

(Aus dem Pathologischen Institut des Städtischen Krankenhauses im Friedrichshain, Berlin [Prosektor: Prof. Dr. *Ludwig Pick*].)

Über eine Methode zur Darstellung der Basalmembranen.

Von

Hung-See-Lü

aus Peking.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Juni 1922.)

Zu einer neuen Darstellungsmethode der Basalmembranen gelangte ich bei meinen Versuchen über die Autolyse menschlicher Organe, die 1921 bei Prof. *Röfle* in Jena angestellt wurden. Vor diesen Versuchen mußten die Organteile an der verunreinigten Oberfläche gründlich desinfiziert werden. Dieses geschah teilweise durch einige Minuten dauerndes Abkochen im Wasser. Dann wurden die Teile in einem Reagensglase für einige Tage bis einige Wochen im Brutschrank dauernd unter 37—38° C gehalten. Im Verlauf dieser Arbeit untersuchte ich kleine Stücke der Organe nach Paraffineinbettung histologisch. Die Färbung war die gewöhnliche mit Hämatoxylin-Eosin. Hierbei fand ich nun in verschiedenen Organen (Leber, Milz, Herz, Lunge, Pankreas) sehr oft Fasern von tief violett-blauer Färbung. Diese Fasern finden sich vereinzelt und sehen den Gitterfasern sehr ähnlich. Vor allem aber trat an den Nierenpräparaten die Membrana popria der Harnkanälchen sehr deutlich hervor. Diese Veränderungen waren immer am ausgesprochensten bei den Schnitten aus der Oberfläche des Versuchsstückes. Zuerst vermutete ich, daß diese deutliche Färbung ein Phänomen der Autolyse sei oder etwa bei zu geringer Desinfektion durch Fäulniswirkung bedingt würde. Um das zu entscheiden, kochte ich ein ganz frisch entnommenes Organstück 5 Minuten bis $\frac{1}{4}$ Stunde. Es wurden wieder Schnitte mit Hämatoxylin-Eosinfärbung angefertigt. Bei der mikroskopischen Untersuchung erschienen die Fasern noch deutlicher. Hierdurch war bewiesen, daß die gute Darstellbarkeit der Fasern weder auf Autolyse noch auf Fäulniswirkung beruht, sondern allein durch die Hitzefixierung zustande kommt. Ich konnte nun allgemein feststellen, daß diese Hitzefixierung eine gute Methode zur Darstellung der Basalmembranen ist und arbeitete daher im Pathologischen Institut des Krankenhauses im Friedrichshain - Berlin (Prof. Dr. *L. Pick*) die

Methode noch weiter aus. In der vorliegenden Mitteilung berichte ich über ihr Ergebnis an Nieren und Nebennieren. Durch die hier erzielten Befunde wird auch der Einwand widerlegt, daß die gute Darstellung dieser Fasern vielleicht durch Beizwirkung zustande kommt. In Jena enthält das Wasser reichlich Chlor, selbst das destillierte Wasser ist nicht frei davon. Bei meinen Versuchen hier in Berlin aber wurde nur reines destilliertes Wasser benutzt, wobei sich die Fasern ebenso deutlich darstellen ließen. Deswegen kann eine Beizwirkung nicht in Frage kommen. Die Methode nimmt bei Hämatoxylin-Eosinfärbung folgenden Gang:

A. Fixierung und Einbettung:

1. Ein ungefähr 2 ccm großes Stück frisches Material wird in kochendes Wasser gebracht und 5—15 Minuten gekocht.
2. 24 Stunden oder länger in 10% Formol.
3. Etwa 10 Stunden in fließendem Wasser.
4. 24 Stunden in 96% Alkohol.
5. 24 Stunden in absolutem Alkohol.
6. 4—6 Stunden in Xylol.
7. 2—4 Stunden in Paraffin I.
8. 2—3 Stunden in Paraffin II.
9. Gießen des Blockes. Schnitte nicht aufziehen, sondern gleich in Xylol.

B. Färbung:

1. Schnitte aus Xylol in absolutem Alkohol 2 Minuten.
2. 1 Minute in 96% Alkohol.
3. 1 Minute in 70% Alkohol.
4. 1 Minute in Wasser.
5. 10 Minuten in Hämatoxylin oder Hämalaun (*P. Mayer*).
6. 5 Minuten in Wasser.
7. 3—5 Minuten in 1proz. alkoholischer Eosinlösung.
8. 1 Minute in Wasser.
9. 1 Minute in 70% Alkohol.
10. 1 Minute in 90% Alkohol.
11. 1 Minute in absolutem Alkohol.
12. 1 Minute in Xylol.

Aufziehen der Präparate, Trocknen mit Fließpapier, Canadabalsam.

Nach der Färbung mit Hämatoxylin darf mit Salzsäure-Alkohol nicht differenziert werden, da hierdurch die Basalmembranen wieder verschwinden. Die Paraffinschnitte können auch wie gewöhnlich aufgezogen und getrocknet werden. Die Membranen treten dann aber nicht so deutlich hervor.

Werden die Paraffinschnitte mit *Weigerts* Elastinfärbung behandelt, so zeigt die Basalmembran eine grau-blaue Farbe, wobei dann natürlich

auch gleichzeitig die elastischen Fasern zur Darstellung kommen. Dabei wird folgendermaßen verfahren:

- | | |
|--|------------|
| 1. Aufgezogene Paraffinschnitte in Xylol | 5 Minuten |
| 2. Alkohol absol. | 2 Minuten |
| 3. <i>Weigerts</i> Elastinfarbe (1% Salzsäure-Alkohol, dem auf 100 ccm 5 ccm <i>Weigerts</i> Elastinfarbe zugesetzt ist) | 24 Stunden |
| 4. Wasser | 2 Minuten |
| 5. Alkohol | 2 Minuten |
| 6. Alkohol absol. | 2 Minuten |
| 7. Xylol | 1 Minute |

Trocknen, Canadabalsam, Deckglas.

Beide oben angeführten Färbungsmethoden gaben gute Resultate. Außer der Verschiedenheit der Färbung war in beiden Fällen Form und Größe der Basalmembran genau die gleiche. Bei frischen Schnitten dagegen, wo die Abkochung der Organe fortfiel, war das Resultat stets ein anderes. Bei solchen Schnitten färbte sich die Basalmembran niemals. Als dritte Vergleichsfärbung wandte ich außer den beiden oben genannten noch die *Mallorysche* Methode an. Die Basalmembran ist von tiefblauer Farbe und sehr deutlich zu erkennen. Trotzdem ist sie bei dieser auch von *Merkel*¹⁾ so gerühmten Methode nicht so deutlich zu erkennen wie bei den Schnitten, die nach der Hitze-fixierungsmethode gefärbt sind.

Durch das Kochen wird die Struktur der Organe gar nicht verändert. Nur bei zu langem Kochen schrumpft das Gewebe. Bei längerem Kochen als eine halbe Stunde zeigt sich die Basalmembran nicht mehr so deutlich.

Nunmehr möchte ich den besonderen Befund meiner Präparate beschreiben:

1. *Niere*: Bei der Hämatoxylin-Eosin- und der *Weigertschen* Elasticafärbung sieht man die Basalmembran der Harnkanälchen, *Bowmanschen* Kapseln und der Glomerulusschlingen außerordentlich scharf und deutlich. Man erkennt, am besten bei starker Vergrößerung, daß die Membrana propria der äußeren (parietalen) epithelialen Glomerulus-

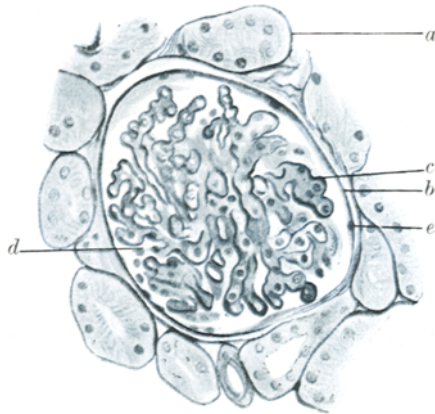


Abb. 1. Niere vom Erwachsenen; Kochfixierung; Elasticafärbung. Zeiß Ok. III Obj. D. T. = 150. a = Basalmembran der Harnkanälchen; b = Basalmembran der Glomeruluskapsel; c = Basalmembran der Glomerulusschlingen; d = Epithelzellen auf den Glomerulusschlingen; e = Epithelzelle des äußeren Blattes der Glomeruluskapsel.

kapsel oft aus zwei Lamellen besteht, einer inneren, die dem Epithel unmittelbar anliegt, und einer äußeren. Dabei ist das innere Blatt dem äußeren manchmal angelagert. An anderen Stellen wieder sind beide Blätter getrennt sichtbar. Am Glomerulus selbst ist die Basalmembran zwischen Glomerulusschlingen und Epithelzellen gelagert. Die Glomerulusschlingen (vgl. Abb. 1) haben gleichmäßige Windungen. Ferner sind die Vasa efferentia und afferentia deutlich zu sehen. Bei den Harnkanälchen (vgl. Abb. 2) zeigt die Basal-

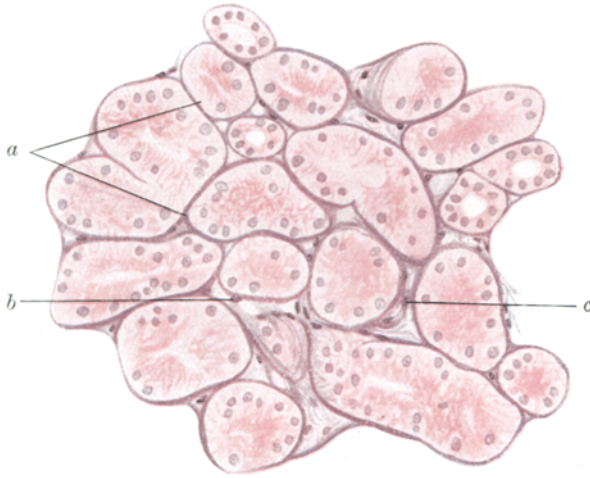


Abb. 2. Niere vom Erwachsenen; Kochfixierung; Hämatoxylin-Eosinfärbung. Leitz Ok. II Obj. 6-T = 155. *a* = Basalmembranen der Harnkanälchen; *b* = Bindegewebszelle; *c* = Fasernetzwerk.

membran nicht stets die gleiche Dicke. An den dickeren Stellen besteht sie aus zwei oder mehreren feinen Faserschichten. Von außen lagern Bindegewebszellen der Basalmembran an. Zwischen den einzelnen Harnkanälchen ist ein feines Fasernetzwerk, in welchem die Bindegewebszellen aufgehängt sind, sichtbar (Abb. 2). Bei den Schaltstücken ist die Basalmembran immer nur als eine dünne Linie erkennbar.

2. *Nebenniere*: Sowohl in der Mark- wie in der Rindensubstanz (Abb. 4 bzw. 3) läßt sich die Basalmembran deutlich erkennen. Außerdem sind in der Marksubstanz und der Zona reticularis auch die einzelnen Zellen durch blaue Linien scharf begrenzt. Der Basalmembran angelagert sind hier ebenfalls Bindegewebszellen (Abb. 4).

Die „*Membrana propria*“ der Harnkanälchen hat zuerst *Mall*²⁾ im Jahre 1891 beschrieben. Er zeigte, daß diese Membran aus feinen Fasern retikulären Gewebes besteht, welches die Harnkanälchen ringförmig umgibt. Diese von *Mall* beschriebene *Membrana propria* ist nach *Merkel*¹⁾ mit der Basalmembran identisch.

In den vorliegenden Präparaten ist unschwer zu erkennen, daß die Basalmembran aus einer Reihe von feinen Fasern besteht, welche die Harnkanälchen ringförmig umgeben. Dieses wurde auch von anderen Autoren hervorgehoben. [Mall²⁾, Rusakoff³⁾, Krauspe⁴⁾ u. a.]. Die Bindegewebskerne liegen zum Teil der Basalmembran dicht an. Zwischen den Membranen liegt noch ein feines Fasernetzwerk, in dem die Bindegewebszellen wie aufgehängt erscheinen [Rühle¹⁾].

Nach den bisherigen Untersuchungen ist man zu zweierlei verschiedenen Ansichten über den Ursprung der Basalmembran gekommen. Die einen halten die Basalmembran für bindegewebiger Herkunft

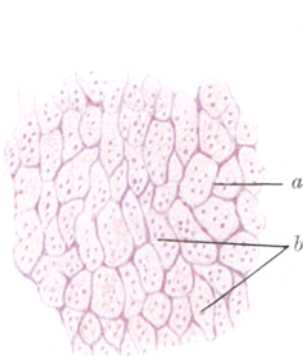


Abb. 3. Nebenniere (Zona reticularis) vom Erwachsenen; Kochfixierung; Hämatoxylin-Eosinfärbung. Leitz Ok. I Obj. 4-T = 155.
a = Basalmembran; b = Zellenstränge.

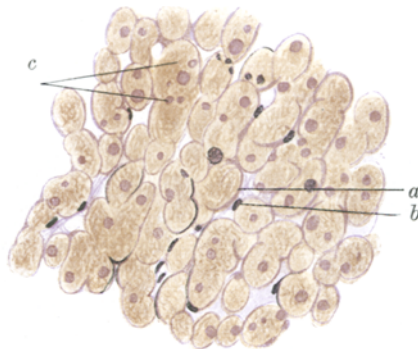


Abb. 4. Nebenniere (Marsubstanz) vom Erwachsenen; Kochfixierung; Hämatoxylin-Eosinfärbung. a = Basalmembran; b = Bindegewebszelle; c = Zellenstränge.

[Merkel¹⁾, Korff⁶⁾, Hansen⁷⁾], andere wieder lehnen jeden direkten Einfluß von Bindegewebszellen auf Entstehung und Weiterbildung der Basalmembran ab [Schuberg⁸⁾ u. a.]. Nach meinen Untersuchungen zeigt es sich, daß die Basalmembran in den Nieren aus einzelnen feinen Fasern sich zusammensetzt. Eng angelagert sind diesen immer Bindegewebszellen, die sich noch reichlicher in der Nebenniere finden. Es besteht nach meiner Meinung sicherlich eine genetische Verbindung der Basalmembran mit den Bindegewebszellen. Besonders hinweisen möchte ich darauf, daß sich in der Nebenniere nach meiner Färbung deutlich eine Membrana propria, sowohl in der Mark- wie in der Rindensubstanz findet, was von Stöhr⁹⁾ bestritten war.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Merkel, Fr., Über die Entwicklung des Bindegewebes. Anat. Hefte 38. I. Abt., H. 115. — ²⁾ Mall, F., Das retikulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abhandl. d. Kgl. sächs. Ges. d. Wiss., Math.-physik.

Klasse **17**, N. 4. 1891. — ³⁾ *Rusakoff, A.*, Über die Gitterfasern der Lunge unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol. **45**. 1909. — ⁴⁾ *Krauspe, Carl*, Beiträge zur Kenntnis der Gitterfasern mit besonderer Berücksichtigung der Niere. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **237**. 1922. — ⁵⁾ *Rühle, Georg*, Über die Membrana propria der Harnkanälchen und ihre Beziehung zu dem interstitiellen Gewebe der Niere. Arch. f. Anat. u. Physiol. **48**. 1897. — ⁶⁾ *Korff, K.*, Die Entwicklung der Zahnbeingrundsubstanz der Säugetiere. Arch. f. mikrosk. Anat. **67**. 1905. — ⁷⁾ *Hansen, Fr.*, Untersuchungen über die Gruppe der Binde substanz. Anat. Hefte **27**. 1905. — ⁸⁾ *Schuberg, A.*, Untersuchungen über Zellverbindungen. Zeitschr. f. wiss. Zool. **87**. 1907. — ⁹⁾ *Stöhr, Ph.*, Lehrbuch der Histologie. 18. Aufl. 1919.
