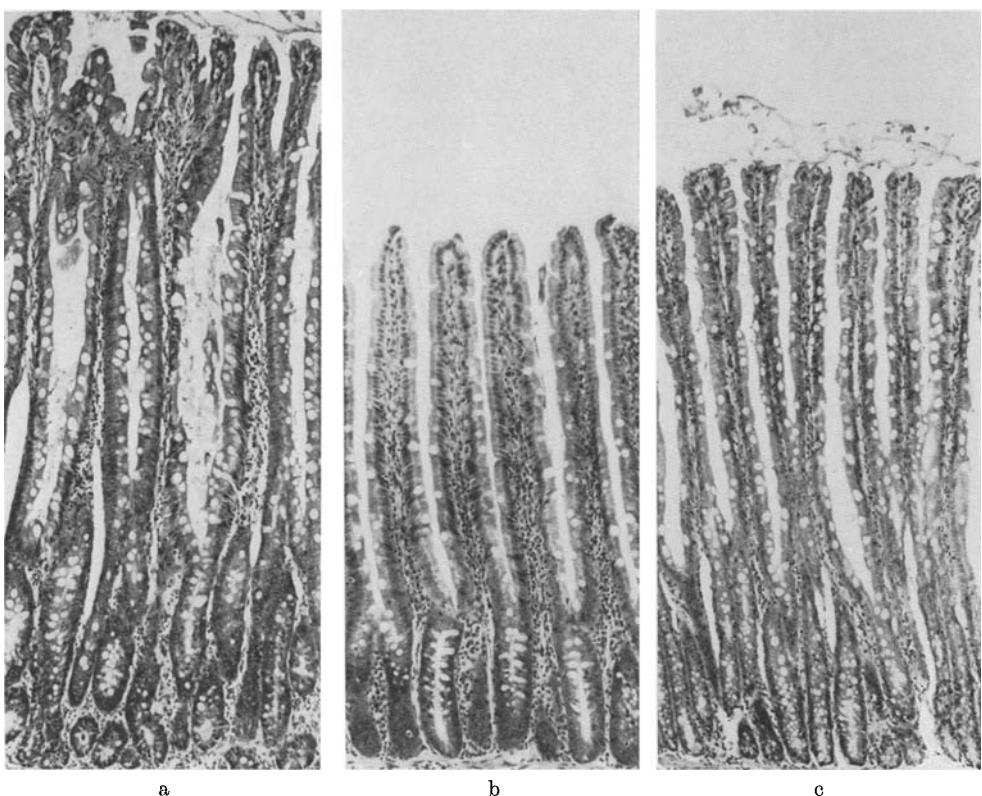


Abb. 3. a und c Schleimhauthyperplasie und Umbau der normalen Schleimhautarchitektur in den Blindschlingen. b Normale Jejunumschleimhaut bei gleicher Vergrößerung (Vergr. ca. 100×; HE-Färbung)

Schleimhautarchitektur mit Verschmälerung der Zottenregion, Stromakonfluenz und dabei verbreiterter Kryptenregion mit vermehrter Mitoseaktivität entwickelt (Abb. 4). Ein grundsätzlicher Unterschied zwischen selbstfüllenden und selbstentleerenden BS ließ sich nicht feststellen, jedoch ging der Schleimhautumbau in den antiperistaltischen BS nicht so weit. Besonders in deren distalen Abschnitten war die Schleimhaut mit abgeschilferten pyknotischen und in Schleim eingebetteten Epithelresten bedeckt, so daß eine Abgrenzung zwischen dem atrophenischen Zottenspitzenepithel und dem Detritus stellenweise unmöglich war (Abb. 5a). Dort zeigte sich herdförmig eine hochgradige Atrophie der Schleimhaut, besonders der Zotten (Abb. 5b). Eine morphometrische Analyse war in diesen Abschnitten nicht möglich. Die Schleimhaut des übrigen Dünndarms bot bis auf vereinzelte Erosionen in der Umgebung der Anastomosen ein normales histologisches Bild. Eine chronisch-entzündliche Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen und vermehrten eosinophilen Granulozyten konnte nur im Bereich der Erosionen und Anastomosennähte festgestellt werden.

Die *alkalische Bürstensaum-Phosphatase* war in den Blindschlingen herdförmig abgeschwächt und fehlte in den hochgradig umgestalteten Bezirken voll-

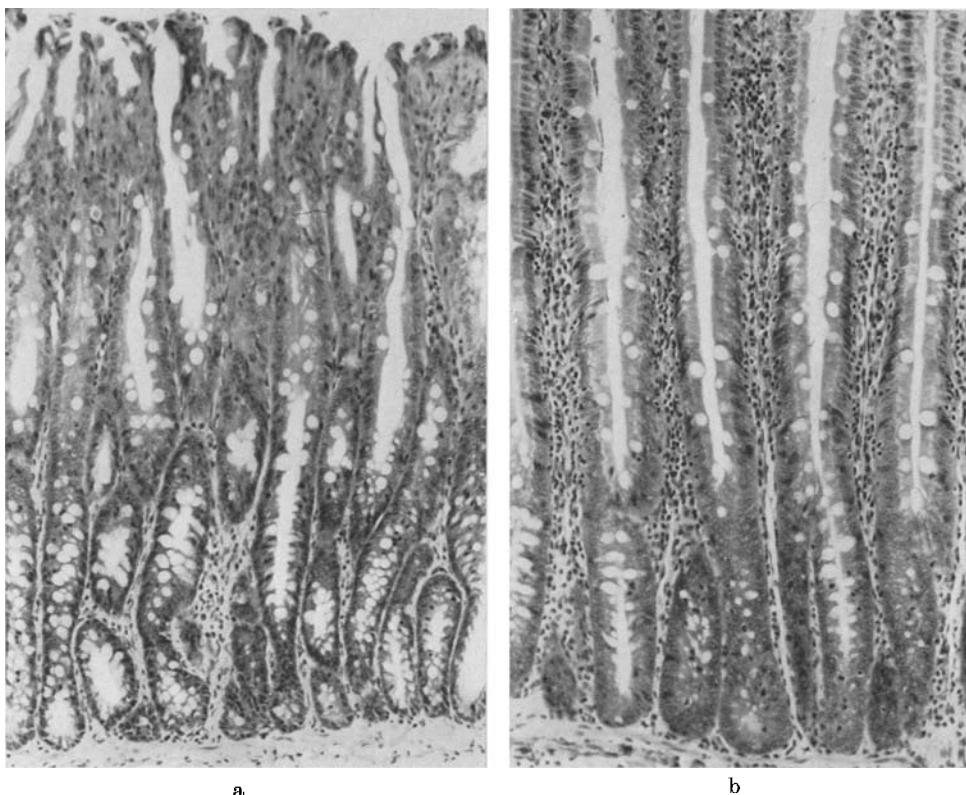


Abb. 4. a Hochgradig umgebauter Schleimhaut mit Verbreiterung der Kryptenregion aus dem Endabschnitt einer selbstfüllenden Blindschlinge (Tier D). Negativer Ausfall der Reaktion auf unspezifische alkalische Phosphatase an diesen Stellen. b Normale Jejunumschleimhaut bei gleicher Vergrößerung (ca. 150 \times ; HE-Färbung)

ständig. In den übrigen BS-Abschnitten und im restlichen Duodenum und Jejunum fiel die Reaktion normal aus.

Ergebnisse der *morphometrischen und autoradiographischen Untersuchung*: Ein quantitativer Vergleich der bei der Kontrolltieren 10, 30 und 45 cm postpylorisch entnommenen Dünndarmabschnitte ergab nur geringfügige Unterschiede. Deshalb wurde als Kontrolle für das Jejunum bzw. alle BS-Abschnitte der 30 cm postpylorisch entnommene Abschnitt (Jeju 30) verwendet.

Aus den in Abb. 6 und 7 in der Tabelle im einzelnen dargestellten Befunden können folgende Ergebnisse zusammengefaßt werden: Die mittlere Schleimhautdicke in den selbstfüllenden BS betrug $995 \pm 158 \mu$, in den selbstentleerenden $886 \pm 140 \mu$ und zusammengefaßt $951 \pm 156 \mu$ gegenüber einem mittleren Kontrollwert von $801 \pm 55 \mu$. Das bedeutet eine mittlere Zunahme der Mucosastärke in den BS um 16% (maximal 32% in A, BS III). Innerhalb der gleichen Blindschlinge wies die Schleimhautdicke z. T. hochsignifikante Unterschiede auf. Dabei fanden sich neben der vorherrschenden Hyperplasie auch Verschmälerungen der Mucosa. Das erklärt, warum der Unterschied in der mittleren Schleimhautdicke

Tabelle. Spalte 3: Relative Höhe der Regenerationszone in den Krypten auf Grund von Zellzählung und von Messung in prozentualer Angabe der Kryptentiefe. Spalte 4: Gesamtdicke der Schleimhaut in μ mit S.-A. Spalte 5: Größenverhältnis Krypten: Zotte auf Grund der durch Zellzählung und durch Messung ermittelten Werte. K = Kontrolltiere

Tier	Abschnitt	Rel. Höhe der Regen-		Ges.-Schleim-	Verhältnis	
		Zone (%)	Zell-	hautdicke (μ)	Krypten: Zotte	Messung
		Zell-	Messung		Zell-	Messung
K	Duodenum	63	57	978 \pm 76	1:2,3	1:2,4
	Jejunum	64	62	801 \pm 55	1:2,1	1:2,5
	Ileum	65	62	510 \pm 40	1:1,2	1:1,3
A	BS II	62	54	746 \pm 35	1:1,7	1:1,7
	BS III	65	62	1180 \pm 45	1:1,4	1:1,6
	Jejunum I	65	62	1046 \pm 48	1:1,8	1:1,8
	Jejunum II	64	56	791 \pm 86	1:1,6	1:1,8
	Ileum	71	63	719 \pm 19	1:1,1	1:1,7
B	Duodenum	58	55	827 \pm 50	1:3,1	1:3
	BS	57	58	1028 \pm 60	1:3,4	1:3,3
	Jejunum	63	60	811 \pm 35	1:2,7	1:3
C	BS I	76	68	1081 \pm 84	1:1,7	1:1,4
	BS II	75	74	1134 \pm 72	1:1,6	1:1,6
	BS III	70	67	895 \pm 30	1:1,9	1:1,9
	Jejunum	65	60	—	—	—
	Ileum	67	65	567 \pm 63	1:1,3	1:1,5
D	BS I	70	63	842 \pm 55	1:2	1:2
	BS II	72	70	1169 \pm 54	1:2,3	1:1,9
	BS III	78	71	880 \pm 66	—	1:1,5
	Jejunum	74	68	791 \pm 35	1:2,4	1:2,4
E	BS I	58	58	978 \pm 86	1:2,3	1:2,4
	BS II	69	66	701 \pm 55	1:2,2	1:2,2
	Jejunum	70	60	862 \pm 76	1:1,7	1:2
	Ileum	75	63	570 \pm 35	1:1,4	1:1,2
F	Jejunum	57	55	978 \pm 55	1:2,8	1:2,9
	BS I	68	61	919 \pm 43	1:1,9	1:1,9
	BS II	68	63	912 \pm 50	1:1,7	1:1,5
	Ileum	68	65	511 \pm 22	1:1,4	1:1,3
G	Duodenum	67	65	1217 \pm 34	1:2,6	1:2,2
	Jejunum prox.	63	57	1183 \pm 35	1:1,5	1:1,7
	BS I	72	65	1063 \pm 131	1:2	1:2,2
	BS III	68	60	743 \pm 34	1:1,9	1:1,6
	Jejunum dist.	69	70	864 \pm 70	1:1,1	1:2,1
	Ileum	67	65	650 \pm 47	1:2,2	1:1,7

zwischen Kontroll-Jejunum und sämtlichen BS-Abschnitten statistisch nicht signifikant ist ($p > 0,05$).

Die Schleimhauthyperplasie entstand durch eine Zottenverlängerung, insbesondere aber durch Verbreiterung der Kryptenregion, so daß das normale

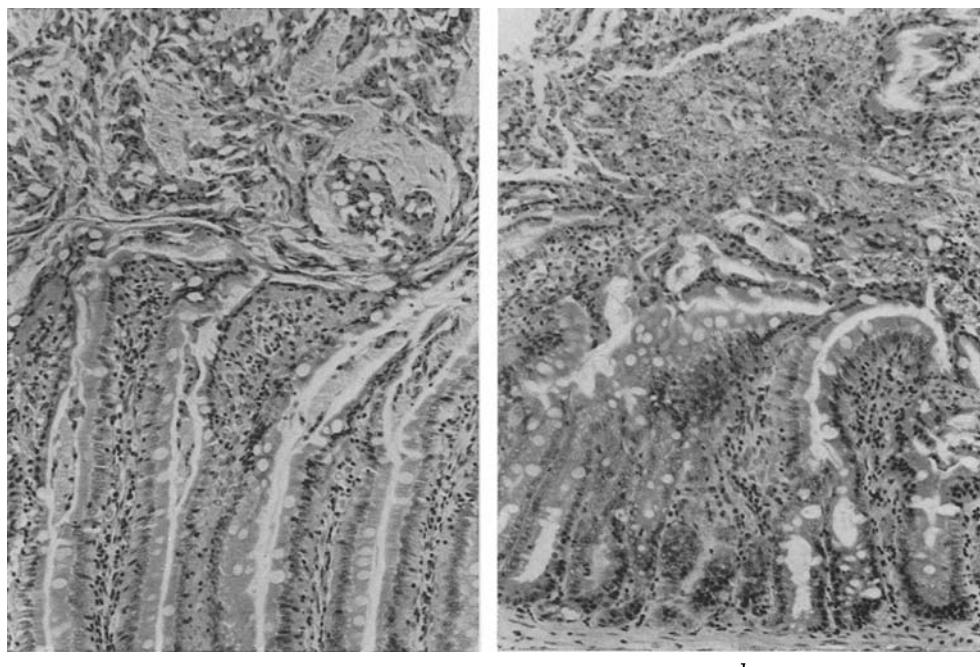


Abb. 5. a Zotten aus einer selbstentleerenden BS mit aufgelagertem Detritus und atrophischem Zottenspitzenepithel. b Distaler Abschnitt einer selbstentleerenden BS mit Zottenatrophie (Vergr. ca. 150 \times ; HE-Färbung)

Verhältnis zwischen Krypten und Zotte [etwa 1:2,5 (2,1) im Jejunum] sich teilweise zugunsten der Krypten verschoben hatte (Tabelle). Dabei zeigten sich in der Regel keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Werten, die durch Zellzählung und denen, die durch Messung gewonnen wurden. In einzelnen Abschnitten, besonders in den Endstücken der BS mit hochgradigem Schleimhautumbau, wurde eine Verkürzung der Zotten, dazu in den selbstfüllenden BS eine Verbreiterung der Krypten mit erhöhter Mitoseaktivität beobachtet (Abb. 4a; Abb. 7, D, BS III).

Eine um durchschnittlich etwa 11% auf $916 \pm 141 \mu$ verdickte Schleimhaut fand sich auch in den übrigen Jejunumabschnitten, besonders in der Nähe der

Abb. 6. Darstellung der mittleren Zottenlänge, Kryptentiefe und Höhe der Regenerationszone mit Standardabweichung ($n = 10$, vgl. Auswertung) gemessen an der mittleren Zahl der Zellen in einer Zellsäule der Krypten und Zotte. Durch Aufstockung der mittleren Zottenlänge auf die Kryptenhöhe ist die Schleimhauthöhe ablesbar. Daneben einfacher und korrigierter ^3H -Index mit 95%-Vertrauensbereich. — Angabe einer statistisch signifikanten Vergrößerung oder Verminderung gegenüber den Kontrollen durch Plus- und Minus-Zeichen (bei Schleimhautmaßen $p \leq 0,01$, mit Klammern $p \leq 0,05$; bei Indices $p \leq 0,05$). + Kontrollwerte der Schleimhautmaße mit Standardabweichung für die entsprechenden Darmabschnitte. ϕ Kontrollwerte für Indices mit 95%-Vertrauensgrenzen. — Anmerkung: bei Tier D keine Autoradiographie, da ^3H -Tdr. in die aufgetriebene und mit der Bauchwand verwachsene BS injiziert wurde

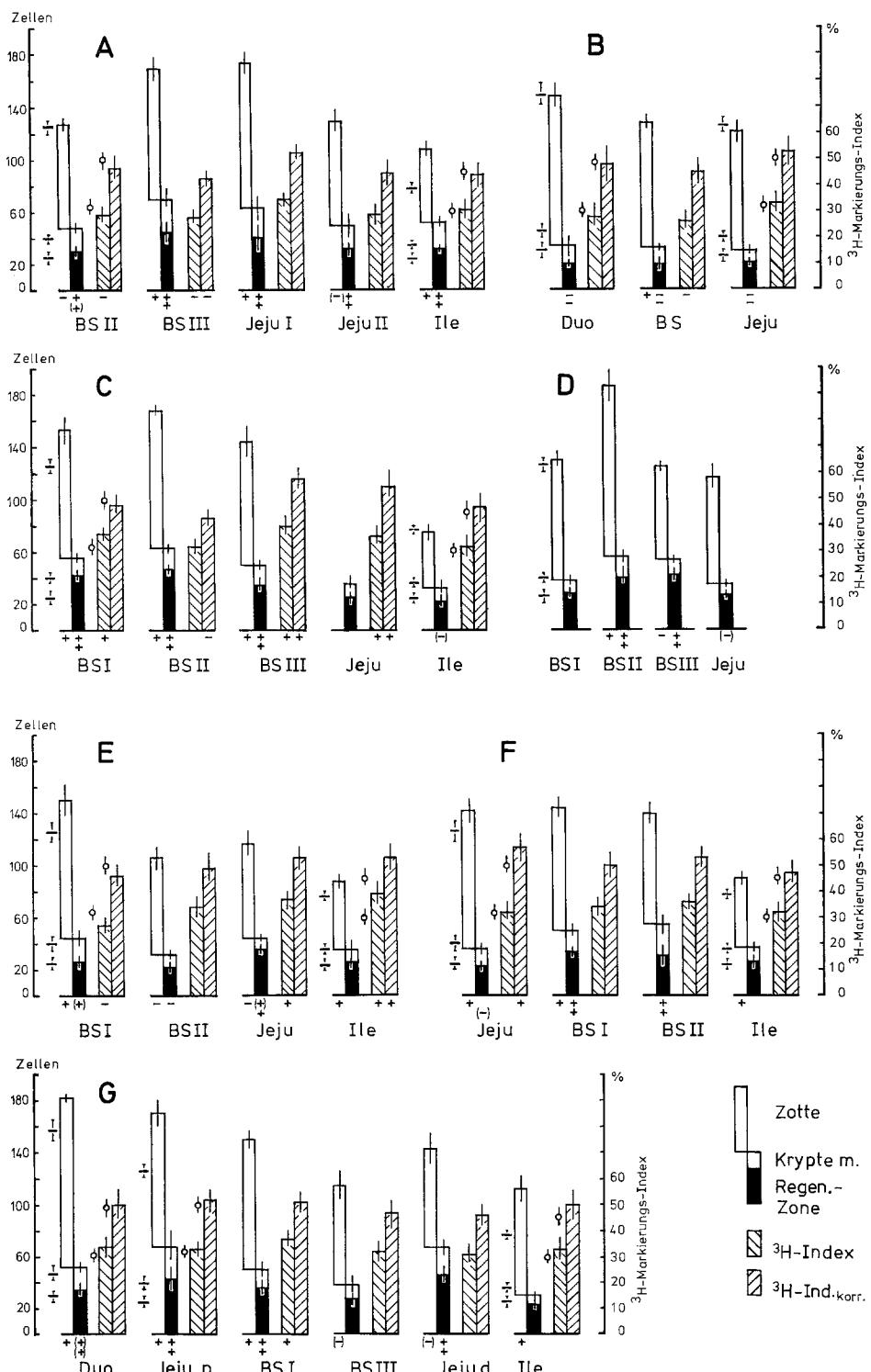


Abb. 6

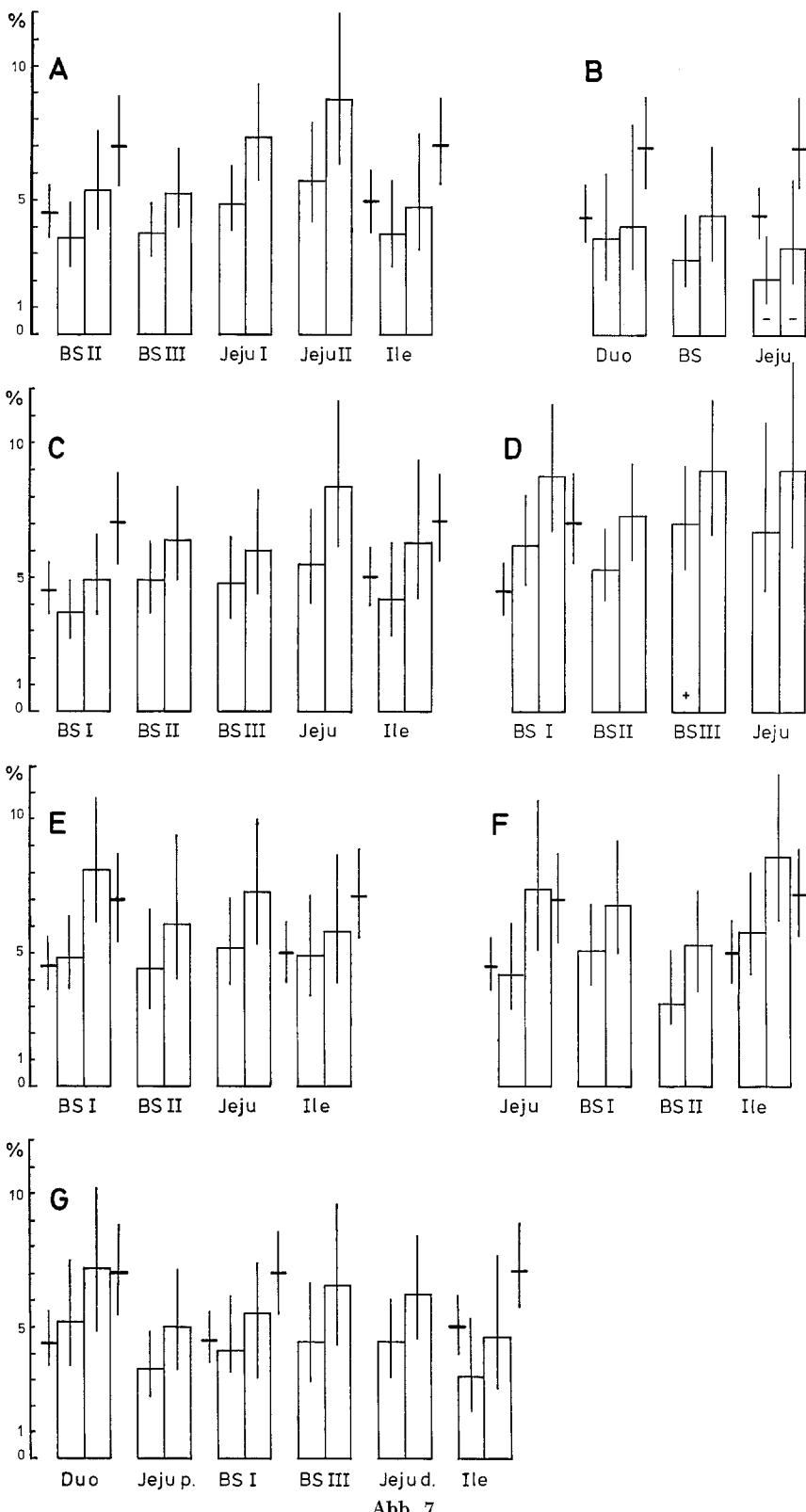


Abb. 7

Blindschlingen. Es ist bemerkenswert, daß die skizzierten Veränderungen bei dem Tier (B) mit einem kurzen Blindsack nicht zum Ausdruck kommen.

Eine Vortäuschung der durch Messung festgestellten Veränderungen durch Dilatations- oder Kontraktionsartefakte (Eder, 1969) kann dadurch ausgeschlossen werden, daß sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den untersuchten Darmabschnitten der BS-Tiere für die Umrechnung von Zellzahl in μ -Werte der gleiche mittlere Faktor von etwa 6,5 ermittelt wurde.

Die Regenerationszone nimmt bei den Kontrolltieren in allen Dünndarmabschnitten die unteren 60—65 % der Krypten ein, wobei die durch Messung ermittelten Werte etwas niedriger liegen als die durch Zellzählung gewonnenen (Tabelle). In den hyperplastischen Schleimhautbezirken kommt mit Verlängerung der Krypten in der Regel eine proportionale, jedoch z. T. auch überschießende Verbreiterung der Regenerationszone zum Ausdruck (Tabelle). Ihre aus allen BS-Abschnitten gemittelte Höhe liegt bei 69 % gegenüber 64 % im Kontrolljejunum. Bei der Auswertung der Autoradiogramme wurde davon ausgegangen, daß nur eine während der prämitotischen DNS-Synthesephase erfolgte ^3H -Thymidin-Markierung erfaßt wird (Löhrs u. Mitarb., 1969). Für die Analyse der Proliferationskinetik stellt der korrigierte ^3H - und Mitose-Index einen genaueren Indikator dar als der einfache Index, weil bei dem einfachen Index der obere, nicht mehr zur Regenerationszone gehörende Anteil von normalerweise 35 % der Kryptenpopulation in die Berechnung mit einbezogen wird. So zeigt der einfache ^3H -Index hier in mehreren Abschnitten eine statistisch signifikante Abweichung von den Kontrollwerten, die nicht auf einer zeitlichen Änderung im Generationszyklus der regenerierenden Zellen, sondern nur auf einer gegenüber normalen Verhältnissen unproportionalen Größenänderung der Regenerationszone in der Kryptenberuh (z. B. A, BS II; B, BS; C, BS I; E, Jeju; G, BS I). Der korrigierte ^3H -Index als genauerer Indikator für Änderungen im zeitlichen Ablauf des mittleren Generationszyklus in der Regenerationspopulation weist nur in wenigen Fällen statistisch signifikante Abweichungen auf (Abb. 6). Dabei waren die vermuteten zeitlichen Abweichungen im Generationszyklus aber offenbar nicht groß genug, um die Mitoseaktivität statistisch signifikant zu beeinflussen (Abb. 7).

Die bei 2 Tieren zur groben Orientierung (A und E) mit dem ^3H -Tdr.-Doppelmarkierungsverfahren ermittelte Dauer der prämitotischen DNS-Synthesephase (T_s) betrug in allen untersuchten Abschnitten der beiden Tiere zwischen 6,5 und 8,3 Std. Diese Zeiten liegen, verglichen mit den von Pilgrim und Maurer, 1965; Cairnie u. Mitarb., 1965 angegebenen Werten, im Normbereich. Nach der Formel

$$T_c = \frac{T_s}{^3\text{H}-\text{Ind. korrig.}}$$

wurden daraus Generationszeiten zwischen 12 und 19 Std errechnet. Demgegenüber ermittelten Cairnie u. Mitarb., allerdings mit dem genaueren Prozent-markierte-Mitosen-Verfahren, eine Normaldauer von 10 Std. Eine sichere Aussage über eine tatsächliche Verlängerung des Generationszyklus kann bei Fehlen eigener Kontrollen aus unserem Ergebnis nicht abgeleitet werden. Dennoch unterstreicht die Tatsache, daß die längste Generationszeit von 19 Std

Abb. 7. Einfacher (links) und korrigierter Mitose-Index mit 95 %-Vertrauengrenzen. Angabe einer statistisch signifikanten Abweichung ($p \leq 0,05$) durch Plus- und Minus-Zeichen. + Kontrollwert mit 95 %-Vertrauengrenzen

für denjenigen BS-Abschnitt (A, BS III) errechnet wurde, in dem der korrigierte ${}^3\text{H}$ -Index signifikant erniedrigt war, die Bedeutung des korrigierten ${}^3\text{H}$ -Index als indirektem Parameter für Änderungen im Generationszyklus. Bei normaler T_s -Dauer kann von einer statistisch signifikanten Erniedrigung des korrigierten ${}^3\text{H}$ -Index auf eine Verlängerung und von einer signifikanten Erhöhung auf eine Verkürzung der präsynthetischen Ruhephase (G_1) geschlossen werden, wenn man entsprechend vielen anderen Untersuchungen (vgl. Schultze, 1968, 1969) voraussetzt, daß die Dauer der Mitose und der prämitotischen G_2 -Phase annähernd konstant geblieben ist.

Zusammenfassend ergeben sich hier nur vereinzelt Hinweise (vgl. Abb. 6), daß die Regulation eines von der Norm abweichenden Zellumsatzes in der Dünndarmschleimhaut durch Veränderungen im zeitlichen Ablauf des Generationszyklus erfolgt ist. Im Vordergrund steht vielmehr eine Größenänderung der Regenerationszone, die sich in den hyperplastischen Schleimhautschnitten teilweise sogar überschießend verbreitert hatte.

Diskussion

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Untersuchung ist die ausgeprägte Tendenz zur Schleimhauthyperplasie in den Blindschlingen und in den übrigen Dünndarmabschnitten sowie der herdförmig hochgradige Schleimhautumbau.

Während generalisierte Schädigungen der Darmschleimhaut bzw. Störungen ihrer Proliferationskinetik im gesamten Dünndarm eine gleichartige morphologische Reaktion hervorrufen, wie z. T. in eigenen Untersuchungen nach Applikation von Cytostatica (Eder u. Löhrs, 1965; Eder u. Mitarb., 1966), nach Nahrungsentzug (Wiebecke u. Mitarb., 1969), in der Urämie (Castrup u. Mitarb., 1970) sowie bei anderen Noxen (Übersicht Collins, 1963; Eder, 1966, 1969) gezeigt werden konnte, wies die Dünndarmschleimhaut vornehmlich innerhalb der selbstfüllenden BS ein stark wechselndes histologisches Bild auf. In den Endabschnitten der selbstfüllenden Blindschlingen war die Schleimhautarchitektur herdförmig am stärksten verändert. Hier war stellenweise eine subtotale Atrophie der umgestalteten Zottenregion (Abb. 4a) mit Ausfall der alkalischen Bürstensaumphosphatase und einer Verbreiterung der Krypten mit vermehrter Mitoseaktivität im Sinne einer hyperregeneratorischen Atrophie (Riecken u. Mitarb., 1969) entwickelt, ähnlich wie bei der nicht-tropischen Sprue, wie in Übereinstimmung mit anderen Autoren (vgl. Eder, 1969) auch eigene Untersuchungen (Löhrs u. Mitarb., 1969) zeigten. Dagegen wiesen die selbstentleerenden Blindschlingen in ihren Endabschnitten herdförmig eine einfache Atrophie der Schleimhaut, besonders der Zotten auf. Sonst waren zwischen den isoperistaltischen und den antiperistaltischen BS sowie der einen, durch Spontanperforation entstandenen Zirkulationsschlinge zwar keine grundsätzlichen, aber insofern graduelle Unterschiede festzustellen, als Schleimhautumbau und -hyperplasie in den selbstentleerenden BS schwächer waren.

Zur Beantwortung der Frage nach der Ursache des beobachteten Schleimhautumbaus und der Hyperplasie, die bisher nur von Panish (1963) vermutet wurde, müssen außer den hier vorliegenden Ergebnissen auch die bis jetzt bekannt gewordenen Untersuchungen über die Einflüsse auf die physiologische Epithelregeneration in Dünndarm berücksichtigt werden.

Aus der Analyse der proliferationskinetischen Veränderungen resultiert, daß in der hyperplastischen Schleimhaut der vermehrte Zellbedarf vorwiegend durch Verbreiterung der Regenerationszone gedeckt wurde. Es zeigt sich dabei, daß die

Differenzierung der aus der Regenerationspopulation auswandernden Epithelzellen auch dann offenbar nicht abrupt, sondern bei Durchwanderung des oberen Kryptendrittels bzw. -viertels erfolgte; d. h., mit Ausdehnung der Regenerationszone nahm auch die Kryptentiefe zu. Vereinzelt ergeben sich darüber hinaus Hinweise auf Änderungen im zeitlichen Ablauf des Generationszyklus der proliferierenden Zellen.

Die bisher bekannt gewordenen Untersuchungen über die Faktoren, die die Wachstumsregulation der Dünndarmschleimhaut beeinflussen, erhalten im Hinblick auf die hier vorliegenden Veränderungen unterschiedliches Gewicht. So erscheint es fraglich, daß die gestörte Motilität bzw. Peristaltik (Stevens Hooper, 1956) der Blindschlingen, evtl. auch durch Beteiligung nervaler Faktoren (Dupont u. Mitarb., 1965) eine Rolle gespielt hat. Eine wesentliche Rolle kommt wahrscheinlich bakteriellen Faktoren zu. So fanden Gordon und Bruckner-Kardos (1961) in keimfreien Ratten eine um 30% verminderte Oberfläche der Schleimhaut im Dünndarm. Andere Autoren (Abrams u. Mitarb., 1963; Lesher u. Mitarb., 1964) stellten in keimfreien Mäusen in unterschiedlichen Dünndarmabschnitten eine bis auf das Doppelte verlängerte Zellersatzzeit und eine Verlängerung des Generationszyklus und seiner Teilphasen fest (Lesher u. Mitarb., 1964). Diese Befunde sind deshalb wichtig, weil beim BS-Syndrom eine Kontamination des Dünndarms mit einer unphysiologischen Bakterienflora die Regel ist. In Übereinstimmung mit den vorhandenen Literaturangaben konnten auch wir keinen Anhalt für eine generalisierte Epithelschädigung gewinnen.

Trotz des Fehlens eigener bakteriologischer Untersuchungen kann in Anlehnung an Ergebnisse von Bishop (1962) und Panish (1963) auch bei den von uns untersuchten BS-Ratten eine unphysiologische Bakterienflora angenommen werden. Es ergibt sich allerdings insofern eine gewisse Unklarheit, als Bishop bei Ratten — im Gegensatz zu Hunden — nur in selbstfüllenden Blindschlingen, nicht aber wie Panish auch in anderen Dünndarmabschnitten eine unphysiologische Bakterienausbreitung nachweisen konnte. Im Hinblick darauf ist es auffällig, daß wir sowohl in den selbstentleerenden BS als auch in anderen Dünndarmanteilen eine hyperplastische Schleimhaut beobachteten. Es muß daher angenommen werden, daß sich auch dort eine unphysiologische Bakterienflora ausgebreitet hatte oder noch andere, das Schleimhautwachstum stimulierende Faktoren in Betracht kommen. So wurde auf Grund von Befunden nach experimenteller Dünndarmobstruktion (Williams u. Mitarb., 1968), bei Parabioseversuchen (Loran u. Mitarb., 1964) und nach partieller Dünndarmresektion (Loran u. Althausen, 1960; Loran u. Crocker, 1963; Knudtson u. Mitarb., 1962; Skala u. Mitarb., 1969) ein hormonartiger Stoff als Regenerationsstimulans postuliert. Dowling (1967) führte die nach Dünndarmresektion und Transposition von Ileum und Jejunum beobachtete Zunahme der Schleimhautoberfläche auf eine direkte Einwirkung des Nahrungsangebots auf die Schleimhaut zurück.

Für die Interpretation des beobachteten Schleimhautumbaus sind die Befunde von Chacko u. Mitarb. (1967) interessant. Diese Autoren stellten in einer lupenmikroskopischen Untersuchung ausgeschalteter Dünndarmschlingen bei der Ratte fest, daß der normalerweise im oberen Dünndarm mit zunehmendem Alter (Baker u. Mitarb., 1963) stattfindende Schleimhautumbau mit brücken- und kammartigen Strukturen im dreidimensionalen Lupenbild, der auch beim

Menschen unter verschiedenen Bedingungen beobachtet wurde (Townley u. Mitarb., 1964; Loehry u. Creamer, 1969), in der isolierten Schlinge deutlich verzögert war. Als Ursache dafür wurde der fehlende Kontakt mit dem Darminhalt angesehen.

Insgesamt ergeben sich damit am ehesten Argumente für die Annahme, daß die Entstehung sowohl der Schleimhauthyperplasie als auch des in den Blindschlingen beobachteten Schleimhautumbaus mit bakteriellen bzw. vom Darminhalt ausgehenden Faktoren zusammenhängt.

Literatur

- Abrams, G. D., Bauer, H., Sprinz, H.: Influence of the normal flora on mucosal morphology and cellular renewal in the ileum. *Lab. Invest.* **12**, 355—364 (1963).
- Badenoch, J.: The blind loop syndrome. In: *The small intestine*, p. 47—55. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1965.
- Baker, S. J., Mathan, V. I., Cherian, V.: The nature of the villi in the small intestine of the rat. *Lancet* **1963 I**, 860.
- Barka, T., Anderson, P. J.: *Histochemistry*. New York-Evanstone-London: Harper & Row 1963.
- Becker, V.: Pathomorphologie und Pathogenese der Malabsorption. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **53**, 10—45 (1969).
- Bishop, Ruth, F.: Bacterial flora of the small intestine of dogs and rats with intestinal blind loops. *Brit. J. exp. Path.* **44**, 189—198 (1963).
- Booth, C. C., Tabaqchali, S., Mollin, D. L.: Comparison of stagnant-loop-syndrome with chronic tropical sprue. *Amer. J. clin. Nutr.* **21**, 1097—1109 (1968).
- Cairnie, A. B., Lamerton, L. F., Steel, G. G.: Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat. I. Determination of the kinetic parameters. *Exp. Cell Res.* **39**, 528—538 (1965).
- Castrup, H. J., Löhrs, U., Eder, M.: Zur Entstehung der Darmschleimhautveränderungen bei Urämie. *Klin. Wschr.* **48**, 244—245 (1969).
- — — Autoradiographische und histochemische Untersuchung zur Entstehung der sog. urämischen Enterocolitis. *Virchows Arch. Abt. A Zellpath.* **349**, 357—367 (1970).
- Chacko, C. J. G., Mathan, V. I., Baker, S. J.: Changes in the mucosal pattern of isolated loops of jejunum. *Brit. J. exp. Path.* **49**, 40—43 (1968).
- Cihak, R. J., Keynes, W. M., Schiller, K. F. R.: Gluten-induced enteropathy and stagnant-loop-syndrome in the same patient. *Ann. Surg.* **169**, 429—436 (1969).
- Collins, J. R.: Small intestinal mucosal damage with villous atrophy. *Amer. J. clin. Path.* **44**, 36—44 (1963).
- Demling, L.: Pathophysiologie und Klinik des Malabsorptions-Syndroms. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **53**, 1—10 (1969).
- Donaldson, R. M.: Studies on the pathogenesis of the steatorrhea in blind loop syndrome. *J. clin. Invest.* **44**, 1815—1825 (1965).
- Corrigan, Helen, Natsios, G.: Malabsorption of Co⁶⁰-Cyanocobalamin in rats with intestinal diverticula. II. Studies on the contents of the diverticula. *Gastroenterology* **43**, 282—290 (1962).
- Dowling, R. H.: Compensatory changes in intestinal absorption. *Brit. med. Bull.* **23**, 275—278 (1967).
- Dupont, J. R., Biggers, D. C., Sprinz, H.: Intestinal renewal and immunosympathectomie. *Arch. Path.* **80**, 357—372 (1965).
- Eder, M.: Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **50**, 75—90 (1966).
- Die Bedeutung des „Turnover“ von Epithelersatz und -differenzierung für die Orthologie und Pathologie der Dünndarmfunktion. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **53**, 45—55 (1969).
- Löhrs, U.: Experimentelle Regenerationsstörungen der Darmschleimhaut. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **210**, 202—216 (1965).
- Rostock, H., Vogel, G.: Die Wirkung von Folsäureantagonisten (Methotrexat) auf die Regeneration der Darmschleimhaut. *Virchows Arch. path. Anat.* **341**, 164—176 (1966).
- Ellis, H., Smith, A. D. M.: The blind-loop-syndrome. *Monogr. surg. Sci.* **4**, 193—215 (1967).

- Goldstein, F., Wirts, C. W., Salen, G., Mandle, R. J.: Diverticulosis of the small intestine. Amer. J. dig. Dis. **14**, 170—181 (1969).
- Gordon, H. A., Bruckner-Kardos, E.: Effect of normal and microbial flora on intestinal surface area. Amer. J. Physiol. **201**, 175—178 (1961).
- Jeffries, G. H., Weser, E., Slesinger, M. H.: Malabsorption. Gastroenterology **46**, 434—466 (1964).
- Jones, E. A., Craigie, A., Tavill, A. S., Franglen, G., Rosenoer, V. M.: Protein metabolism in the intestinal stagnant loop syndrome. Gut **9**, 466—469 (1968).
- Knauer, M., Svoboda, A. C.: Malabsorption and jejunal diverticulosis. Amer. J. Med. **44**, 606—610 (1968).
- Knudtson, K., Priest, R. E., Jacklin, A. J., Jessep, J. E.: Effects of partial resection on mammalian small intestine. I. Initial autoradiographic studies in the dog. Lab. Invest. **11**, 433—439 (1962).
- Lesher, S., Walburg, H. E., Sacher, G. A.: Generation cycle in the duodenal crypt cells of germfree and conventional mice. Nature (Lond.) **202**, 884—886 (1964).
- Löhrs, U., Wiebecke, B., Eder, M.: Untersuchungen zur Aussagefähigkeit der Histoautoradiographie mit ³H-Thymidin am Dünndarmepithel. Histochemistry **18**, 157—163 (1969).
— — — Unveröffentlicht, zit. bei Eder 1969.
- Loehry, C. A., Creamer, B.: Three-dimensional structure of the small intestinal mucosa in health and disease. Gut **10**, 6—12 (1969).
- Loran, M. R., Crocker, T. T., Carbone, I. V.: The humoral effect of intestinal resection on cellular proliferation and maturation in parabiotic rats. Fed. Proc. **23**, 407 (1964).
- Loran, T. R., Althausen, T. L.: Cellular proliferation of intestinal epithelia in the rat two month after partial resection of the ileum. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 667—671 (1960).
— Crocker, T. T.: Population dynamics of intestinal epithelia in the rat two months after partial resection of the ileum. J. Cell Biol. **19**, 285—291 (1963).
- Morson, B. C.: The small intestine. In: Systemic pathology (eds. C. P. Wright and W. St. Clair Symmers. London: Longman, Green & Co., Ltd. 1966).
- Panish, J. F.: Experimental blind loop steatorrhea. Gastroenterology **45**, 394—399 (1963).
- Pilgrim, Ch., Maurer, W.: Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS-Verdopplungsduer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit H-3- und C-14-Thymidin. Exp. Cell Res. **37**, 183—199 (1965).
- Riecken, E. O., Rosenbaum, R., Bloch, R., Menge, H., Ritt, E., Aslan, M., Dölle, W.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Spezifität der Dünndarmschleimhautveränderungen bei der einheimischen Sprue. Klin. Wschr. **47**, 202—214 (1969).
- Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Schäfer, H. E., Fischer, R.: Eine spezifische Färbung eosinophiler Granulozyten mit Biebricher Scharlach. Klin. Wschr. **46**, 396—397 (1968).
- Schultze, Brigitte: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Bd. 2, Teil 5, S. 466. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Autoradiography at the cellular level. In: Physical techniques in biological research, vol. III, part B, ed. by A. W. Pollister. New York-London: Academic Press 1969.
- Skála, I., Hromádkova, V., Skála, J.: Hypertrophy of the small intestine after its partial resection in the rat. — Size of the mucosal surface. Digestion **2**, 23—34 (1969).
- Stevens Hooper, C. E.: Cell turnover in epithelial populations. J. Histochem. Cytochem. **4**, 531—540 (1956).
- Townley, R. R. W., Cass, M. H., Anderson, Charlotte M.: Small intestinal mucosal patterns of coeliac disease seen in other situations. Gut **5**, 51—55 (1964).
- Wiebecke, B., Heybowitz, R., Löhrs, U., Eder, M.: Der Einfluß des Hungers auf die Proliferationskinetik der Dünnd- und Dickdarmschleimhaut der Maus. Virchows Arch. Abt. B, Zellpath. **4**, 164—175 (1969).
- Williams, J. P. G., Edwards, R., Williams, R. D.: Mitotic activity in intestinal obstruction. J. Cell Biol. **39**, 142a (1968).

Dr. U. Löhrs, Dr. B. Wiebecke, Dr. H. J. Castrup
Pathologisches Institut der Universität Köln
D-5 Köln 41, Josef-Stelzmann-Str. 9