

Die Wundheilung nach Kryonekrose an der Niere

Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin an Ratten*

B. Helpap, H. Breining, A. Minderjahn und S. Lymberopoulos

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. P. Gedigk) und Abteilungen für Pathologie (Vorstand: Prof. Dr. J. Schoenmackers) sowie für Urologie (Vorstand: Prof. Dr. W. Lutzeyer) der Medizinischen Fakultät an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

Eingegangen am 1. Februar 1974

Wound Healing of Kidney after Cryonecrosis

Autoradiographic Investigations with ^3H -Thymidine on Rats

Summary. Histological and autoradiographic studies were performed to investigate the proliferative — reparative actions during wound healing in kidneys with cryonecrosis. The kidney parenchyma of 27 Wistar-rats was frozen for 30 sec. with a cryoscalpel at a temperature of -186°C . The survival time ranged between 12 hours and 30 days. One hour before decapitation ^3H -thymidine (3.0 $\mu\text{C}/\text{gr}$ body weight) was injected intraperitoneally. The autoradiograms (stripping film) were stained with haematoxylin.

12 hours after freezing the cryonecrosis is completely developed but without leucocytic demarcation. In the following 5–10 days, cryonecrosis is organized rapidly by proliferating fibroblasts. After the 5th day the cryonecrotic area shows a pronounced calcification of necrotic tubuli. After 4 weeks the reparation of the cryolesion is finished; a small scar is visible. The reparative-regenerative activity of the kidney parenchyma is limited to a small 300 μ wide tissue area surrounding the cryonecrosis. The labeling index of the tubulus epithelia shows a maximum after 48 hours. The mesenchymal cells in the surrounding area and the fibroblasts within the cryonecrosis have their highest values between the 2nd and 3rd postoperative day. After 14 days the labeling indices are very low. 30 days after freezing there are no differences between the labeling indices in frozen, nonfrozen parts of the formerly injured kidney and the contralateral organ.

These results are comparable to the cell proliferative activity in cryonecrotical liver and spleen; they underline the rapid repair of cryonecrosis without any functional lesions of the organ. But in contrast to the puncture of the kidney, the parenchymal loss after freezing induces cell proliferation in the contralateral organ during the 2nd and 10th day.

Für die organerhaltende Nierenchirurgie hat die Anwendung extrem tiefer Temperaturen durch ihre gute Gewebsverträglichkeit, den hämostatischen Effekt auf die Capillarblutung und durch die Steuerbarkeit der Kälteschädigung in den letzten Jahren eine zunehmende Bedeutung gewonnen (Übersicht bei Lymberopoulos, 1970). Histologische Verlaufskontrollen haben gezeigt, daß umschriebene Kryoläsionen an der Niere und an der Leber sehr rasch narbig abheilen (Buss, 1969; Breining *et al.*, 1970, 1972; Helpap *et al.*, 1973). Zellkinetische Untersuchungen wurden jedoch bislang an kryonekrotisch geschädigten Nieren noch nicht durchgeführt. Wir haben daher mit der ^3H -Thymidin-Autoradiographie geprüft, in welchem Maße reparativ-regeneratorische Vorgänge im Nierenparenchym nach umschriebener Vereisung ablaufen und ob Übereinstimmungen mit den zellkine-

*Mit Unterstützung des Landesamtes für Forschung Nordrhein-Westfalen in Düsseldorf.



Abb. 1. Komplette Kryonekrose der Niere 24 Std nach Vereisung. $50 \times$ HE

tischen Ergebnissen nach mechanischen und thermischen Schädigungen an der Leber vorliegen (Helpap *et al.*, 1970, 1972 a, b, 1973 a, b).

Methodik

In Äthernarkose wurden bei 27 Wistaratten (Gewicht 180 g) nach Eröffnung des Bauchraumes mit einem Kryoskalpell an einer Niere lokale Vereisungen in einem Durchmesser von ca 4 mm (-186° C, 30 sec) durchgeführt s. auch Breining *et al.* (1970). Die Überlebenszeiten der Tiere betrugen 12 und 18 Std sowie 1, 2, 3, 5, 10, 14 und 30 Tage. Jeweils 1 Std vor der Tötung erhielten diese Tiere und zusätzlich drei Kontrolltiere eine intraperitoneale Injektion von 3 H-Thymidin (3,0 μ C/g Körpergewicht, spezif. Aktivität 2,0 C/m Mol, NEN Chemicals, Boston, Mass. USA).

Die Organe wurden in 6% Formalin unter Zusatz von inaktivem Thymidin (0,1 mg/ml) für 24 Std fixiert. Nach Wässerung und Einbettung in Paraffin wurden von 5 μ dicken Schnitten Strippingfilm-Autoradiogramme (Kodak, AR 10) angefertigt. Die Expositionszeiten bei 4° C betrugen im Durchschnitt 19 Tage. In den Haematoxylin gefärbten Autoradiogrammen wurden die Prozentsätze der radioaktiv markierten Tubulusepithelien und der mesenchymalen Zellen in unmittelbarer Nachbarschaft der Kryonekrose in einer bis 300 μ breiten Zone bzw. im Granulations- und Narbengewebe sowie in den weit entfernt von der Vereisungszone liegenden nicht gefrorenen Parenchymabschnitten und in der kontralateralen nicht geschädigten Niere bestimmt. Auf eine getrennte Auswertung der Tubulusepithelien im Stratum labyrinthicum und subcorticale sowie in der Zona intermedia und basalis (Stöcker, 1966) im Bereich

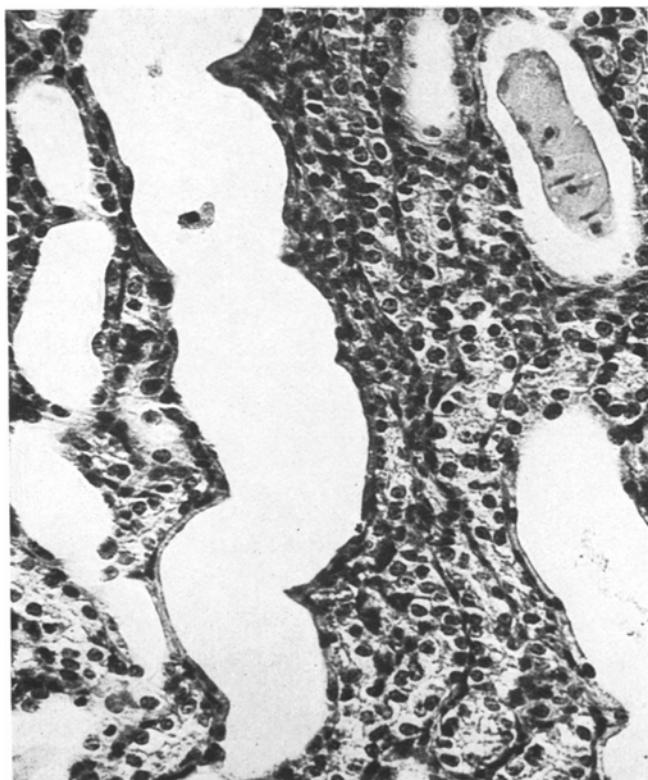


Abb. 2. Nephrohydrose der Tubuli in Nähe der Kryoschädigung

der direkten Schädigungszone mußte verzichtet werden, da die reparativ-regeneratorischen Parenchymabschnitte hier außerordentlich schmal waren und die kryonekrotischen Bezirke von der Lokalisation her variierten.

Ergebnisse

Histologische Befunde

Ähnlich wie in der Leber bildet sich auch in der Rattenniere 12 Std nach der Vereisung eine keilförmige von der Rinde bis tief in das Mark hineinreichende Nekrosezone aus, in der nur noch schattenhaft glomeruläre und tubuläre Strukturen erkennbar sind (Abb. 1). Auf die reaktionslose Nekrosezone folgen zum Mark hin ausgedehnte frische Hämorrhagien. Zwischen diesen hämorrhagischen Zonen und dem unveränderten Parenchym trifft man auf einen schmalen Saum nephrohydrotischer Tubuli, der mit zunehmender Versuchszeit breiter wird (Abb. 2). Nach 24 Std treten einzelne polymorphkernige Leukocyten auf. Eine eigentlich leukocytäre Demarkation entwickelt sich jedoch auch zu späteren Versuchszeiten nicht. Am 2. Versuchstag sind bereits fibroblastäre Zellen am Rande der Nekrose sichtbar. Die Tubulusepithelien in der bis 300μ breiten Parenchymzone am Rande der Nekrose sind erheblich geschwollen. Vielfach sind Mitosen sowie doppelker-

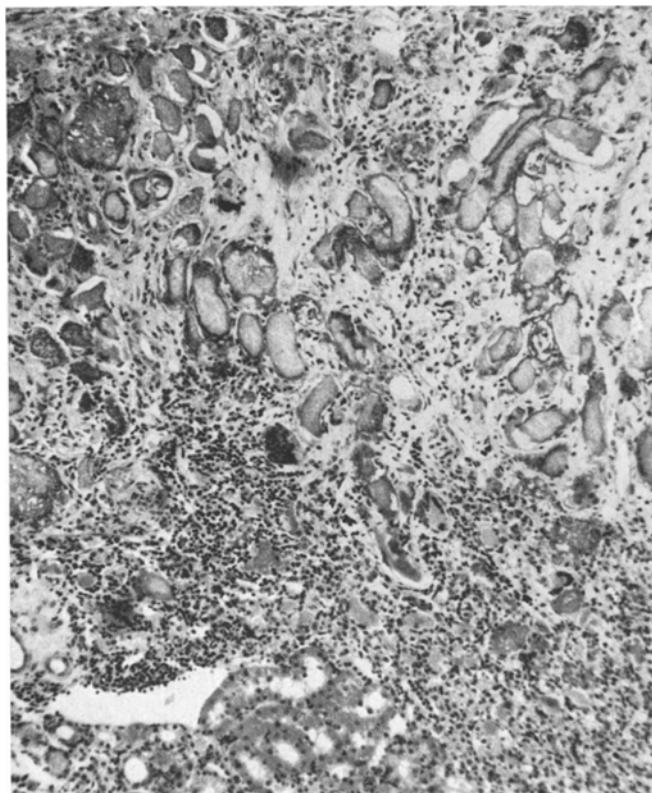


Abb. 3. Verkalkungen nekrotischer Tubuli in der Kryonekrose 10 Tage nach Vereisung.
32 × HE

nige Epithelregenerate zu beobachten. Nach 3 Tagen ist die Nierenkapsel über der Nekrose durch die Zunahme von Bindegewebszellen deutlich verbreitert. Am Nekroserand hat sich ein unterschiedlich breites Band von Wundfibroblasten gebildet, das nekrotische Tubulusepithelien und Glomerula ein- und umschließt. Die Mitoserate der nekrosenahen Epithelien ist erhöht und die Nephrohydrose reicht bis tief in das Mark (Abb. 4.).

Vom 5. Versuchstag an fallen deutliche Kalkablagerungen im Bereich der nekrotischen Tubulusabschnitte auf, die streckenweise von Rundzellen und mehrkernigen Fremdkörperriesenzellen umgeben werden (Abb. 3). Die Nekrosezone wird jetzt von einem leukocytären, jedoch fibroblastenreichen Granulationsgewebe weitgehend durchsetzt. Nach 2 Wochen ist die ehemalige Kryonekrose stark geschrumpft. Nach 4 Wochen liegt nur noch eine kleine von Kalksalzen imprägnierte faserreiche Narbe vor.

Autoradiographische Befunde

Nach Pulsmarkierung mit ^3H -Thymidin treten am Rande der Nekrosezone 12 Std nach der Vereisung die ersten radioaktiv markierten mesenchymalen

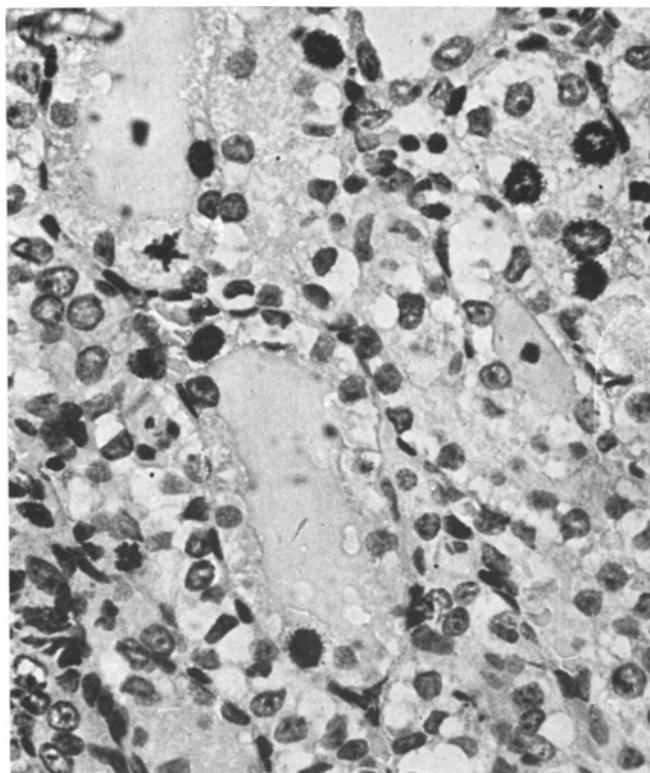


Abb. 4. Radioaktiv markierte Tubulusepithelien und eine Mitose in der 300 μ breiten Nierenrandzone an der Kryonekrose am 2. Versuchstag 196 \times Haematoxylin

Zellen auf. Zwischen dem 2. und 3. Versuchstag erreichen die Prozentsätze der markierten Zellen am Rande der Nekrose und im Interstitium der bis 300 μ breiten Parenchymzone ihre höchsten Werte (Abb. 5 a). Danach kommt es innerhalb der verschiedenen Zonen zu einem raschen Abfall der Markierungsindices. 14 Tage nach der Vereisung sind im Granulationsgewebe bzw. im Interstitium des angrenzenden Nierengewebes nur noch geringfügig erhöhte Proliferationswerte meßbar. Nach 30 Tagen entsprechen die Markierungsindices im Narbengewebe und in der 300 μ breiten Randzone Werten, die in den Nieren der Kontrolltiere erhoben werden konnten.

Einen ähnlichen Verlauf zeigen auch die Markierungsindices der Tubulusepithelien in der 300 μ breiten Parenchymzone (Abb. 4 und 5 b). Das Maximum der epithelialen Proliferation mit 20% liegt am 2. postoperativen Versuchstag. Zu diesem Zeitpunkt sieht man auch vermehrt markierte Glomerulumzellen. Nach 30 Tagen sind ebenso wie im Interstitium wieder Werte erreicht, die denen der Kontrolltiere ähneln. Außerdem ist aus den Verlaufskurven ersichtlich, daß bereits innerhalb der 300 μ breiten Zone die Markierungsindices von der ersten 100 μ breiten, der Nekrose am nächsten gelegenen Zone zur 200 bis 300 μ breiten zum

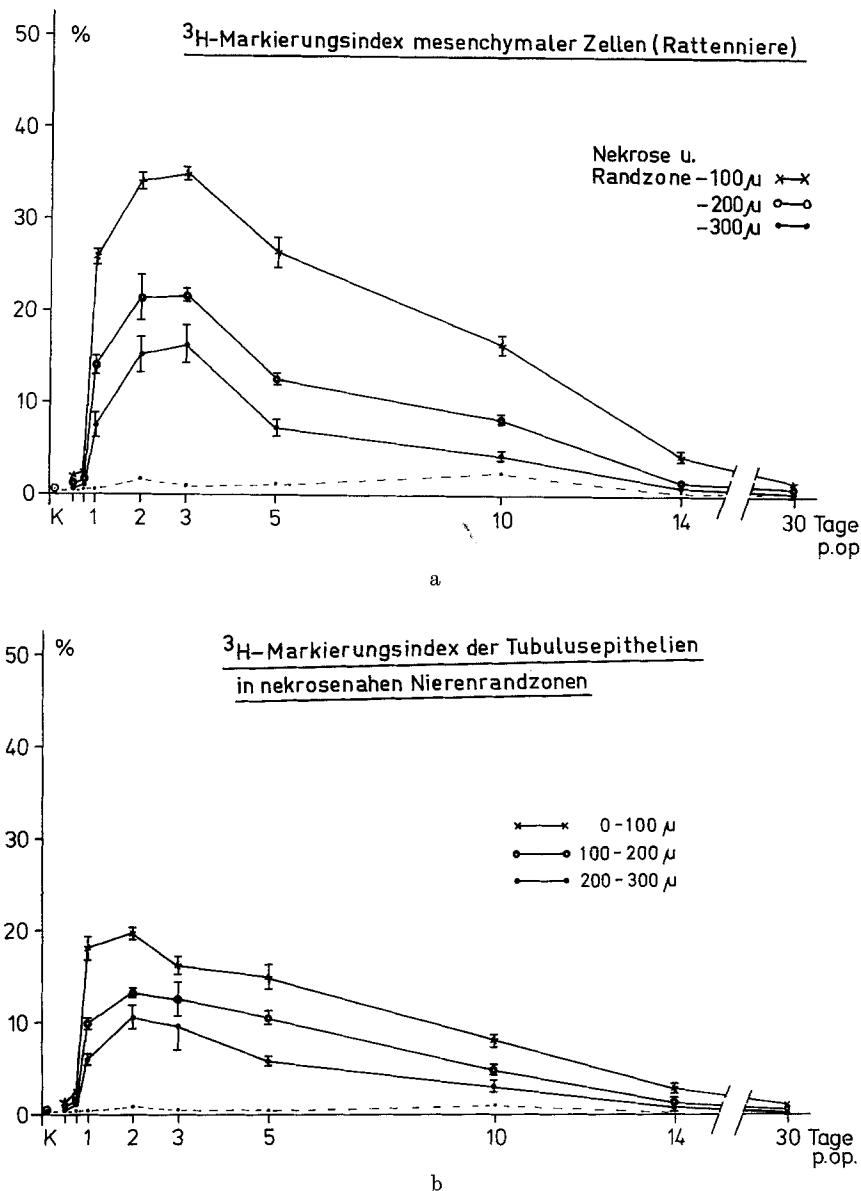


Abb. 5. a Zeitlicher Ablauf der Markierungsindices der Fibroblasten im Granulationsgewebe der Kryonekrose und der Zellen des Niereninterstitiums sowie b der Tubulusepithelien in der 300 μ breiten Randzone. ---- M.I. in den nicht vereisten Homolateralen und kontralateralen Nierenbezirken

unveränderten Parenchym hin gelegenen Zone abfallen. Das Verhältnis der Markierungsindices zum Mitoseindex verhält sich von minimalen Schwankungen abgesehen wie 10:1 (Abb. 6).

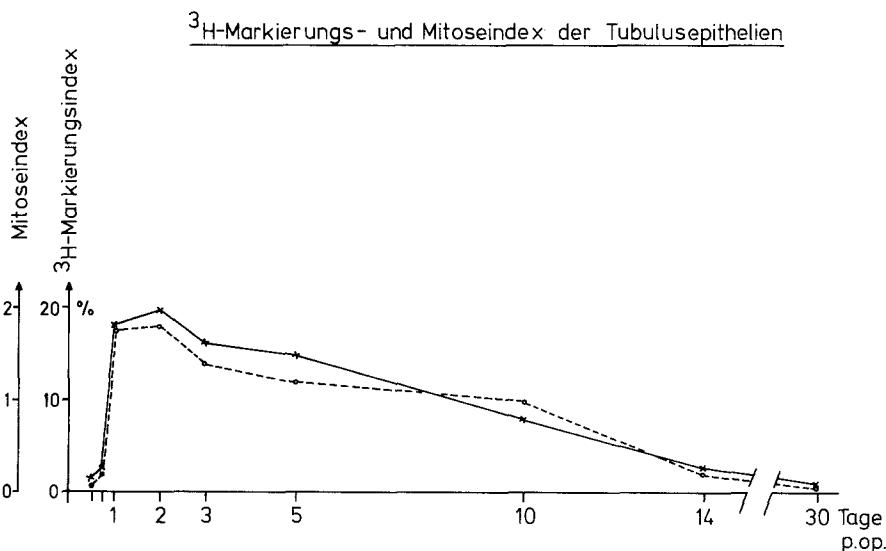


Abb. 6. Mitose und Markierungsindex der Tubulusepithelien in der Nierenrandzone unmittelbar an der Kryonekrose

In den weit von der Nekrosezone entfernten nicht vereisten Nierenabschnitten zeigen mesenchymale und epitheliale Zellen ebenfalls am 2. und am 10. postoperativen Versuchstag eine leichte Steigerung ihrer Zellproliferation, die jedoch fast 20mal geringer ist als in der $300\text{ }\mu$ breiten Randzone (Abb. 5 a und b). Auch in der nicht vereisten kontralateralen Niere sind am 2. und 10. postoperativen Versuchstag leichte Anstiege der Markierungsindices der Tubulusepithelien und interstitiellen Zellen in Rinde und Mark zu beobachten, die den Werten der Markierungsindices in den nicht vereisten homolateralen Nierenbezirken entsprechen.

Diskussion

Morphologische Veränderungen nach Kryoläsion der Ratteniere

Die histologischen Veränderungen nach Kryoläsionen an der Ratteniere entsprechen denen, wie sie an der Kaninchenniere beschrieben worden sind (Breining *et al.*, 1970). Charakteristisch ist die innerhalb von 3—4 Wochen stattfindende rasche narbige Abheilung der Kryonekrose und die Neigung zur Verkalkung. Derartige Kalkinkrustationen sind jedoch nicht kälte- wohl aber organspezifisch, da sie auch nach mechanischen und toxischen Schädigungen auftreten (Litzen, 1881; Müller, 1955; Drapper *et al.*, 1957; Miskalany und Gilbert, 1957; Noltenius *et al.*, 1963; Pieritz, 1967; Buss, 1969; Breining *et al.*, 1970; Reif *et al.*, 1972). In anderen Organen mit Kryoläsionen wie Leber, Milz, Magen und Darm werden derartige Verkalkungen nicht beobachtet (Cooper und Hirose, 1966; Hass und Taylor, 1948; Serra und Brunschwig, 1955; Stucke, 1966; Stucke und Ciroth, 1967; Stucke und Kahlert, 1969; Helpap *et al.*, 1973, 1974).

Im Gegensatz zur Leber und der Kaninchenniere kommt es in der Rattenniere nach lokaler Vereisung nicht zu einer wesentlichen leukocytären Demarkation der Kryonekrose. Auch das Granulationsgewebe ist relativ arm an Leukocyten. Ähnliche Befunde konnte auch Buss (1969) an der Rattenniere nach Trockeneis-Vereisung erheben. Ebenso ist keine Verflüssigungstendenz in der Nekrose zu beobachten, wie sie sich in der Leber um den 5. postoperativen Versuchstag entwickeln kann (Fraser und Gill, 1967; Helpap *et al.*, 1973). Das Ausmaß der Nephrohydrose, die sich in Nachbarschaft der Kryonekrose entwickelt und auf einen partiellen intrarenalen Abflußstop der teilweise zerstörten abführenden Tubulusschlinge zurückzuführen ist, ist im Gegensatz nach mechanischer Nierenschädigung z.B. nach Nierenpunktion weitaus geringer (Ditscherlein, 1966; Ditscherlein und Kranz, 1969).

Zur Gewebsregeneration und Reparation nach Vereisung

Die beschriebenen morphologischen und autoradiographischen Befunde nach lokaler Vereisung hängen wesentlich vom Kältegrad, von der Dauer der Vereisung, von der Geschwindigkeit der Temperatursenkung und von der Auftaugeschwindigkeit ab. Eine schnelle und tiefe Temperatursenkung sowie langsames Auftauen bewirken irreversible Zellschädigungen, die der homogenen Nukleation entsprechen (Meryman, 1966, 1960, 1968). Die in der 300 μ breiten Parenchymrandzone an der Nekrose zu beobachtenden regenerativen und reparativen Vorgänge sind mit der Zone der heterogenen Nukleation, d.h. dem Bezirk reversibler Zellschädigungen mit Erholungsvorgängen zu vereinbaren (Meryman, 1956, 1960, 1968; Breining *et al.*, 1970). Die zeitlichen Abläufe der epithelialen Proliferation an der Niere ähneln denjenigen, die an der kryogeschädigten Leber nachzuweisen sind (Helpap *et al.*, 1973). Auffallend ist, daß die Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Niere beträchtlich höher sind als die der Hepatocyten in der Leber. Dieser Intensitätsunterschied ist wahrscheinlich auf den vergleichsweise größeren Parenchymdefekt in der Niere zurückzuführen, wenn man die Gewichte bzw. Volumina von Leber (ca. 7,7 g/180 g Körpergewicht) und einer Niere (ca. 0,82 g/180 g Körpergewicht) (Cremer) bei fast gleichgroßer Nekroseausdehnung berücksichtigt. Auf die relativ hohe epitheliale Regeneration nach direkter mechanischer Schädigung im Vergleich zu einer kurzfristigen Ischämie, toxischen Schädigung oder unilateraler Nephrektomie haben bereits Kranz *et al.*, (1968) sowie Ditscherlein und Kranz (1969) hingewiesen (s. auch Podwyssozki, 1888). Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, daß diese hohen Markierungsindices epithelialer und mesenchymaler Zellen sich nach lokaler thermischer oder mechanischer Parenchymläsion in der Niere nur in einer schmalen der Nekrose benachbarten Gewebszone finden, während das übrige Parenchym weitaus geringer mitreagiert.

Die Proliferationsmaxima der Tubulusepithelien nach Kryoschädigung liegen ebenso wie nach mechanischen oder toxischen Veränderungen an Leber und Nieren zwischen dem 2. und 3. postoperativen Versuchstag (Cain und Fazekas, 1963/64; Klinge, 1964; Noltenius *et al.*, 1963, 1964, 1965; Hübner, 1966, 1967; Kranz *et al.*, 1968 Ditscherlein und Kranz, 1969; Helpap und Cremer, 1970, 1972; Helpap *et al.*, 1973). Markierungsindices und Mitoseindices zeigen dabei einen

gleichartigen Verlauf im Verhältnis 10:1 und unterstreichen die epitheliale mitotische Regenerationsleistung.

In dem nicht vereisten Parenchym der homolateralen und kontralateralen Niere fallen dabei am 2. und 10. postoperativen Versuchstag leichte Anstiege der Markierungsindices der Tubulus- und interstitiellen Zellen in Rinde und Mark auf, die mit den rhythmischen Proliferationswellen nach einseitiger Nephrektomie oder Ischämie in der Gegenniere vereinbar sind (Klinge, 1964; Hübner, 1966, 1967; Hübner und Selak, 1967). Der ausgefallene Bezirk nach Vereisung scheint somit zu einer kompensatorischen Gewebsreaktion in der nicht geschädigten kontralateralen Niere und in den erhaltenen Abschnitten der homolateralen Niere zu führen und ist in seiner Auswirkung deutlich stärker als z.B. der Parenchymverlust nach Nierenpunktion (Kranz *et al.*, 1968).

Nach 3—4 Wochen ist die epitheliale und mesenchymale Proliferationssteigerung in der Niere nach lokaler Vereisung weitgehend abgeschlossen und entspricht den Befunden an der Leber nach Kryoläsion.

Da die Vereisung im Zentrum, d.h. im Bereich der homogenen Nukleation zu irreversiblen Strukturschädigungen führt, ist eine vollständige epitheliale Wiederherstellung insbesondere von Nephronen nicht zu erwarten, sondern es kommt lediglich zu einer narbig-fibrösen Reparation. Das nicht vereiste Nierenparenchym lässt bei dieser thermischen Technik, die im klinischen Bereich bereits häufig z.B. bei Nierenpolresektionen angewandt wird, auch nach längeren Verlaufbeobachtungen keine funktionellen Störungen erkennen. Insbesondere sind beim Menschen röntgenologisch keine Verkalkungen im Parenchym der operierten Niere nachzuweisen (Lymberopoulos, 1970).

Fräulein Ursula Merkel und Fräulein G. Krumbeck danken wir für die technische Assistenz.

References

- Breining, H., Lymberopoulos, S., Langer, St.: Zur Morphologie des Nierenparenchyms nach lokaler Gefrierung. Beitr. Path. **142**, 71—89 (1970)
- Breining, H., Helpap, B., Lymberopoulos, S.: Die lokale Gewebsvereisung und ihre Abheilung an Leber und Niere. Dtsch. med. Wschr. **97**, 1519—1520 (1972)
- Buss, H.: Zum Verhalten der Rattenniere nach Trockeneis — Vereisung. Histologische und enzymhistochemische Untersuchungen. Virchows Arch. Abt. B **3**, 229—247 (1969)
- Cain, H., Fazekas, St.: Studien über die Folgen einer vorübergehenden experimentellen Nierenischämie. II. Die Restitutionsvorgänge an den Tubuli. Virchows Arch. **337**, 33—52 (1963/64)
- Cooper, I.S., Hirose, T.: Application of cryogenic surgery to resection of parenchymal organs. New Engl. J. Med. **274**, 15—18 (1966)
- Cremer, H.: Persönliche Mitteilung
- Ditscherlein, G.: Nephrohydrose als Folge der Nierenpunktion. Experimentelle Untersuchung an der Niere des gesunden Kaninchens. Frankfurt Z. Path. **75**, 306—316 (1966)
- Ditscherlein, G., Kranz, D.: Autoradiographische Befunde nach mechanisch bedingter Nephrohydrose der Ratte. Exp. Path. **3**, 1—13 (1969)
- Draper, J.W., Pearce, J.M., Lavengood, R.W., Jr.: Bone formation in experimental pyeloureteroneostomy. J. Urol. (Baltimore) **78**, 730—737 (1957)
- Fraser, J., Gill, W.: Observations on ultra-frozen tissue. Brit. J. surg. **54**, 770—776 (1967)
- Hass, G.M., Taylor, C.B.: A quantitative hypothermal method for the production of local injury of tissue. Arch. Path. **45**, 563—580 (1948)

- Helpap, B.: Pathologisch-anatomische Folgen der Leberkeilexcision. *Dtsch. med. Wschr.* **98**, 81—85 (1973)
- Helpap, B., Breining, H., Lymberopoulos, S.: Die Zellproliferation in der kryonekrotischen Leber. *Naturwissenschaften* **59**, 369 (1972)
- Helpap, B., Breining, H., Lymberopoulos, S.: Autoradiographische, histologische und histo-chemische Untersuchungen an der Rattenleber nach lokaler Gefrierung. *Beitr. Path.* **148**, 165—179 (1973)
- Helpap, B., Cremer, H.: Proliferationsvorgänge in der traumatisch geschädigten Leber. *Virchows Arch. Abt. B* **6**, 365—366 (1970)
- Helpap, B., Cremer, H.: Zellkinetische Untersuchungen zur Wundheilung der Mäuseleber. *Virchows Arch. Abt. B* **10**, 134—144 (1972)
- Helpap, B., Yamashita, K., Breining, H., Lymberopoulos, S.: Autoradiographische Unter- suchungen mit H-3-Thymidin an der Rattenmilz nach Kryonekrose. *Experientia* (im Druck)
- Hübner, K.: Experimentelle Untersuchungen über kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere. *Verh. dsch. Ges. Path.* **50**, 132—137 (1966)
- Hübner, K.: Kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **48**, 1—80 (1967)
- Hübner, K., Selak, I.: Histoautoradiographische Untersuchung über die Beteiligung des Niereninterstitium am Nierenwachstum. *Frankfurt Z. Path.* **77**, 98—106 (1967)
- Klinge, O.: Vergleichende Untersuchungen zur tubulären Zellvermehrung nach Ischämie und Ektomie der Gegenniere. *Beitr. path. Anat.* **130**, 352—368 (1964)
- Kranz, D., Ditscherlein, G., Kunz, J.: Autoradiographische Untersuchungen zur Wundhei- lung nach Nierenpunktion der Ratte. *Beitr. path. Anat.* **137**, 51—64 (1968)
- Litten, M.: Über pathologische Verkalkungen und Kalkmetastasen in den Nieren. *Virchows Arch. path. Anat.* **83**, 508—547 (1881)
- Lymberopoulos, S.: Kryochirurgie parenchymatöser Organe insbesondere der Niere in Experi- ment und Klinik. *Habil.-Schrift, Aachen* (1970)
- Lymberopoulos, S., Lutzeyer, W., Breining, H.: Die Kryochirurgie der Niere. II. Der nahtlose kryochirurgische Nierenparenchymeingriff ohne Nierenstielabklemmung. *Urologe* **8**, 156—164 (1969)
- Meryman, H.T.: Mechanics of freezing in living cells and tissues. *Science* **124**, 515—521 (1956)
- Meryman, H.T.: The mechanisms of freezing in biological systems. In: A.S. Parkes and A.U. Smith, *Recent research in freezing and drying*, p. 23—39. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960
- Meryman, H.T.: Modified model for the mechanism of freezing injury in erythrocytes. *Nature (Lond.)* **218**, 333—340 (1968)
- Mishalany, H.G., Gilbert, D.R.: Benign ossified lesion of the kidney. Report of a case resem- bling a hydatid cyst. *J. Urol. (Baltimore)* **78**, 330—336 (1957)
- Müller, E.: In *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II/1. Berlin-Heidelberg-Göttingen: Springer 1955
- Noltenius, H., Achenbach, H., Oehlert, W., Schellhas, H.: Experimentelle Nierenvergrößerung nach unilateraler Nephrektomie bei Ratten. Untersuchungen mit H-3-Thymidin. *Beitr. path. Anat.* **132**, 220—240 (1965)
- Noltenius, H., Schellhas, H.: Hyperplasie und Regeneration des Nierenparenchyms nach Nephrektomie und Sublimatvergiftung. *Klin. Wschr.* **41**, 520 (1963)
- Noltenius, H., Schellhas, H., Oehlert, W.: Histoautoradiographische Untersuchungen mit H-3 Thymidin der Tubuluszellregeneration nach akuter Sublimatvergiftung von Ratten. *Beitr. path. Anat.* **129**, 90—117 (1963)
- Noltenius, H., Schellhas, H., Oehlert, W.: Histoautoradiographische Befunde zur Tubuluszel- lenregeneration nach akuter Sublimatvergiftung. *Naturwissenschaften* **51**, 15—16 (1964)
- Pieritz, E.: Verkalkung und Verknöcherung des perirealen Gewebes. *Z. Urol.* **60**, 723—725 (1967)
- Podwysszki, W. von: Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsenge- webe. 2. Teil: Die Regeneration des Nierenepithels, der Meibomschen Drüsen und der Speicheldrüsen. *Beitr. path. Anat.* **2**, 1—28 (1888)

- Reif, W., Lange, H. P.: Vergleichende morphologische und chemische Untersuchungen zur dystrophischen Verkalkung und Mineralisation der Kaninchenniere beim Infarkt und während der Regeneration der postischämischen Nephrose. *Beitr. Path.* **145**, 221—248 (1972)
- Serra, P., Brunschwig, A.: Freezing of liver parenchyma with liquid nitrogen for hemostasis in excisional liver surgery. *Cancer (N.Y.)* **8**, 1234—1238 (1955)
- Stöcker, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **50**, 53—74 (1966)
- Stucke, K.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kryochirurgie der Leber. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **316**, 914—919 (1966)
- Stucke, K., Ciroth, C.: Lokale Gefrierung von Lebergewebe und Transaminaseaktivitäten. *Acta hepato-splenol. (Stuttg.)* **14**, 326—333 (1967)
- Stucke, K., Kahlert, F.: Morphologische Studien zur Kryochirurgie der Leber. *Acta hepato-splenol. (Stuttg.)* **16**, 311—324 (1969)

Prof. Dr. B. Helpap
Pathologisches Institut der Universität
D-5300 Bonn-Venusberg
Postfach
Bundesrepublik Deutschland

Prof. Dr. H. Breining
Abt. Pathologische RWTH
D-5100 Aachen
Goethestr. 27
Bundesrepublik Deutschland

Dr. A. Minderjahn
Prof. Dr. S. Lymberopoulos
Urologische Klinik
D-5124 Bardenberg
Bundesrepublik Deutschland