

Die Lebersinusoide der Ratte nach fraktionierter lokaler Telekobalt-Bestrahlung

Transmissions- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung*

H. Frenzel¹, H. Hücker², und B. Kremer³

¹ Pathologisches Institut der Universität Marburg, Robert-Koch-Str. 5, D-3550 Marburg/Lahn, Bundesrepublik Deutschland

² Institut für Klinische Strahlenkunde der Universitäts-Kliniken Mainz, Langenbeckstraße, D-6500 Mainz, Bundesrepublik Deutschland

³ Departement für Chirurgie der Universität Basel, Kantonsspital, CH-4004 Basel/Schweiz

The Liver Sinusoids in Rats Following Fractionated Local Telecobalt-Irradiation

A Transmission and Scanning Electron Microscopic Study

Summary. Changes in liver sinusoids following fractionated irradiation were studied by use of TEM and SEM. Rats received telecobalt-irradiation of their liver regions in daily doses of 500 r for 9 days, a total dose of 4500 r. One day after the end of the irradiation series the fine structure of hepatocytes was almost intact. In SEM the liver sinusoids contained numerous corpuscles, which in TEM were recognized as cellular blebs separated from endothelial cells. 8 days after irradiation small foci of necrotic hepatocytes could be visualized. Instead of complexes of small fenestrations (sieve plates) the endothelial cells contained striking round or oval holes in their tenuous processes. After 120 days small groups of hepatocytes with altered fine structure of their organelles and some necrotic parenchyma cells were still present. Away from these focal necroses the endothelial cells now resembled sinusoidal endothelium in control animals. Fat-storing cells appeared to have multiplied and were enlarged. There was distinct fibrosis only in perisinusoidal spaces.

The formation and discharge of electron lucent blebs is discussed as a mechanism compensating for an enhanced uptake of fluid into irradiation injured endothelial cells. In order to form holes in the tenuous processes of endothelial cells a disordered synthetic pattern and the shearing forces of the circulating blood are thought to be necessary. Repair of these intracellular holes may be possible.

* Die Untersuchungen wurden teilweise im Institut für Allgemeine und Experimentelle Pathologie der Bundeswehr in Mainz durchgeführt

Der Stiftung Volkswagenwerk danken wir für die Beschaffung des Rasterelektronenmikroskopes
Sonderdruckanforderungen an Dr. H. Frenzel

In rats irradiation induced lesions of the small intrahepatic vessels can be excluded as a cause of the late changes in liver parenchyma cells.

Key words: Endothelial cell — Liver sinusoid — Irradiation effect — Fine structure.

Zusammenfassung. Mit dem Transmissions- und Rasterelektronenmikroskop wurden die Früh- und Spätveränderungen der Lebersinusoide bestrahlter Ratten untersucht. Die Tiere erhielten über 9 Tage eine Telekobalt-Bestrahlung von 4500 r in täglichen Dosen von 500 r auf die Leberregion. 1 Tag nach Abschluß der Bestrahlungsserie war die Feinstruktur der Hepatocyten weitgehend normal. Die Sinusendothelzellen wiesen zahlreiche blasige Zellabschnürungen auf, die im Rasterelektronenmikroskop als unterschiedlich große Korpuskel imponierten. 8 Tage nach Bestrahlung kamen vereinzelt kleine Gruppen nekrotischer Hepatocyten vor. An den Endothelzellen fielen große runde oder ovale Löcher im Bereich der fenestrierten Zellabschnitte auf. 120 Tage nach Bestrahlung waren noch immer kleine Gruppen von Hepatocyten mit feinstrukturellen Veränderungen ihrer Zellorganellen und vereinzelt auch Gruppennekrosen nachzuweisen. Abgesehen von den kleinen Nekroseherden wurden die Sinusoide wieder von Endothelzellen mit intakten Fenestrationsen lückenlos ausgekleidet. Die Fettspeicherungszellen erschienen vergrößert und vermehrt. Eine nennenswerte Fibrosierung war in den Sinusoiden nicht nachweisbar.

Die Abschnürung von elektronenoptisch leeren, vermutlich wasserreichen Blasen wird als möglicher Ausgleich einer gesteigerten Flüssigkeitsaufnahme strahlengeschädigter Endothelzellen diskutiert. Für die Entstehung von Löchern in den dünnen Endothelzellausläufern wird den Scherkräften des Blutstromes bei gestörtem Struktur- und Stoffwechsel der Zelle eine Bedeutung beigemessen. Eine Reparatur dieser Zelldefekte scheint möglich.

Für die Ratte kann eine Strahlenvaskulopathie der kleinen intrahepatischen Blutgefäße als Ursache von Spätschäden des Leberparenchyms nach Bestrahlung weitgehend ausgeschlossen werden.

Einleitung

Für Parenchymzellveränderungen in der Spätphase nach einer Bestrahlung werden Strahlenschäden an den Blutgefäßen verantwortlich gemacht. Die funktionelle Bedeutung einer Strahlenvaskulopathie wurde für Niere, Lunge, Darm und Gehirn anhand von Tierexperimenten wie auch bioptischer und postmortaler Untersuchungen von Geweben bestrahlter Patienten erkannt (s. Zollinger, 1970). Einige Beobachtungen weisen darauf hin, daß auch Leberspätveränderungen nach Bestrahlung vaskulär bedingt sein könnten. Ogata et al. (1963) und auch Reed und Cox (1966) beschrieben eine fibröse Obliteration der kleinen Venenäste in den Lebern von Patienten, bei denen ein Tumor im Oberbauch oder Thoraxraum bestrahlt worden war. Eingehende experimentelle morphologische Untersuchungen über die Strahlenfolgen an der Endstrombahn der Leber sind uns jedoch nicht bekannt.

In der vorliegenden Arbeit sollten daher Früh- und Spätveränderungen an den Lebersinusoiden nach fraktionierter lokaler Telekobalt-Bestrahlung mit dem Transmissions (TEM)- und Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht werden.

Material und Methode

Die Versuche wurden an durchschnittlich 200 g schweren männlichen Albinoratten (FW 49) durchgeführt, die unter gleichbleibenden Bedingungen gehalten wurden (Ssniff-Standardfutter und Wasser ad libitum). 9 Tage lang erhielten die Tiere jeweils in Nembutal-Narkose (4 mg/100 g Körpergewicht i.p.) eine Telekobalt-Bestrahlung der Leberregion in täglichen Dosen von 500 r bis zu einer Gesamtdosis von 4500 r (Feldgröße $2,5 \times 2,5$ cm, Fokus-Tier-Abstand 50 cm). 1 Tag, 8 Tage und 120 Tage nach Abschluß der Bestrahlung wurden jeweils 3 Tiere modifiziert nach Forssmann et al. (1967) 30–60 s mit heparinhaltiger Tyrode-Procaïn-Lösung durchgespült und anschließend für 10 min mit 2,5%igem Glutaraldehyd perfusionsfixiert (0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,3, 360–380 mosmol, Perfusionsdruck im linken Ventrikel 50 mmHg). Aufarbeitung für die Transmissionselektronenmikroskopie: Nachfixation von 1 mm³ großen Gewebsblöckchen für 1 h in 1%iger OsO₄-Lösung (0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,3), Entwässerung in der Alkoholreihe, Einbettung in Epon (Luft, 1961). Nachkontrastierung der Dünnschnitte in Uranylacetat und Bleicitrat. Betrachtung und Fotografie der Schnitte mit dem Elektronenmikroskop EM 9 S 2 (C. Zeiss).

Aufarbeitung für die Rasterelektronenmikroskopie: Auswaschen gebrochener Gewebeproben in 0,1 M Phosphatpuffer, Nachfixation in phosphatgepufferter 1%iger OsO₄-Lösung für 1 h, Entwässerung in der Azetonreihe, Trocknung nach der Kritischen-Punkt-Methode aus Frigen® (Hoechst, Frankfurt/M.). Aufbringen der elektrisch leitenden Goldschicht durch „sputtern“. Betrachtung und Fotografie mit dem Rasterelektronenmikroskop Stereoscan Mark II (Cambridge Ltd. England) bei 20 kV.

Ergebnisse

Kontrolltiere

Die freigespülten Lebersinusoide werden von Endothelzellen lückenlos ausgekleidet. Transmissions- und rasterelektronenmikroskopisch lassen sich an den Endothelzellen die leicht prominente Kernregion von kompakteren Zellausläufern und sehr dünnen, reich fenestrierten Arealen abgrenzen. Die Größe der Fenestrationen schwankt nur geringfügig, häufig sind sie in Gruppen – sog. Siebplatten – angeordnet. Der Dissesche Raum zwischen Endothelzellen und Hepatocyten enthält zahlreiche Mikrovilli der Leberepithelzellen und spärliche Kollagenfaserbündel. Einzelheiten der Feinstruktur der Lebersinusoide der Ratte wurden von Wisse (1970, 1972) ausführlich mitgeteilt.

Versuchstiere

1 Tag nach Abschluß der Bestrahlungsserie. Im Lichtmikroskop ergibt sich eine unauffällige Leberstruktur. Im TEM ist die Feinstruktur der Hepatocyten durchweg unverändert; nur vereinzelt kommen geschwollene Mitochondrien vor, der Glykogengehalt der Leberzellen ist vermindert. Selten können polypenartige Protrusionen der Leberzellen in die Sinusrichtung beobachtet werden (Abb. 2b). In den Sinusoiden beeindrucken im REM-Bild zahlreiche unterschiedlich große, meist kugelige Gebilde (Abb. 1b und 2a). Diesen Strukturen entsprechen im

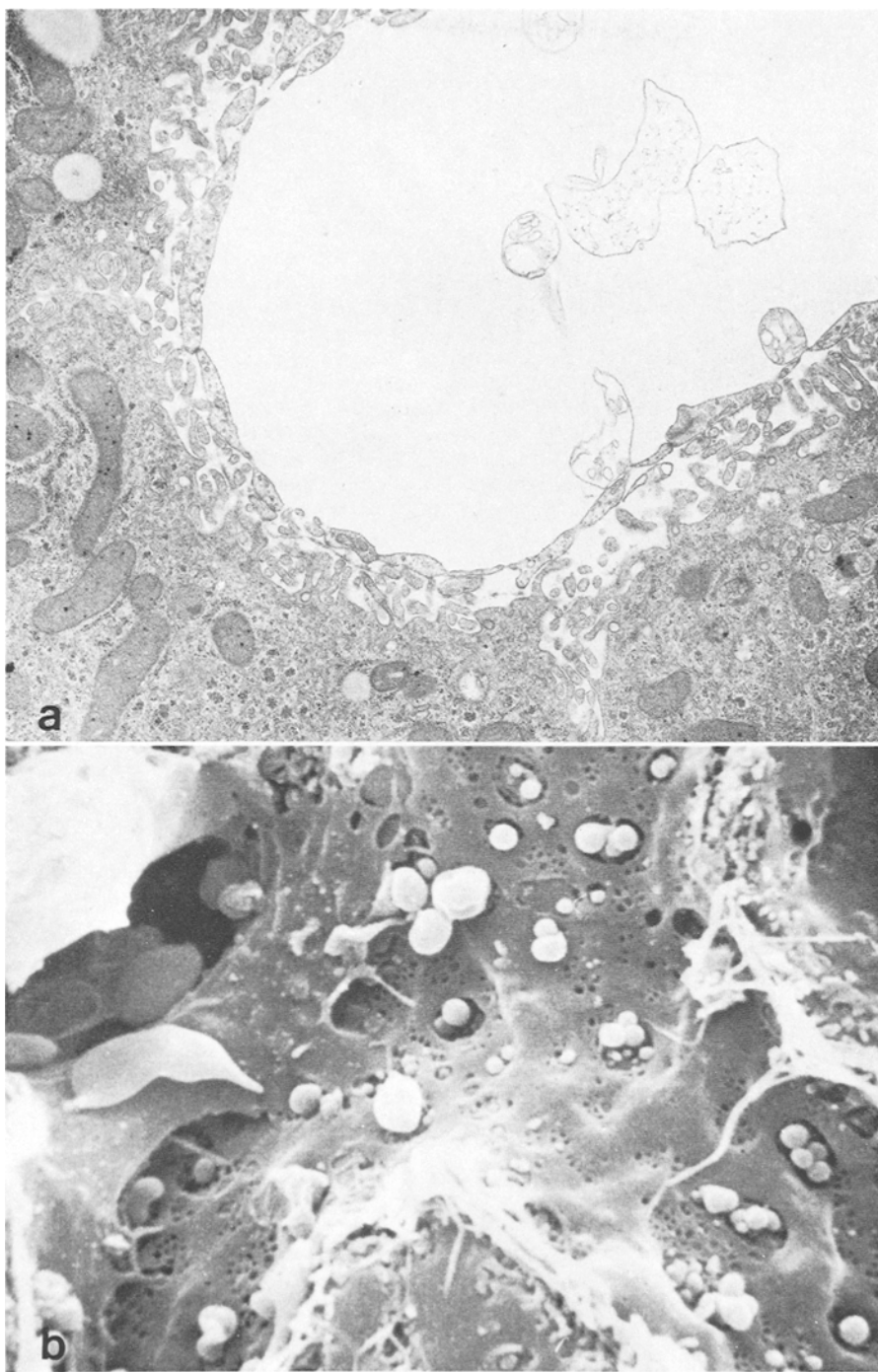


Abb. 1a u. b. Lebersinus 1 Tag nach Bestrahlung. Endothelzellblasen bei TEM-Untersuchung (Abb. 1a, 10600 \times) und bei REM-Untersuchung (Abb. 1b, 6400 \times)

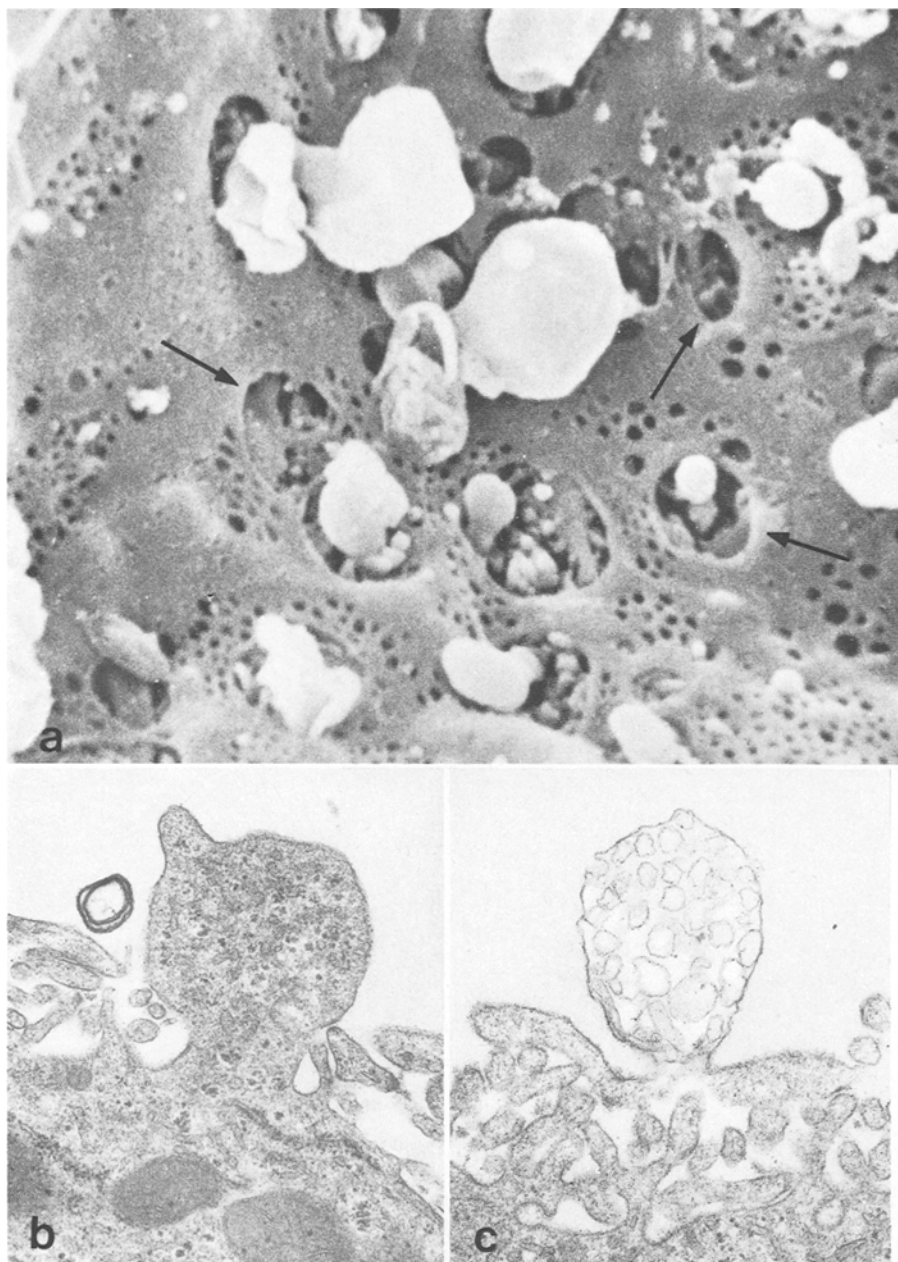


Abb. 2a-c. Lebersinus 1 Tag nach Bestrahlung. Unterschiedlich große Korpuskel auf den Endothelzellen und im Disseschen Raum bei REM-Untersuchung. Neben den typischen kleinen Fenestratio-
nen weist die Endothelzellauskleidung einzelne größere Löcher (Pfeile) auf (Abb. 2a, 13600 \times).
Im TEM-Bild entsprechen den Korpuskeln umschriebene Leberzellprotrusionen (Abb. 2b, 21000 \times)
und wesentlich häufiger blasige Endothelzellabschnürungen (Abb. 2c, 29000 \times)

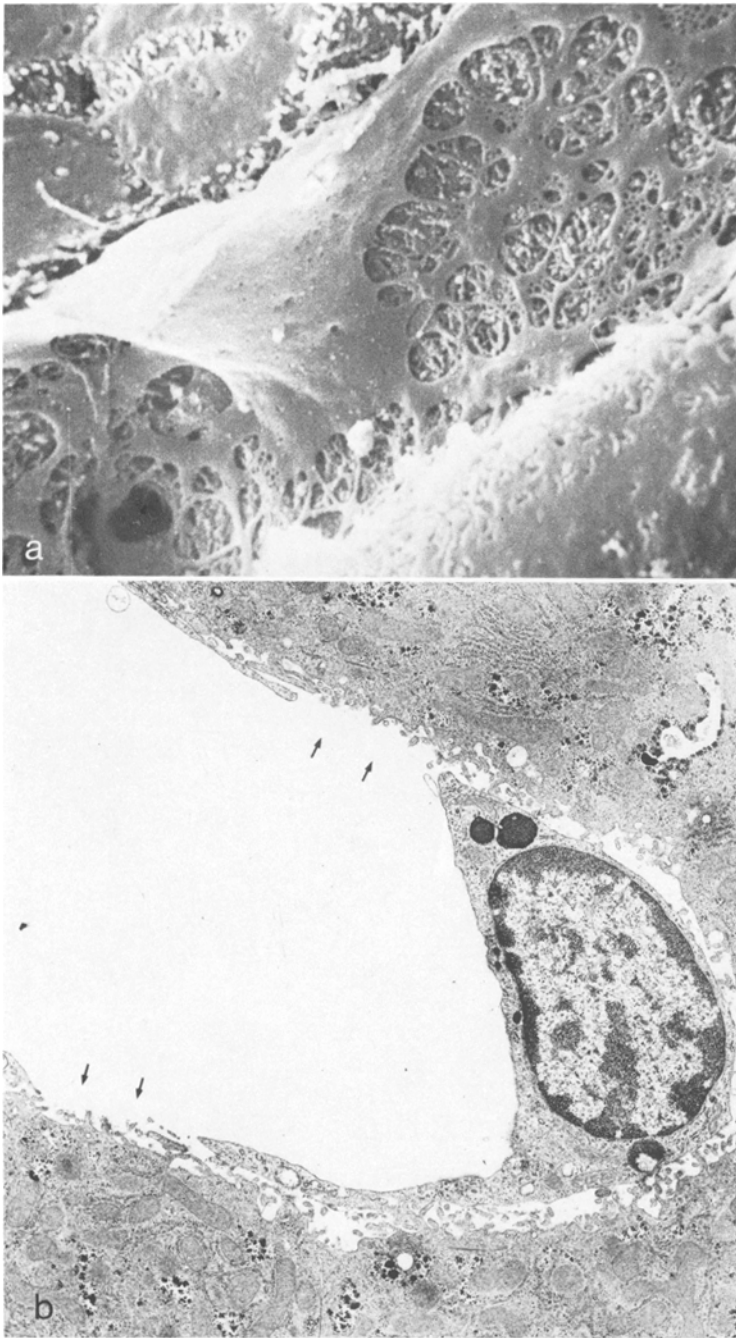


Abb. 3a u. b. Lebersinus 8 Tage nach Bestrahlung. Ausgedehnte Löcher im Bereich der fenestrierten Endothelzellausläufer, dadurch gitterartige endotheliale Sinusauskleidung im REM-Bild (Abb. 3a, $6000\times$). Im TEM-Bild finden sich entsprechende Unterbrechungen in der Endothelzellschicht (Pfeile). Die Feinstruktur der Hepatocyten ist intakt (Abb. 3b, $6800\times$)

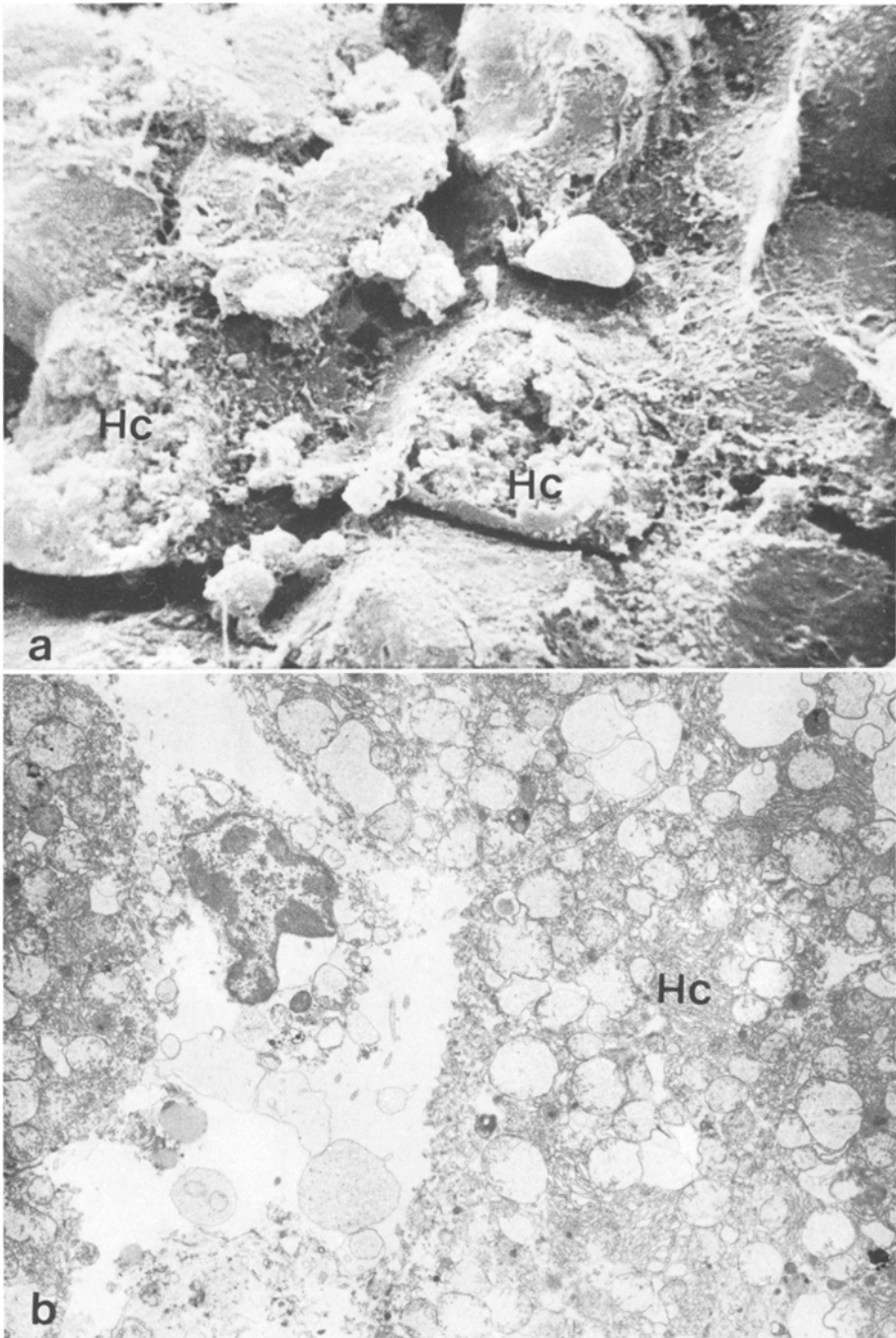


Abb. 4a u. b. Stark geschädigtes Läppchenareal 8 Tage nach Bestrahlung. TEM- und REM-Untersuchungen ergeben eine fast vollständige Zerstörung der sinusauskleidenden Endothelzellen. In der Sinuslichtung Zellkerne und Zellorganellen nekrotischer Hepatocyten (Hc). Massive Mitochondrienschwellung in den Hepatocyten (Abb. 4a, 2700 \times ; Abb. 4b, 10000 \times)

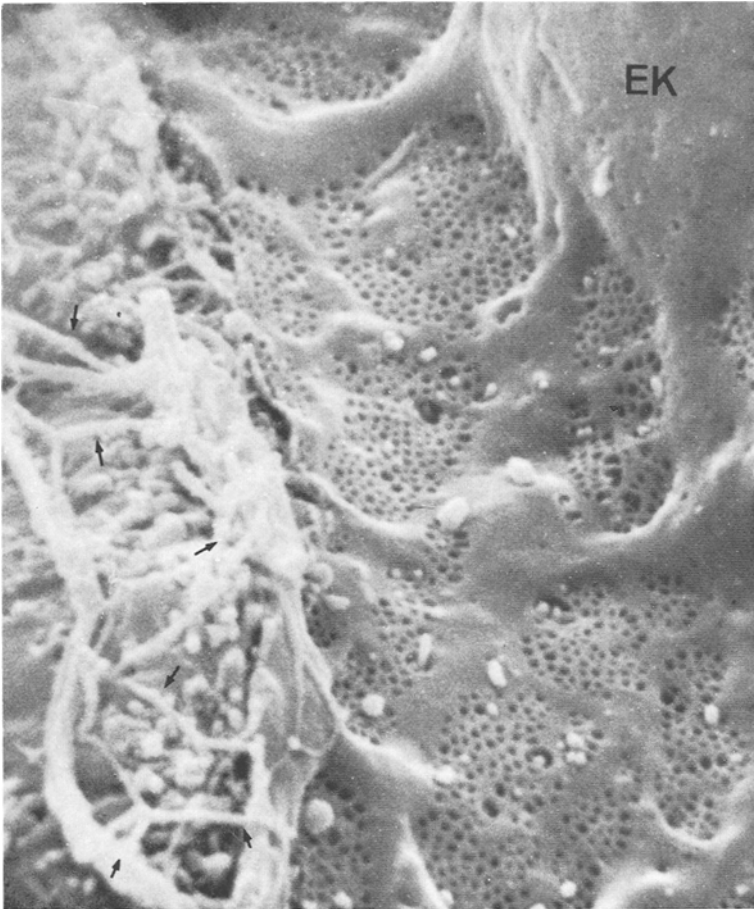


Abb. 5. Lebersinus 120 Tage nach Bestrahlung. Lückenlose Endothelzellauskleidung mit typischer Anordnung der Fenestrationen in sog. Siebplatten. Leicht prominente Kernregion (EK) der Endothelzelle. Perisinusoidale Kollagenfibrillen (Pfeile). 7400 \times

TEM-Bild elektronenoptisch weitgehend leere, blasig aufgetriebene Endothelzellabschnitte (Abb. 1 a and 2 c) und vereinzelte Leberzellprotrusionen (Abb. 2 b). Zahlreiche abgeschnürte Endothelzellblasen liegen frei in der Sinuslichtung. Die kontinuierliche lückenlose Endothelzellauskleidung der Sinusoide weist einige größere Löcher im Bereich der fenestrierten Areale auf (Abb. 2 a).

8 Tage nach Abschluß der Bestrahlungsserie. Blasige Abschnürungen können an den Sinusendothelzellen nur noch vereinzelt beobachtet werden. Runde oder ovale Löcher im Bereich der fenestrierten zarten Endothelzellfortsätze stehen bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung im Vordergrund, die endotheliale Sinusauskleidung wirkt gitterartig. Im TEM stellt sich der Endothelverband entsprechend lückenhaft dar (Abb. 3). Die überwiegende Zahl der Hepa-

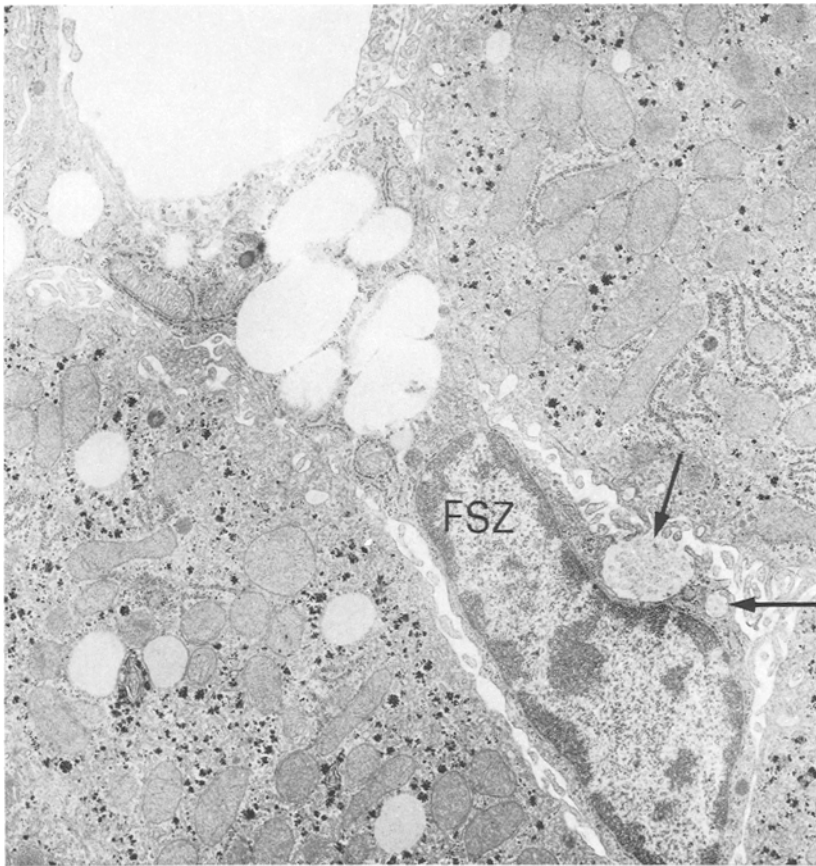


Abb. 6. Lebersinus 120 Tage nach Bestrahlung. Die Feinstruktur der Hepatocyten ist intakt. Im perisinusoidalen Raum eine große Fettspeicherungszelle (FSZ) mit Kollagenfibrillen (Pfeil) in der Nachbarschaft. 9000 \times

tocyten ist im Elektronenmikroskop unauffällig; Veränderungen an den Leberparenchymzellen sind auf kleine Herde beschränkt. In diesen umschriebenen Arealen reicht die Leberzellschädigung von massiver Mitochondrienschwellung, Erweiterung des endoplasmatischen Retikulum und Vakuolenbildung bis zur vollständigen Cytolyse. Die Sinusoide enthalten hier zahlreiche Membrananteile und blasige Gebilde, die vorwiegend nekrotisch zerfallenden Hepatocyten entstammen. Eine Endothelzellauskleidung fehlt in diesen Sinusabschnitten oft vollständig (Abb. 4).

120 Tage nach Abschluß der Bestrahlungsserie. Lichtmikroskopisch fällt eine vermehrte Kernpolymorphie der Leberzellen auf. Kleine Gruppen von geschädigten Leberzellen mit Mitochondrienschwellung und vakuolig erweitertem endoplasmatischen Retikulum sind noch immer nachweisbar. Vereinzelt kommen auch fokale Parenchymzellnekrosen vor. Die Feinstruktur der Hepatocyten ist

außerhalb dieser Herde meist völlig unauffällig; bisweilen sind einzelne Mitochondrien geschwollen und Lipoideinschlüsse und autophagische Vakuolen vermehrt. Die Lebersinusoide werden – abgesehen von den wenigen herdförmigen Parenchymnekrosen – von einer Endothelzellschicht mit intakten fenestrierten Zellfortsätzen lückenlos ausgekleidet. Die Kernregionen der Endothelzellen sind häufig deutlicher prominent als bei Kontrolltieren. Blasige Abschnürungen von den Endothelzellen sind nur noch ganz vereinzelt nachweisbar (Abb. 5). Auffällig ist eine Vergrößerung und Vermehrung der Fettspeicherungsellen. Sie werden – wie beim Kontrolltier – stets durch Endothelzellausläufer vom Sinuslumen getrennt. Die Feinstruktur der Fettspeicherungsellen ist nicht auffällig verändert. Innerhalb von Einbuchtungen ihrer Zelleißen liegen oft Kollagenfaserbündel und auch ungeordnete zarte Fibrillen. Insgesamt ist die Faser Vermehrung in den Disseschen Räumen jedoch nur diskret (Abb. 6).

Obliterierte Sinusoide, eingeengte bzw. obliterierte Zentralvenen oder Blutgefäße in den Portalfeldern wurden nicht beobachtet.

Diskussion

Zur Frage der Strahlenwirkung auf die Leberepithelzellen gibt es eine große Zahl von Mitteilungen (Literaturübersicht bei Rubin und Casarett, 1968; Lacasagne, 1971). Auch Funktion und Morphologie des RES in der bestrahlten Leber wurden ausführlich bearbeitet (Antonijevic, 1968; Brase et al., 1973; Slijvić, 1970). Unsere Untersuchungen konzentrieren sich daher vorwiegend auf die Sinusoide mit ihrem auskleidenden Endothel. Berdjis (1971) fand die Endothelzellen als strahlenempfindlichste Strukturen in Blutgefäßen. Ihre Strahlensensibilität soll der von Epithelzellen in Haut und Darm wie auch von Knorpelzellen weitgehend entsprechen (Reinhold und Buisman, 1973) und von wesentlicher Bedeutung in der Pathogenese einer Strahlenvaskulopathie sein (Reinhold, 1973).

In der *Blasenbildung* ist die früheste hier faßbare Reaktion der Endothelzellen auf die Bestrahlung zu sehen. Blasige Abschnürungen von Sinusendothelzellen konnten auch nach einmaliger Bestrahlung des Abdomens mit 2000 r nach 24 und 72 h beobachtet werden (Frenzel et al., 1975). Wenig dichte Protrusionen der Endothelzellen, wie sie von Braun (1970) in Darmkapillaren 2–4 Tage nach 800 r-Ganzkörperbestrahlung von Mäusen beschrieben wurden, könnten Vorstufen einer zellulären Blasenbildung darstellen.

Blasenbildungen an Endothelzellen wurden auch nach Hypoxie (Frenzel et al., 1976a), nach Applikation von Endotoxin (Frenzel et al., 1976c) oder spezifischem Verbrennungstoxin (Kremer et al., 1975) beobachtet. Elektronenoptisch leere blasige Abschnürungen – sog. Kuppenblasen – treten darüber hinaus in großer Zahl am ischaemisch geschädigten proximalen Nierentubulus auf (Warning und Thoenes, 1971). Schaffner und Popper (1961) fanden Blasenformation an den Epithelzellen proliferierter Gallekanalikuli. Eine zelluläre Blasenbildung wurde jedoch nicht nur unter pathologischen Bedingungen beschrieben. Hammersen und Wendler (1972) beobachteten derartige „multivesikuläre Strukturen“ im Endothel und in unreifen Media- und Mesenchymzellen der Allantois- und Dottersackgefäße des Hühnchens, Espey (1971) an Fibroblasten in der Wand rupturierter Eierstocksfollikel.

Daraus wird deutlich, daß die Bildung zellulärer Blasen weder ein allein für Endothelzellen charakteristisches Phänomen darstellt, noch für eine bestimmte Noxe pathognomonisch ist. Die Diskussion über die funktionelle Bedeutung der Blasenbildung ist noch nicht abgeschlossen. Hammersen und Wendler (1972) sehen darin eine Sequestrierung von überflüssig gewordenen Cytoplasmaanteilen, z. B. beim Gestaltwandel von Zellen während ihrer Entwicklung und Differenzierung. Für die morphologisch gleichartigen blasigen Abschnürungen von den Sinusendothelzellen nach Bestrahlung, Hypoxie und Toxinapplikation würde sich eine Deutung anbieten, die Thoenes (1964) für das Ablösen sog. Kuppenblasen an Tubulusepithelzellen der Niere nach kurzer Ischaemie gegeben hat. Thoenes stellt die zelluläre Blasenbildung als Anpassungsreaktion einer geschädigten, energetisch insuffizienten Zelle an eine Energiemangelsituation zur Diskussion. Durch Verringerung der Cytoplasmamasse soll die Zelle versuchen, den Energiebedarf für ihre Strukturhaltung zu reduzieren. Überträgt man diese Deutung auf die von uns beobachteten Zellabschnürungen an den Sinusendothelzellen, dann wäre die Grundlage dieses Phänomens in einer unter verschiedenen pathologischen Bedingungen (Bestrahlung, Hypoxie, Toxin) gleichartigen Störung der Energiebereitstellung zu sehen.

Umschriebene Zellprotrusionen der Hepatocyten in die Sinuslichtung, die von uns nach Bestrahlung und Hypoxie (Frenzel et al., 1976a) vereinzelt beobachtet wurden, könnten Ausdruck eines identischen Prozesses sein. Sinngemäß wäre hierin eine Auslagerung von geschädigten Zellbestandteilen (Altmann, 1955) oder auch von Cytoplasmamassen zu vermuten, deren Strukturhaltung infolge einer energetischen Insuffizienz der Zelle nicht mehr gesichert ist. Es muß jedoch betont werden, daß die Richtigkeit der Deutung einer Abschnürung von zellulären Blasen als Anpassungsreaktion der Zelle an eine Energiemangelsituation noch nicht bewiesen ist. Insbesondere ist fraglich, ob eine Verminderung von unstrukturiertem Cytoplasma die Energiebilanz einer geschädigten Zelle nennenswert zu verbessern vermag oder die Abgabe strukturierter Plasmabestandteile von Leberzellen für das Überleben der Zelle als günstig angesehen werden kann. Feinstrukturelle Untersuchungen stellen bisher das Ablösen von Blasen und Protrusionen lediglich als einen weit verbreiteten Mechanismus zur Abgabe von Zellbestandteilen dar. Die zelluläre Blasenbildung an Endothelzellen und die Abschnürung umschriebener prolabierter Leberzellanteile wären damit Segregationsprozessen vergleichbar, bei denen geschädigte oder auch überflüssige Cytoplasmabestandteile durch Membranen intrazellulär isoliert und gegebenenfalls abgebaut werden. Beide Vorgänge sind bereits unter physiologischen Bedingungen zu beobachten, kommen aber nach Einwirken von Noxen gehäuft vor (Pfeifer, 1976).

Neben der Deutung zellulärer Abschnürungen als Anpassungsreaktion an eine Energiemangelsituation ist in der Blasenbildung der Endothelzellen darüber hinaus möglicherweise ein Regulationsmechanismus zu sehen, um eine übermäßige Hydratation der geschädigten Endothelzellen zu verhindern. Während die Leberzellprotrusionen teilweise strukturierte Plasmabestandteile enthalten, sind die Endothelzellblasen elektronenoptisch leer und lassen einen hohen Wassergehalt vermuten. Zur Vorstellung einer strahlenbedingten vermehrten Flüssigkeitsaufnahme der Endothelzellen passen gut die Befunde einer gesteigerten Pinocy-

tose bereits in den ersten Stunden nach Bestrahlung (Alekseev und Chernukh, 1969; Berdjis, 1971; Braun, 1970). Die Bildung größerer Blasen wäre durch ein Konfluieren von Vesikeln und Vakuolen denkbar (Braun, 1970). Es ist vorstellbar, daß die vermehrte Flüssigkeitsaufnahme der strahlengeschädigten Endothelzellen durch eine Abgabe von Flüssigkeit innerhalb blasiger Abschnürungen eine Zeitlang ausgeglichen und die Funktion der Endothelzellen in der Gefäßwand erhalten werden kann. Überschreitet der Flüssigkeitseinstrom in die Zelle die mögliche Abgabe von Wasser durch Blasenbildung, ist eine erhöhte Permeabilität der Endothelzellschranke zu erwarten. Dabei kommt es insbesondere in Arterien und Arteriolen zu einer für die Blutgefäße folgenschweren Insudation von Plasmaproteinen in Media und Adventitia (Zollinger, 1970).

Eine erhöhte Durchlässigkeit des Endothels konnte in der bestrahlten Mäuselunge experimentell durch Markierung des Blutplasma mit Meerrettichperoxydase nachgewiesen werden (Maisin et al., 1970). In der Leber von Kontrolltieren findet sich – bedingt durch Strukturbesonderheiten der Lebersinusoide – der tracer bereits 1 min nach intravenöser Injektion in reichlicher Menge im perisinusoidalen Disseschen Raum (Matter et al., 1969). Bei einer derartig raschen Permeation schon unter Normalbedingungen erscheint jedoch eine strahlenbedingte gesteigerte Durchlässigkeit der Sinuswand in der Pathogenese von Strahlenschäden in der Leber im Vergleich zu Kapillargebieten anderer Organe nur von untergeordneter Bedeutung.

8 Tage nach Abschluß der fraktionierten Leberbestrahlung mit 4500 r waren runde oder ovale *Löcher* in den Sinusendothelzellen der vorherrschende Befund. Die Defekte fanden sich im Bereich der sehr dünnen Endothelzellausläufer, die beim Kontrolltier zahlreiche, meist in Gruppen angeordnete Fenestrations aufweisen (Wisse, 1970). Diese sog. Siebplattenstrukturen sind mechanisch leicht vulnerabel. Schon bei Perfusionsfixation mit nichtphysiologischen Drucken in den Lebersinusoiden treten intrazelluläre Löcher in großer Zahl auf (Frenzel et al., 1976b). Diese Erfahrungen wurden beachtet, so daß die Endothelzelldefekte im vorliegenden Experiment sicher nicht als Artefakte zu werten sind. Vielmehr glauben wir, daß eine reduzierte Energiebereitstellung der geschädigten Zellen auch die Strukturhaltung gefährdet; unter diesen Bedingungen könnten die Scherkräfte des strömenden Blutes für die Zerstörung der fenestrierten Endothelzellanteile von Bedeutung sein. Auch die Blasenbildung und -abschnürung könnte unter Mitnahme größerer Cytomembranflächen gelegentlich zu Defekten in den dünnen Ausläufern der Sinuswandzellen führen.

120 Tage nach Bestrahlung fand sich in den Sinusoiden wieder eine intakte Endothelzellauskleidung. Wegen der geringen Teilungsintensität der Endothelzellen (Edwards und Koch, 1964; Engerman et al., 1967) wird bei der Wiederherstellung des Endothelzellfilters einem Ersatz der geschädigten Zellen durch eine neue Zellpopulation nur geringe Bedeutung zukommen. Es spricht mehr dafür, daß die Endothelzellen in der Lage sind, auch ausgedehnte intrazelluläre Defekte zu reparieren. In welcher Form eine Reparation dieser Schäden abläuft, ist jedoch noch weitgehend unklar.

Im Elektronenmikroskop waren 120 Tage nach Bestrahlung eine Vergrößerung und Vermehrung der Fettspeicherungsellen aufgefallen. Über die Funktion dieser Zellen herrscht noch keine klare Vorstellung. Experimentelle Untersu-

chungsergebnisse lassen eine Bedeutung im Vitamin-A-Stoffwechsel vermuten (Kobayashi und Takahashi, 1971). Popper und Kent (1975) halten aufgrund neuerer Untersuchungen die Fettspeicherungszellen für Vorläufer von Fibroblasten. Auf die Fähigkeit zur Faserbildung der Fettspeicherungszellen oder aber auf ihre Transformation in Fibroblasten weisen auch Untersuchungen von McGee und Patrick (1972) an Mäuselebern nach akuter CCl_4 -Intoxikation hin. Dem ist jedoch entgegenzuhalten, daß sich in unseren Präparaten 120 Tage nach Bestrahlung zwar vermehrt Fettspeicherungszellen fanden, die perisinusoidale Fibrosierung hingegen nur diskret war.

Unsere Untersuchungsergebnisse erlauben eine Aussage über die Bedeutung von Mikrogefäßveränderungen in der Leber für die Spätschäden der Leberepithelzellen nach Bestrahlung. Hier stimmen unsere tierexperimentellen Befunde nicht mit den Beobachtungen am menschlichen Gewebe überein. Während die Ursache einer „Strahlenhepatitis“ (Ingold et al., 1965) beim Menschen in Zirkulationsstörungen aufgrund obliterierender Gefäßveränderungen vermutet wird (Lewin und Millis, 1973; Ogata et al., 1963; Reed und Cox, 1966), können wir Beobachtungen von Oehlert (1973) bestätigen, daß eine obliterierende Strahlenvasculopathie in der Rattenleber nicht auftritt. Kovacs (1971) kommt aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen an Rattenlebern ebenfalls zu dem Schluß, daß Leberparenchymveränderungen in der Spätphase nach fraktionierter lokaler Bestrahlung eher durch einen direkten Strahleneffekt als durch Bindegewebsvermehrung mit Zirkulationsstörungen zu erklären sind. Auch die beschriebenen strahlenbedingten Läsionen an den Sinusendothelzellen scheiden als Ursache von Leberzellveränderungen weitgehend aus: 120 Tage nach Bestrahlung kommen Leberzellen mit veränderter Feinstruktur in Sinusabschnitten mit vollständig intaktem Endothel vor. Auf der anderen Seite sind in der Frühphase nach Bestrahlung die Hepatocyten im Bereich von Sinusendothelzellen mit intrazellulären Löchern sehr häufig unverändert, d. h., Endothel- und Parenchymzellveränderungen entwickeln sich in der Leber weitgehend unabhängig voneinander. Eine gegenseitige Beeinflussung läßt sich lediglich in stark geschädigten umschriebenen Läppchenarealen vermuten: Vollständiger Zerfall und Auflösung nekrotischer Hepatocyten mit Ausschleusen von Zellorganellen in die Sinuslichtung könnten hier eine Zerstörung der geschädigten Endothelzellschicht unterstützen.

Literatur

- Alekseev, O.V., Chernukh, A.M.: Microvesiculation, vacuolization, and vesicle formation in capillary endothelium in normal and irradiated animals. *Ark. Anat., Gistol. Embriol.* **56**, 110–115 (1969)
- Altmann, H.-W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. Die Pathobiosen. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II, 1, 419–612. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955
- Antonijevic, M.: Dynamics of phagocytic function of the RES in the wholebody irradiated rats. *Strahlentherapie* **135**, 708–713 (1968)
- Berdjic, Ch. C.: The cardiovascular system. In: *Pathology of irradiation*, p. 377–407. Baltimore: The Williams and Wilkins Comp. 1971

- Brase, A., Bockslaff, H., Haindl, H., Järvinen, S.: Tierexperimentelle Funktionsuntersuchungen mit Radionukliden an der Leber nach gezielter Co-60-Bestrahlung. *Strahlentherapie* **146**, 198–207 (1973)
- Braun, H.: Zur Strahlenwirkung an Darmkapillaren und ihre Beeinflussung durch O-(β -Hydroxy-aethyl)-rutosid (HR). *Strahlentherapie* **140**, 533–539 (1970)
- Edwards, J.L., Koch, A.: Parenchymal and littoral cell proliferation during liver regeneration. *Lab. Invest.* **13**, 32– (1964)
- Engerman, R.L., Pfaffenbach, D., Davis, M.D.: Cell turnover of capillaries. *Lab. Invest.* **17**, 738–743 (1967)
- Espey, L.L.: Multivesicular structures in proliferating fibroblasts of rabbit ovarian follicles during ovulation. *J. Cell Biol.* **48**, 437–443 (1971)
- Frenzel, H., Hücker, H., Richter, I.-E., Kremer, B.: Zur Feinstruktur der Lebersinus nach letaler und therapeutischer Röntgenbestrahlung. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **59**, 565 (1975)
- Frenzel, H., Kremer, B., Richter, I.-E., Hücker, H.: Über den Einfluß der Hypoxie auf die Sinusendothelzellen der Rattenleber. Raster- und transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung. *Virchows Arch. B Cell Path.* **21**, 79–90 (1976a)
- Frenzel, H., Kremer, B., Richter, I.-E., Hücker, H.: Der Einfluß des Perfusionsdruckes bei der Perfusionsfixation auf die Feinstruktur der Lebersinusoide. *Transmissions- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung. Res. Exp. Med.* **168**, 229–241 (1976b)
- Frenzel, H., Kremer, B., Hücker, H.: Die Feinstruktur der Lebersinusoide bei experimenteller Leberschädigung. *Transmissions- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an der Rattenleber nach respiratorischer Hypoxie, Telekobalt-Bestrahlung und Endotoxin-Applikation. Arbeitstagung Experimentelle Hepatologie, Marburg 1976c (im Druck)*
- Forssmann, W.G., Siegrist, G., Orci, L., Girardier, L., Pictet, R., Rouiller, Ch.: Fixation par perfusion pour la microscopie électronique. *Essai de généralisation. J. Microsc. (Paris)* **6**, 279–304 (1967)
- Hammersen, F., Wendler, W.: Multivesikuläre Strukturen in verschiedenen Wandzellen der Allantois- und Dottersackgefäße des Hühnchens. *Z. Zellforsch.* **130**, 243–248 (1972)
- Ingold, J.A., Reed, G.B., Kaplan, H.S., Bagshaw, M.A.: Radiation hepatitis. *Amer. J. Roentgen.* **93**, 200–208 (1965)
- Kobayashi, K., Takahashi, Y.: Effect of administration of large doses of vitamin A on the fine structure of rat liver with special reference to changes in the fat-storing cell. *Arch. hist. jap.* **33**, 421–443 (1971)
- Kovács, L.: Morphologische Leberveränderungen nach experimenteller fraktionierter lokaler Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **142**, 227–237 (1971)
- Kremer, B., Frenzel, H., Allgöwer, M., Städtler, K., Schoenenberger, G.A.: Transmissions- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen eines spezifischen Verbrennungstoxins und seine Auswirkung auf die Mäuseleber nach subletaler Verbrennung. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **59**, 581 (1975)
- Lacassagne, A.M.B.: The liver. In: *Pathology of irradiation*, p. 345–376. Baltimore: The Williams and Wilkins Comp. 1971
- Lewin, K., Millis, R.R.: Human radiation hepatitis. *Arch. Pathol.* **96**, 21–26 (1973)
- Luft, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**, 409–414 (1961)
- Maisin, J.R., Oledzka-Slotwinska, H., Lambiet-Collier, M.: Ultrastructure of lung parenchyma and permeability changes of the blood air barrier after a local exposure of mice to 2000 R of X-rays. In: *Proc. of the IVth Int. Congress of Radiation Research, Evian 1970*
- Matter, A., Orci, L., Rouiller, Ch.: A study on the permeability barriers between Disse's space and the bile canaliculus. *J. Ultrastruct. Res. Suppl.* **11** (1969)
- McGee, J.O'D., Patrick, R.S.: The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis. An electron microscopic study of acute carbon tetrachloride liver injury. *Lab. Invest.* **26**, 429–440 (1972)
- Oehlert, W.: Zur Strahlenempfindlichkeit der Leber. *Strahlenschutz Forsch. Prax.* **13**, 89–98 (1973)
- Ogata, K., Hizawa, K., Yoshida, M., Kitamuro, T., Akagi, G., Kagawa, K., Fukuda, F.: Hepatic injury following irradiation – a morphologic study. *Tokushima J. Exp. Med.* **9**, 240–251 (1963)
- Pfeifer, U.: Lysosomen und Autophagie. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **60**, 28–64 (1976)
- Popper, H., Kent, G.: Fibrosis in chronic liver disease. *Clinics in Gastroenterology* **4**, 315–332 (1975)

- Reed, G.B., Cox, A.J.: The human liver after radiation injury. A form of veno-occlusive disease. *Amer. J. Path.* **48**, 597–611 (1966)
- Reinhold, H.S.: Auf welche Weise kann Bestrahlung Blutgefäßschäden verursachen? *Strahlenschutz Forsch. Prax.* **13**, 138–148 (1973)
- Reinhold, H.S., Buisman, G.H.: Radiosensitivity of capillary endothelium. *Brit. J. Radiol.* **46**, 54–57 (1973)
- Rubin, P., Casarett, G.W.: Clinical radiation pathology, Vol. I, p. 270–292. Philadelphia-London-Toronto: W.B. Saunders Comp. 1968
- Schaffner, F., Popper, H.: Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules. *Amer. J. Path.* **38**, 393–410 (1961)
- Sljivić, V.S.: Radiation and the phagocytic function of the reticuloendothelial system. I. Enhancement of RES function in X-irradiated mice. *Brit. J. exper. Path.* **51**, 130–139 (1970)
- Thoenes, W.: Mikromorphologie des Nephrons nach temporärer Ischaemie. In: Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, Heft 15. Stuttgart: Thieme 1964
- Warning, A., Thoenes, W.: Zelluläre Blasenbildung als Ischaemiefolge. Untersuchungen am proximalen Nierentubulus. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **55**, 640–644 (1971)
- Wisse, E.: An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver sinusoids. *J. Ultrastruct. Res.* **31**, 125–150 (1970)
- Wisse, E.: An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and Kupffer cells. *J. Ultrastruct. Res.* **38**, 528–562 (1972)
- Zollinger, H.U.: Die Strahlenvaskulopathie. *Path. Europ.* **5**, 145–163 (1970)

Eingegangen am 21. Februar 1977