

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. E. RANDERATH).

Indicatoruntersuchungen an der Niere mit Triphenyltetrazoliumchlorid*, **.

(Nebst Bemerkungen zum Problem der sog. akuten Nephrose.)

Von

WILHELM DOERR***.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. August 1951.)

Da eine frühere Mitteilung des Verf. „Über Anwendung des Reduktionsindicators 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) in Histologie und Histophysiologie“ eine gewisse Beachtung gefunden hat, so mag es erlaubt sein, *heute* über neue Untersuchungen zu berichten, deren Ergebnisse geeignet sind, das Verständnis für die „Leistungsbreite“ des TTC in bestimmter Richtung zu vertiefen.

Das TTC wird zur Zeit als Reduktionsindicator auf den verschiedensten Gebieten der experimentellen Biologie und Pathologie verwendet. Auf die zusammenfassenden Mitteilungen und die Untersuchungen von JERCHEL, BIELIG, DOERR, v. HAYEK, H. BECKER und QUADBECK sei verwiesen. Für den Leser vorliegender Zeilen sei daran erinnert, daß TTC *auch* in Gegenwart von Sauerstoff bei einem p_{H} von 6,7—7,2 in wasserunlösliches, jedoch fett-, lipid- und alkohollösliches Triphenylformazan reduziert wird. Letzteres fällt in Krystallform aus. Bei Anwendung der *gewöhnlichen* Gefrierschnittechnik könnte man annehmen, daß die Formazankrystalle am Standort reduzierender Vorgänge im Gewebe ausfallen würden. Das trifft jedoch, wie gleich bemerkt sei, nur mit Einschränkung zu. Weiter hat sich herausgestellt, daß für die Ausführung z. B. von quantitativen Untersuchungen am besten doch unter anaeroben Bedingungen gearbeitet wird, entgegen einer ursprünglichen Annahme von R. KUHN.

Vorliegende Berichte beschäftigen sich ausschließlich mit der Verwendbarkeit des TTC zu Untersuchungen *in vivo*. Die Indicatorsubstanz wurde aus folgenden Gründen intraarteriell appliziert: 1. Eine intravenöse Anfärbung bestimmter Organe ist mit dem Leben der Versuchstiere nicht vereinbar. Das TTC gelangt nach intravenöser Injektion in den großen Kreislauf und verursacht Tod, wahrscheinlich durch Atemlähmung. 2. Die intraarterielle Gabe einer wäßrigen TTC-Lösung ermöglicht bei geeigneter Technik die Beschickung nur eines einzigen

* Herrn Prof. Dr. RÖSSLE zur Vollendung des 75. Lebensjahres verehrungsvoll zugeeignet.

** Die Arbeit wurde ausgeführt mit den Mitteln der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft; der Notgemeinschaft sei bestens gedankt.

*** Unter Mitarbeit von Herrn Dr. V. BECKER, Volontärassistent am Institut.

Organes mit dem Indicator. Es besteht daher die Aussicht, unter bestimmten Voraussetzungen eine den natürlichen Reaktionsverhältnissen einigermaßen entsprechende regionär-topographische Verteilung der Formazankrystalle zu erreichen.

Die Einbringung des Indicators in die Blutbahn während des Lebens hat den Vorteil, daß eine direkte Einwirkung des Luftsauerstoffes unmöglich gemacht wird. Dagegen war die Gegenwart des Blutsauerstoffes durchaus willkommen, durfte man so doch die Überzeugung haben, daß die Verhältnisse der TTC-Reduktion in vivo denen bei sonstigen biologischen Reduktionsvorgängen entsprechen würden. Nach einigen orientierenden Versuchen erwies sich die *Niere* als das für unsere Absichten am *besten geeignete Organ*, und zwar aus *anatomischen* Gründen: Die Niere als gestieltes paariges Organ konnte mit wäßriger TTC-Lösung von der Arterie aus in dosierbaren Mengen beschickt werden. Die so behandelte Niere konnte nach verschieden langer Versuchszeit exstirpiert, und die unbehandelte Niere der anderen Seite aus Gründen des Vergleiches untersucht werden.

Ähnliche Versuche wie an der Niere wurden an Leber, Herzmuskel und Gehirn angestellt. Die experimentelle Arbeit an der Niere hat den Vorteil, daß — wenn beabsichtigt — das Leben der Tiere nach einseitiger renaler TTC-Applikation erhalten und damit die Versuchsdauer reguliert werden kann. Dagegen stößt die vitale Reduktionsanzeige z.B. im Gehirn auf erhebliche Schwierigkeiten (H. BECKER und QUADBECK). Über die Ergebnisse unserer Untersuchungen an Leber und Herzmuskel soll später berichtet werden.

Methodik.

Bei 25 jugendlichen Kaninchen im Alter von etwa 5—6 Monaten wurde durch Laparotomie (in Morphin-Äthernarkose) der Stiel der linken Niere freigelegt. Alle zum Hilus hin verlaufenden Gefäße und Nervenstränge wurden sorgfältig mit Novocain anästhesiert, die Nierenarterie wurde präparatorisch isoliert, mit dem Dechamps unterfahren und durch eine passend gebogene, dünne, feinst geschliffene Stahlkanüle unter Leitung des Auges punktiert. Das gelingt bei einiger Übung leicht und sicher. Man sieht ohne weiteres, ob die Injektionsnadel im Inneren der Schlagader liegt. Auch die dann einsetzende Injektion ist bei der durchscheinend dünnen Arterienwand leicht zu übersehen: Der Strahl der injizierten Flüssigkeit hebt sich deutlich ab vom dünnen, auch nach Einführung der Nadel sichtbaren Randblutstrom. Die Kanüle darf nun nicht direkt mit einer Spritze verbunden sein. Es empfiehlt sich sehr, einen dünnen Gummischlauch (Fahrradventil) dazwischenzuschalten; man wird dadurch beweglicher. Selbstverständlich ist die Injektion von Luftblasen peinlich zu vermeiden. Ist die Injektion gut gelungen, dann ist die Blutung nach Herausnahme der Kanüle im allgemeinen ganz gering. Sie kann dann durch weiche Kompression, auch der Aorta, für etwa 30 sec Dauer gestillt werden. Das TTC wurde in physiologischer, meist gepufferter Kochsalzlösung (ausgenommen lediglich Kaninchen Nr. 39), von $p_H = 7,2$, in Konzentrationen von 3—10%, in einer Gesamtflüssigkeitsmenge von gewöhnlich nicht über 1 cm³, ausnahmsweise bis 4 cm³, langsam injiziert. Die *histologische* Verarbeitung erfolgte

nach den üblichen Regeln: Fixierung in 10%igem neutralem Formalin, in Alkohol, Bouin, Carnoy; Gefrier- und Paraffinschnitte. Färbung mit Sudan III, HE, HEIDENHAINs Azan, nach BEST, sowie im Falle des Bedarfes Reaktion nach v. KOSSA. Untersuchung der ungefärbten in Gelatineglycerin eingedeckten Schnitte auch mit Phasenkontrast, im Dunkelfeld und im ultravioletten Licht.

Ergebnisse.

Bei einwandfreier Technik zeigte die Niere noch während der Einspritzung eine zunächst blasse, dann fleckige und zuletzt eine ziemlich gleichmäßige dunkelrote oder purpurrote Farbe ihrer Oberfläche. Das aus der Niere während der Injektion zurückströmende Venenblut zeigt vorübergehend eine hellrote Farbe. Bei zu hoher Dosierung starben einige Tiere sofort, offenbar an den Folgen des Überlaufs von TTC aus der Niere in den großen Kreislauf. Der allgemeine Sektionsbefund solcher Fälle war unergiebig. Man darf annehmen, daß der Tod infolge Lähmung des Atemzentrums (Schnappatmung, bzw. ganz plötzlicher Atemstillstand, akute Lungenblähung) eingetreten war. Je nach der Zeitdauer der Versuche über Minuten, Stunden oder Tage sprechen wir von „*Minuten-, Stunden- oder Tagestieren*“.

I. Minutentiere.

Bei 10 Kaninchen wurden Mengen von je 10—120 mg TTC in 3-, 4- und 10%iger, meist wäßriger Lösung eingespritzt. Die Zeitdauer vom Beginn des Versuches entweder bis zur Exstirpation der Niere oder bis zum Spontanod des Tieres betrug jeweils 2—30 min. In 4 Fällen konnte die Niere regelrecht herausgenommen werden. Sechsmal aber starben die Tiere unter dem Bilde der Atemlähmung. Man darf also annehmen, daß es hierbei zum obengenannten wirksam gewordenen Überlauf des TTC aus der Niere in den großen Kreislauf gekommen war. Einige stark gekürzte Versuchsprotokolle mögen das Typische erläutern.

1. *Kaninchen Nr. 33.* Injektion von 20 mg TTC in 4%iger Lösung. *Versuchsdauer* etwa 3 min, Spontanod. Schon während der Einspritzung etwas fleckig rote Verfärbung der Oberfläche. Die nach dem Tode sofort herausgenommene Niere zeigt eine deutliche, ziemlich gleichmäßig ausgebreitete purpurrote Farbe. *Mikroskopisch:* Im ungefärbten formolfixierten Gefrierschnitt reichliche Krystalle besonders im Bereich der Rinde. Glomeruli jedoch fast ganz frei. Zahlreiche aber weniger dicht stehende Konkreme gröberen Kornes in den Epithelien der gewundenen Harnkanälchen. Dagegen besonders reichliche feinstkörnige und daher ziemlich dicht stehende Krystallbildung im Bereich der Epithelien der geraden Kanälchen. Im HE-Präparat keine Krystalle (Alkohol), jedoch sog. trübe Schwellung des Protoplasma sehr zahlreicher Epithelien der mittleren und inneren Rindenschicht. Vacuoläre Umwandlung der Hauptstückepithelien der äußersten Rinde, auch der HENLEschen Schleifen. Keine Verfettung.

2. *Kaninchen Nr. 36.* Injektion von 15 mg TTC in 3%iger Lösung, *Versuchsdauer* 4 min, Exstirpation der linken Niere. *Makroskopisch:* Im nichtgefärbten formolfixierten Gefrierschnitt etwas ungleichmäßige Verteilung der Konkreme

im Bereich der Rinde: Starker Wechsel von krystallarmen und -reichen Abschnitten, etwa der Stärke der *Blutverteilung* entsprechend. Prinzipiell ähnliche Verhältnisse wie bei Kaninchen Nr. 33. Danach trifft die feinstkörnige, dichtest stehende Krystallablagerung die Epithelien der geraden, die Krystallabscheidung gröberen Kornes aber die der gewundenen Kanälchen. Insoweit sich eine solche Differenzierung am ungefärbten Schnitt treffen läßt, scheint die Krystallbildung größten Kornes die Tubuli contorti I. Ordnung, die Krystallbildung geringerer Stärke die Tubuli contorti II. Ordnung zu bevorzugen. Im Inneren einiger Gefäße der Markrindengrenze, sowie einiger Schleifen azanrote runde Scheiben (Tropfen). Im HE-Präparat leichte sog. trübe Schwellung, sowie angedeutete Vacuolisierung des Protoplasma der äußeren Rindenkanälchenepithelien. Hyperämie.

3. *Kaninchen Nr. 12.* 50 mg TTC in 10%iger Lösung, Spontanod nach 4 min. *Mikroskopisch:* Im ungefärbten Schnittpräparat besonders typische Verteilung der Konkreme (Abb. 1 und 2). Äußerst zierliche dicht stehende, feinstkörnige Verstäubung der Epithelien der geraden Harnkanälchen; etwas größere, jedoch weniger dicht stehende Krystalle in den Hauptstückepithelien. Glomeruli praktisch frei von Konkrementen. Ebenfalls keine Bindung der Konkreme an das interstitielle Bindegewebe, an Gefäße und auch nicht an die Kanälchenlumina. Im gefärbten Schnittpräparat nur leichte trübe Schwellung.

4. *Kaninchen Nr. 39.* Injektion von 120 mg TTC in 3%iger Konzentration, gelöst in 0,3%iger Bernsteinsäure, gepuffert, $p_H = 7,5$; es werden insgesamt 4 cm³ Flüssigkeit eingespritzt. Vor Versuchsbeginn Einbinden einer dünnen Kanüle in die Nierenvene, Ligatur des proximalen Venenstumpfes. Während der Injektion langsamer Entzug von 30 cm³ venösen Blutes aus der Niere. Auf diese Weise konnten weit größere TTC-Mengen appliziert werden als sonst, da durch die venöse Ableitung der überlaufende Indicator vom großen Kreislauf (und damit vom Atemzentrum) ferngehalten werden konnte. Gesamte *Versuchsdauer* 5 min. Sofort nach Beendigung der Einspritzung Exstirpation der Niere. Diese zeigt makroskopisch auf Ober- und Schnittfläche eine purpurrote Farbe. Das Tier bleibt am Leben (!), Kochsalzinfusion durch Ohrandvene. *Mikroskopisch:* Stärkste Krystallablagerung, ganz überwiegend in der Rinde, besonders in der innersten Rindenschicht. Dagegen sind die äußere und mittlere Rindenschicht weniger stark betroffen (Abb. 3). Die Bestäubung mit Krystallen ist ganz allgemein etwas stärker und von größerem Korn als bei allen anderen Fällen. Das läßt sich aus der verhältnismäßig großen TTC-Menge, die injiziert werden können, gut verstehen. Wiederum besonders dichte, jedoch feinere Bestäubung der Schleifen. Im Bereich des Markes mäßig viel Krystalle. Lediglich die Epithelien einiger Sammelröhren führen mehr Formazan-krystalle und heben sich daher im ungefärbten Schnittbild besser heraus. Im HE-Präparat feinvacuolare Umwandlung des Protoplasma der Epithelien der äußeren und inneren Rindenzone, wabige Auflockerung des Protoplasma der Schleifenepithelien. Hyperämie.

Ergebnis der sog. Minutenversuche. Nach Einspritzung von TTC in Mengen von 10—120 mg (3—10%ig), teils in physiologischer NaCl-Lösung, teils in 3%iger Konzentration gelöst in einer 0,3%igen Lösung von Bernsteinsäure (letztere als Wasserstoffdonator), werden innerhalb weniger Augenblicke rote wasserunlösliche Krystalle von Triphenylformazan gebildet und in ganz überwiegender Bindung an die Tubulusepithelien niedergeschlagen. Dabei zeigt sich folgende *Regel:* Die größten und dicksten Krystalle finden sich im Bereich des Tubulus contortus I. Ordnung (Abb. 4a), weniger grobe im Bereich des Tubulus contortus

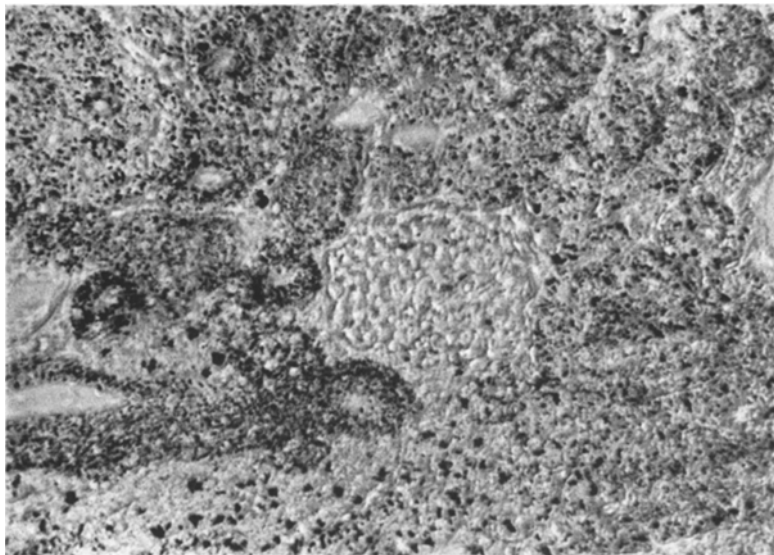


Abb. 1. Gefrierschnitt Niere, Kaninchen Nr. 12, Zustand nach Injektion von 10 %iger Lösung von TTC in physiologischer NaCl-Lösung. 50 mg; Flüssigkeitsmenge von 1,0 cm³; 4 min nach Injektion; ungefärbtes Präparat; *Phasenkontrast*; Vergrößerung 1:380; in Bildmitte Glomerulus; reichlich Formazankrystalle im Bereich der Tubulusepithelien, besonders in denen der sog. Nebentstücke.

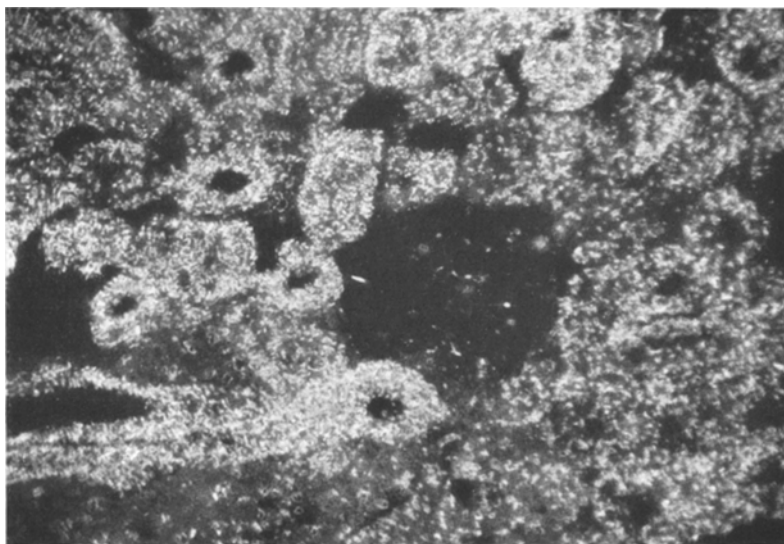


Abb. 2. Gleiches Präparat wie in Abb. 1. Gleiche Vergrößerung, aber Mikrophotogramm im *Dunkelfeld*. Die Formazankrystalle leuchten stark auf. Einige Krystalle auch im Bereich des jetzt wie ausgespart aussehenden Glomerulus. Nur die Betrachtung im Dunkelfeld vermittelt den richtigen Eindruck von der Reichlichkeit der Krystallbildung. Nur wenig Krystalle im Interstitium.

II. Ordnung, kleine zierliche aber vielfach sehr dicht stehende Konkreme im Bereich der Schleifen (Abb. 4b). Mäßig zahlreiche, ziemlich weit auseinanderliegende Krystalle finden sich im Bereich der Epithelien der Sammelröhrchen. Somit ist im allgemeinen die Nierenrinde unvergleichlich stärker befallen als das Mark. Die Krystalle liegen gewöhnlich im Inneren der Epithelzellen; sie lassen dort aber keine sichere Bindung an typische Strukturen, und zwar weder an Zellkern, Kern-

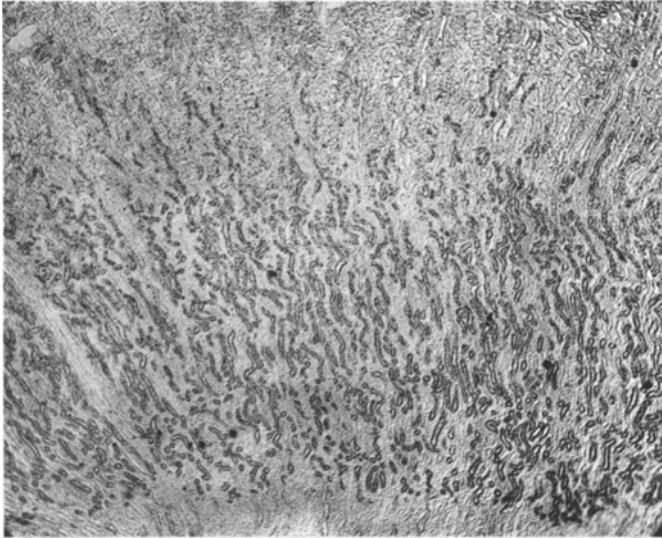


Abb. 3. Gefrierschnitt Niere, Kaninchen Nr. 39. Zustand nach Injektion von 120 mg TTC in 3 %iger Konzentration, gelöst in 0,3 %iger Bernsteinsäure; Flüssigkeitsmenge 4,0 cm³; 5 min nach der Einspritzung; ungefärbtes Präparat, gewöhnliches Mikrophotogramm; Vergrößerung etwa 60mal; Abscheidung der Formazankrystalle im Bereich der Harnkanälchenepithelien der innersten Rindenzone; beachte Abgrenzung nach oben zu durch mittlere Rindenzone, nach unten zu durch das Mark.

membran noch an Mitochondrien erkennen. Sie liegen jedoch sehr häufig, jedenfalls nach den Bildern im ungefärbten Gefrierschnitt zu urteilen, auch auf der „Oberfläche“ der Epithelien. Sie reichen nämlich einfach über Zellgrenzen hinweg. Daß aber trotz dieser „Unordnung“ der Krystallablagerung im einzelnen eine bestimmte Regelmäßigkeit vorhanden sein muß, geht einfach daraus hervor, daß alle *nichtepithelialen* Strukturen so gut wie keine Formazankrystalle besitzen. Zwar finden sich einige Konkreme in den Glomeruli, einige wenige auch im Interstitium, vereinzelt auch in den Lumina der Harnkanälchen. Es läßt sich aber nicht entscheiden, ob diese spärlichen Krystalle am Orte ihrer Auffindung entstanden oder sekundär dorthin verlagert sind (etwaige Verschiebung der Konkreme beim Gefrierschneiden). Wenn auch die Konkrementablagerung im allgemeinen die durch die Abb. 1 und 2 ver-

anschaulichte Regelmäßigkeit erkennen läßt, so kommen doch auch Ausnahmen vor. Unter bestimmten im einzelnen nicht sicher erkennbaren

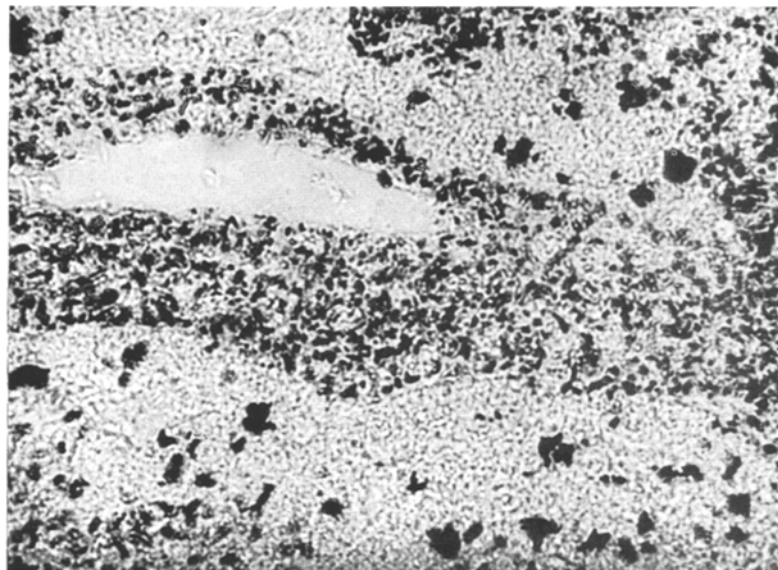


Abb. 4 b.

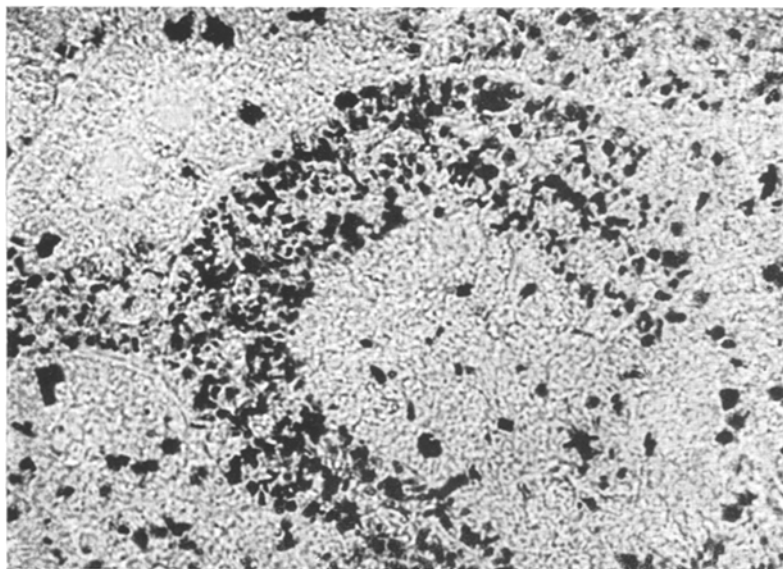


Abb. 4 a.

Abb. 4 a u. b. Gefrierschnitt Niere, Kaninchen Nr. 36. Zustand nach Injektion von 15 mg TTC in 3 %iger Lösung in physiologischer NaCl-Lösung. Flüssigkeitsmenge 1,0 cm³; 4 min nach der Einspritzung; ungefärbtes Präparat; gewöhnliches Mikrophotogramm; Vergrößerung etwa 1:400; a) Ablagerung der Formazankristalle im Bereich eines Tubulus contortus (wahrscheinlich Tub. cont. J). b) Ablagerung von Kristallen im Bereich der Pars recta eines sog. Hauptstückes I. Ordnung. Man beachte, daß die Kanälchen der unmittelbaren Nachbarschaft weit weniger Kristalle führen.

Bedingungen werden verschiedene Rindenareale (Abb. 3), ja selbst benachbart gelegene Nephronen (Abb. 4 und 5), unterschiedlich stark

befallen. Das hängt möglicherweise, um es vorwegzunehmen, mit verschiedener Durchblutungsgröße und wechselndem Funktionszustand zusammen. Man könnte also unter Umständen mit Hilfe der TTC-Methode zu entscheiden versuchen, welche Nephronen aktiv und welche in Ruhe sind.

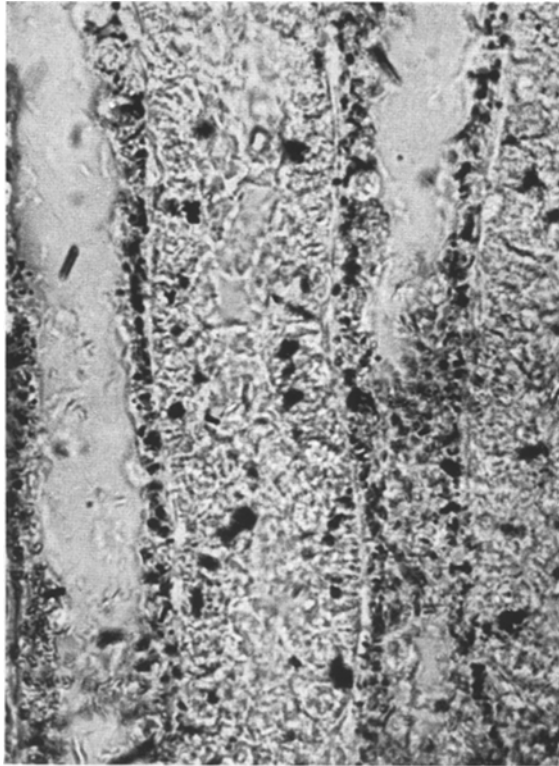


Abb. 5. Gefrierschnitt Niere, Kaninchen Nr. 12. Verhältnisse wie in Abb. 1 und 2, jedoch gewöhnliches Mikrophotogramm; Darstellung der Pars recta eines Hauptstückes in Bildmitte, zu beiden Seiten je ein dünner Schleifenschenkel. Man beachte die relativ geringe Formazanabscheidung im Bereich der dicken Epithelien des Hauptstückabschnittes und die im Gegensatz hierzu relativ starke (paradoxe) Bestäubung der flachen Epithelien der Schleifenschenkel. Es handelt sich bei letzteren, wie ausdrücklich bemerkt sei, nicht etwa um intertubuläre Gefäße. Vergrößerung etwa 1:480.

Werden die nichtgefärbten Gefrierschnitte durch gewöhnliche HE-Präparate kontrolliert, dann findet sich, wie zu erwarten, keine Spur mehr von den Krystallen (Alkohol, Xylol). Etwas überraschend jedoch sind die dürrtigen Veränderungen, die man dann in den Tubulusepithelien nachweisen kann. Es zeigt sich lediglich eine sog. trübe Schwellung und eine teils feine, teils gröber-vacuoläre Umwandlung des Protoplasma der äußersten Rindenkanälchen, aber auch der Schleifenepithelien. Im

ganzen genommen, es sei das ausdrücklich betont, sind *diese* Befunde spärlich.

Die schönsten Krystallbilder erhält man nach einer Zeit von 4—5 min. Nach 10 min (Kaninchen Nr. 98) ist bei sonst entsprechenden Versuchsbedingungen die Krystallablagerung eher weniger stark. Nach 30 min (Kaninchen Nr. 100) findet man zwar noch immer die beschriebene regelhafte Verteilung, aber die Krystalle liegen deutlich, und zwar insgesamt, weniger dicht und sind nur jeweils noch $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$ so groß wie bei den Versuchen von 4—5 min Dauer. Das bedeutet also, daß die Formazankrystalle bereits in Reduktion, und zwar hinsichtlich Anzahl, Größe und Verteilungsdichte begriffen sind.

II. Stundentiere.

Bei 4 Kaninchen wurden Mengen von je 20 mg TTC in jeweils 4-, 5- und 10%iger Lösung in die linke Nierenarterie eingespritzt. Untersuchung der linken Niere nach 1 Std, sowie nach 6, 12 und 18 Std. *Makroskopisch* zeigt die Niere stets eine kräftige dunkelrote Farbe und eine weiche brüchige Konsistenz. *Mikroskopisch* lassen sich im ungefärbten Schnitt nach 1 Std nur noch wenige, unregelmäßig verteilte und ganz unterschiedlich große Krystalle, nach 6, 12 und 18 Std keine Krystalle mehr nachweisen. Bemerkenswert ist, daß die Konkreme nach einer Versuchsdauer von 1 Std teilweise keine typische Krystallform mehr besitzen, sondern gewundene, teils stark abgebogene, teils geschlängelte Gebilde darstellen. Es sieht so aus, als ob die starren Krystalle ab- und umgeschmolzen, „verflüssigt“ und durch die histologische Verarbeitung in der gerade erreichten Form festgehalten worden wären. Im HE-Präparat nurmehr geringgradige Parenchymveränderungen im Sinne trüber Schwellung und leichter vacuolärer Umwandlung des Protoplasma der Epithelien der äußersten Rindenkanälchen. Leichte Schwellung der Glomeruli. Starke nicht ganz gleichmäßige Hyperämie. Die zunächst auch in den vorliegenden Beobachtungen höchstwahrscheinlich reichlich vorhanden gewesenen Krystalle sind nach verhältnismäßig kurzer Zeit verschwunden. Ob sie sozusagen „spurlos“ verschwunden sind, auf welchem Wege sie beseitigt werden und ob indirekte Folgen zurückbleiben, läßt sich aus den vorliegenden Schnitten nicht erschließen. Es wird jedoch auf diese Fragen zurückzukommen sein.

III. Tagestiere.

11 Kaninchen erhielten jeweils einmalige Dosen von 10—20 mg TTC wiederum in Lösungen von 3—10%. Die pathologisch-anatomische Bearbeitung wurde in 4 Fällen nach 1 Tage, 2mal nach 4, 1mal nach 5, 2mal nach 6 und 2mal nach 8 Tagen vorgenommen. Siebenmal wurde das Tier durch Entblutung getötet, 1mal wurde die mit TTC beschickte

Niere exstirpiert, 3 Tiere starben spontan (Bronchopneumonie). Der makroskopische Sektionsbefund bietet wiederum keine Besonderheiten; die linke Niere ist etwas vergrößert, sie zeigt auf der Schnittfläche eine blaß- und dunkelrote Farbe. Der mikroskopische Befund ist reichhaltiger. Es seien deshalb einige Einzelbeispiele herausgestellt.

1. *Kaninchen Nr. 1.* Injektion von 20 mg TTC in 10%iger Lösung; fleckige Formazanröte; Tötung nach 1 Tag durch Nackenschlag und Entblutung. *Mikroskopisch:* Keine Krystalle, dagegen starke trübe Schwellung, stellenweise hyalintropfige Eiweißspeicherung und vacuoläre Umwandlung des Protoplasma der Epithelien der Tubuli contorti. Einzelne Epithelnekrosen. Feinkörnig-fädige Gerinnsel in den Lumina der geraden Harnkanälchen, vereinzelte hyaline Cylinder.

2. *Kaninchen Nr. 34.* Injektion von 15 mg TTC in 3%iger Lösung. Während der Einspritzung landkartenförmig gefelderte Formazanrötung der Nierenoberfläche. In den Tagen nach der Operation Nachweis von Eiweiß und Zucker im Urin. Nach 4 Tagen Tötung durch Nackenschlag und Entblutung. *Mikroskopisch:* Keine Krystalle, dagegen im Bereich der äußersten Rinde reichlich vacuolige Umwandlung der Kanälchenepithelien, in der mittleren und inneren Rindenschicht mehr körnig-schollige Trübung und Entmischung. Einzelne Epithelnekrosen. In den Lumina der Kanälchen lockere Eiweißgerinnsel, sowie einige hyaline Cylinder. Fleckige Hyperämie.

3. *Kaninchen Nr. 28.* Injektion von 20 mg TTC in 4%iger Lösung. Nach 6 Tagen Tötung durch Nackenschlag und Entblutung. *Mikroskopisch:* Reichliche Kalkkonkremente schon im ungefärbten Schnittbild erkennbar. Im HE-Präparat fleckige Hyperämie, ausgedehnte Epithelnekrosen besonders in der äußeren Rindenschicht. Ausbildung hyaliner und Epitheleylinder. Diese liegen besonders in den Schleifen. Verkalkung nekrotischer Epithelien. Stellenweise herdförmige und streifige Mobilisierung des interstitiellen mesenchymalen Zellbestandes.

4. *Kaninchen Nr. 2.* Injektion von 20 mg TTC in 10%iger Lösung. Die linke Niere wird zunächst cyanotisch, dann formazanrot. Tötung nach 8 Tagen. *Mikroskopisch:* Schon im ungefärbten Gefrierschnitt Kalkcylinder, jedoch keinerlei Formazankrystalle. Im HE-Präparat werden ausgedehnte Epithelverluste aller Rindenkanälchen deutlich. Stellenweise Anfüllung der Kanälchenlumina durch nekrotische Epithelien. Vielfach Verkalkung der zusammengeklitteten Epithelmassen und Ausbildung sog. Kalkeylinder. Im Inneren der Schleifen mehrere wechselnd dichte hyaline Cylinder. Soweit die Tubulusepithelien erhalten geblieben sind, zeigen sie die Veränderung sog. trüber Schwellung, stellenweise, und zwar besonders in der äußersten Rinde die der hydropisch-vacuolären Umwandlung. In einigen wenigen Schleifen beginnende Epithelregeneration. An den Glomeruli keine Besonderheiten, im Interstitium Hyperämie, Ödem, sowie Einstreuung kleiner lymphocytärer Infiltrate.

Ergebnisse der sog. Tagesversuche. Während bei den sog. Stunden-tieren die Epithelveränderungen relativ bescheidene, hyaline Cylinder unter anderem nicht nachweisbar gewesen sind, treten bereits nach einer Zeit von 1 Tage nach Versuchsbeginn einzelne Epithelnekrosen und hyaline Cylinder, nach etwa 4 Tagen reichlicher Nekrosen und Cylinder, nach 6 Tagen Epithelverkalkung und später eigentliche Kalkeylinder auf. Die Einspritzung von TTC in die Nierenarterie ruft, wenn man den Versuch über einige Tage ausdehnt, eine „nekrotisierende Nephrose mit Verkalkung“ hervor.

Deutung der Befunde.

Zunächst sei festgestellt, daß die Applikation des TTC auf dem Blutwege sehr viel stärkere Formazanbildung verursacht als einfache Einlegung kleiner Gewebsscheiben in eine Lösung. Während also nach Injektion genügend großer Mengen des TTC in die Nierenarterie eine sehr starke Formazanbildung besonders im Rindengebiet feststellbar ist, ist die Stärke der Formazanausfällung nach Einlegung einer Gewebsscheibe nurmehr bescheiden. Die Durchdringungsfähigkeit des TTC ist offenbar gering. Nach stundenlanger Einlage einer wenige Millimeter dicken Nierengewebsscheibe in eine 10%ige wäßrige Lösung läßt sich die Formazanrötung nur bis in eine Tiefe von mehreren Zellbreiten nachweisen.

Eine Frage, die besondere Aufmerksamkeit verdient, ist die nach einer etwaigen *gesetzmäßigen Verteilung* der Formazankrystalle in der Niere und der *Bedeutung* einer solchen Regelmäßigkeit. Die TTC-Krystalle bevorzugen eindeutig das Parenchym. Die Krystalle größter Stärke finden sich im Bereich der Hauptstücke. Sie stehen nicht besonders dicht, haben eine durchschnittliche Länge von 6—7 μ (maximal bis etwa 45 μ) und eine durchschnittliche Dicke von etwa 4 μ . Dagegen finden sich in den sog. Nebenstücken Formazankrystalle, die sehr viel kleiner sind, aber stellenweise ganz dicht liegen. Eine exakte quantitative Auswertung der auf die Flächeneinheit des Nierenparenchyms entfallenden Formazanmenge war nicht möglich. Es wurde jedoch versucht, durch folgendes Vorgehen eine gewisse Klarheit zu schaffen.

Es werden mit Hilfe eines Zählquadrates Flächen von 100 μ^2 ausgezählt, die einerseits aus dem Gebiet der Tubuli contorti, zum andern aus dem absteigenden Schleifenteil genommen wurden. Es wurden sodann die Anzahl der Krystalle, deren Länge und Dicke bestimmt. Es wurden also jeweils 3 Werte berücksichtigt. Dabei hat sich gezeigt, daß keine scharfen Grenzen zwischen der Art der Formazanabscheidung und dem Typus der Kanälchen bestehen. Das bedeutet, daß es Tubuli contorti gibt, die sehr kleine, und daß es Nebenstücke gibt, die ziemlich dicke und große Krystalle besitzen. *Fließende Übergänge kommen also vor.* Eine quantitative Auswertung stößt vor allem auch insofern auf gewisse Schwierigkeiten, als die Intensität der Krystallbildung auch innerhalb der Nierenrinde wechselt. Es mag das mit der unterschiedlichen Blutverteilung zusammenhängen, die wir trotz Anästhesierung des Nierengefäßstieles hatten beobachten können, vielleicht auch mit dem verschiedenen Funktionszustand einzelner Nephrene. Es war daher nichts anderes möglich, als diejenigen Rindenpartien auszuwählen, die bei gewöhnlicher mikroskopischer Betrachtung hinsichtlich des Befalles mit Krystallen einigermaßen vergleichbare Verhältnisse zu bieten schienen. Dadurch war eine gewisse Subjektivität der Beurteilung nicht

auszuschließen gewesen. Unter Berücksichtigung dieser Fehlermöglichkeiten hat sich z. B. für Kaninchen Nr. 12 folgendes ergeben (Abb. 6):

Die dargestellten Kurven sind keine im mathematischen Sinne; sie besitzen keine absolute Gültigkeit. Sie sind aber insofern sehr aufschlußreich, als sie einen relativen und im allgemeinen durchaus zutreffenden *Eindruck* von der Krystallverteilung vermitteln. Die Kurven zeigen, daß die Hauptmasse der Krystalle an die Tubuli contorti gebunden ist. Das *Gesamtvolumen* der Krystalle, wenn dieser Ausdruck erlaubt ist, ist im *Bereich der Hauptstücke am größten*. Die Frage nach

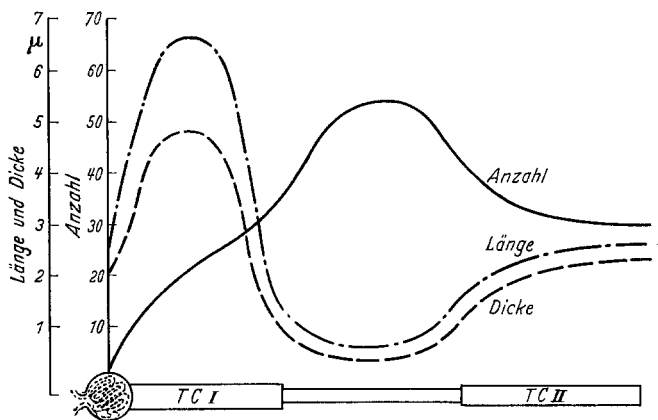


Abb. 6. Schematische Darstellung der unter regelhaften Bedingungen geltenden Verteilung der Krystalle im Kanälchensystem der Niere unter Berücksichtigung von Krystallanzahl je Flächeneinheit, von Krystalllänge und -dicke; die beiden letzteren Größen wollen an der linksstehenden Ordinate abgelesen werden.

der Bedeutung dieses Sachverhaltes liegt nahe. Man kann sie jedoch nur dann beantworten, wenn eine Reihe von *Vorfragen* erledigt wird. Es handelt sich um folgendes:

1. *Unter welchen Bedingungen kommt es überhaupt zur Krystallbildung?*

Formazankrystalle entstehen dann, wenn aktiver Wasserstoff mit dem TTC reagieren kann und die Voraussetzungen *in loco* für eine Krystallisation erfüllt sind. Unter letzteren ist zu verstehen a) die Anwesenheit eines körperlichen Gebildes, das als Krystallisationszentrum funktionieren kann und b) ein an Lipoiden und Neutralfetten armes Milieu. Man kann annehmen, daß z. B. die Mitochondrien der Tubulusepithelien für die Auslösung der Krystallbildung wichtig sind. Die Wichtigkeit der Mitochondrien für die krystalline Formazanabscheidung liegt nicht nur begründet in ihrer corpusculären Existenz, sondern auch in ihrer Bedeutung für den Stoffwechsel der Zelle überhaupt, also auch als Träger von Fermenten. Gleichviel wird man nicht sagen dürfen — es sei das ausdrücklich gegenüber HÖLSCHER betont —, daß die räumliche Bindung der Formazankonglomerate an die Mitochondrien ohne weiteres nach-

weisbar wäre. Es muß aus Gründen, die von DOERR früher erörtert worden sind, mit einer *Verlagerung* der Formazankristalle gerechnet werden¹. Lipoid und Fette aber dürfen eine gewisse Grenze der Konzentration nicht überschreiten, da die etwa gebildeten Krystalle sofort in Lösung gehen und daher nur formazanrote Tropfen und Scheiben, aber keine Krystalle sichtbar werden. Nieren mit Fett- und Lipoidspeicherung sind daher für unsere Untersuchungen nicht geeignet. Die immer reichlich Fette enthaltenden Epithelien z. B. der Harnkanälchen der *Katze* geben keine brauchbaren Bilder. Dagegen ist die Niere von Kaninchen und Hund gut, auch die vom Menschen häufig geeignet².

2. *Auf welchem Wege kommt das TTC an die Orte der Krystallisation heran?* Die klare Beantwortung dieser Frage ist naturgemäß mit morphologischer Methodik nicht zu geben. Es ist auch nicht unsere Absicht, die bekannte Alternative — Stoffaufnahme in die Tubulusepithelien nur und ausschließlich vom Harnstrom oder (sozusagen im Eventualfalle) auch vom Blutstrom der intertubulären Gefäße aus — in allen Einzelheiten zu diskutieren. Da nach den Versuchen von RICHARDS jedoch als sicher gelten kann, daß die im Blutplasma nicht an Kolloide gebundenen Stoffe nach physikalischen Gesetzen durch den Glomerulus filtriert werden, ist im Falle der TTC-Beschickung durch die Nierenarterie mit einer nahezu quantitativen glomerulären TTC-Abgabe zu rechnen. Da körperfremde Substanzen keine „Schwelle“ haben, werden sie einfach ausgeschieden. Die Stärke der Formazanbildung in den Tubulusepithelien kann nicht ohne weiteres mit den Ergebnissen der bekannten Farbstoffinjektionen (v. MÖLLENDORFF) verglichen werden. Bei TTC-Einspritzung kommt es nämlich nicht einfach zur Diffusion der Salzlösung in die Tubulusepithelien, sondern zur Auslösung einer echten chemischen Reaktion. Diese, die Umwandlung von TTC in Triphenylformazan, läuft überall dort ab, wo aktiver Wasserstoff frei wird. Die Aufnahme des TTC aus dem Glomerulusharn in die Tubulusepithelien erfolgt daher aus zweierlei Ursachen: 1. Auf Grund physikalisch-chemischer und 2. „rein“ chemischer Bedingungen.

Zu 1. Die lumenwärtige Seite der Tubulusepithelien ist elektrisch negativ, die Zellbasis positiv geladen (FREY). Besonders die im Interstitium gelegenen Lymphcapillarwände sind positiv geladen. Sie bilden im Bereich der Tubuli contorti I. Ordnung eine innige funktionelle Gemeinschaft mit den basalen Epithelschichten. Stoffe mit elektrisch

¹ DOERR: Frankf. Z. Path. 61, 563 (1950).

² Es sei hier angeführt, daß zunächst überhaupt die Absicht bestanden hatte, die Untersuchungen an der Niere des Hundes vorzunehmen, weil diese an sich für die Arbeit mit TTC gut geeignet ist. Die Ergebnisse an der Niere des Hundes entsprechen etwa denen beim Kaninchen. Wir haben uns schließlich aus äußeren Gründen für das Kaninchen entschieden.

positiver Ladung werden daher aus dem Vorharn leichter angezogen werden als solche mit elektrisch negativer Ladung. Da nun TTC in wäßriger Lösung oder auch in physiologischer Kochsalzlösung positiv geladen ist, besteht aller Grund zur Annahme einer physikalisch-chemischen Rückresorption.

Zu 2. Die resorptive Leistung der Harnkanälchenepithelien ist um so größer, je höher das elektrische Potential ist. Dieses wiederum wird durch die Größe der Oxydoreduktionsvorgänge bestimmt. Der Sauerstoffverbrauch der Harnkanälchenepithelien ist daher sehr groß, d. h. die Größenordnung der Zellatmung ist ganz beträchtlich. Damit steht auch die Produktion von aktivem Wasserstoff in Zusammenhang. Die Formazanbildung wird daher gerade hier besonders stark sein. Das bedeutet, daß physikalisch-chemische *und* chemische Voraussetzungen für die TTC-Aufnahme in die Harnkanälchenepithelien weitgehend zusammenfallen. Es ist danach so gut wie sicher, daß Tetrazoliumchlorid von der Seite des Harnstromes aus in die Tubulusepithelien eintritt. Demgegenüber dürfte die TTC-Aufnahme von den intertubulären Gefäßen aus keinerlei Rolle spielen.

Die in Abb. 6 gezeigten Werte legen also in Verbindung mit den soeben auseinandergesetzten Gedankengängen die Annahme sehr nahe, daß *die Oxydoreduktionsvorgänge jener Tubulusabschnitte besonders groß sind, in denen die größten Krystallvolumina gemessen werden können.*

Diese Annahme bedarf jedoch einer gewissen Einschränkung. Die Größe der TTC-Aufnahme in die Tubulusepithelien ist wahrscheinlich *auch* eine Funktion der *Konzentration* des TTC im Glomerulusharn. Das würde bedeuten, daß die proximalen Tubulusabschnitte relativ mehr TTC aufnehmen können als die distalen. Nun muß aber bedacht werden, daß mit dem sehr großen Einstrom von Wasser gerade in den Schleifen wahrscheinlich a) relativ viel von dem Tetrazoliumsalz mitgenommen und b) gerade durch die Rückresorption von Wasser die Salzlösung eingeengt wird. Die Konzentration der TTC-Lösung relativ distal gelegener Tubulusabschnitte braucht daher nicht geringer zu sein als die der proximalen Tubuli. Gerade diese Tatsache würde erneut die Bedeutung der Oxydoreduktionsvorgänge für das Ausmaß der Formazanbildung relativ unabhängig von rein physikalischen Faktoren in Erscheinung treten lassen.

HERMANN BECKER und QUADBECK haben gefunden, daß TTC eine gewisse Bedeutung für die Markierung der *Permeabilität* der Blutgehirnschranke haben kann. Während die Blutgehirnschranke für TTC im allgemeinen nicht durchlässig war, so daß beim lebenden Tiere eine vitale Anfärbung des Gehirnes durch Formazan nicht gelang, kam es zur Anfärbung z. B. nach Leuchtgasvergiftung oder auch einige Zeit nach dem Tode. So groß nun das Bedürfnis ist, einen Farbindicator zu besitzen, mit dessen Hilfe die Permeabilität der Glomeruli markiert werden kann, so ist doch TTC gerade hierzu *nicht* geeignet! Der Glomerulus ist eben unter gewöhnlichen Bedingungen immer für TTC (Molekulargewicht: 335) permeabel. Dagegen wäre zu prüfen, ob die TTC-Ausscheidung eine

Veränderung erfährt etwa bei der Glomerulonephritis oder einer primär andersartigen z. B. toxisch bedingten Nephropathie. Wir besitzen in dieser Hinsicht keine Erfahrungen.

Wir können also sagen, daß TTC, insofern es auf dem Blutwege in die Niere gebracht wird, durch die Glomeruli filtriert und von den Tubulusepithelien resorbiert wird. Die meisten Formazankrystalle finden sich an der Stelle der stärksten Entstehung von aktivem Wasserstoff. Die Krystalle liegen also im Inneren der Epithelien oder in der Nachbarschaft. Sie liegen praktisch nicht im Interstitium. Auch die Glomeruli besitzen wenig Konkreme. Das ist alles verständlich, wenn man bedenkt, daß die Zellatmung im eigentlichen Parenchym am größten ist. Die überwiegende Nierenarbeit ist die der Rückresorption, d. h. es ist das diejenige Tätigkeit der Epithelien, die mit dem größten Energieumsatz einhergeht. Dagegen ist der Energieverbrauch von Glomeruli und Interstitien relativ bescheiden.

Wie hat man sich aber das Schicksal der einmal in den Tubulusepithelien gebildeten Formazankrystalle vorzustellen? Hier ist einmal daran zu denken, daß auch nach Aufnahme injizierter feinkörniger Farbstoffe diese nach bestimmter Zeit wieder abgegeben werden. Sie erleiden eine Art von *Verdauungsprozeß* und verlassen die Epithelien entweder in Richtung auf das intertubuläre Gefäßsystem oder nach dem Harnstrom zu. Es ist bekannt, daß Epithelien dabei zugrunde gehen können. Ihre Bruchstücke gelangen dann ebenfalls in die Tubuluslichtung. Die Bedingungen, unter denen die einzelnen Stoffe wieder aus den Epithelien abgegeben werden, sind von Fall zu Fall besonders zu diskutieren.

Hinsichtlich des Schicksals der Formazankrystalle haben wir festgestellt, daß sie bereits nach etwa 10 min nach der Injektion anfangen kleiner zu werden. Sie werden nach Größe und Anzahl reduziert. Sie scheinen auf chemischem Wege zu verschwinden und schmelzen wie Eiskrystalle in der Sonne. Die Einzelheiten des Abbaues sind uns nicht bekannt. Das ist kein Wunder, stehen doch auch die Kenntnisse der Chemiker über die Zwischenstufen beim Formazanabbau noch in den Anfängen.

Was bedeutet aber die Bildung der Formazankrystalle in den Tubulusepithelien für die Zellen selbst? Hier ist zu sagen, daß die morphologischen Veränderungen zunächst geringgradige sind. Solange die Krystalle selbst noch sichtbar sind, kann man überhaupt keine wesentlichen Veränderungen im Cytoplasma, eben ausgenommen die anscheinend regellose Lagerung der Krystalle selbst, nachweisen. Aber auch nach Schwund der Krystalle finden sich lediglich eine mäßig starke sog. trübe Schwellung und, wie erwähnt, eine stellenweise deutliche hydropisch-vacuoläre Umwandlung des Protoplasma der Hauptstückepithelien. Die Befunde

bei den „Studentieren“ sind also dürrtig. Um so auffallender ist es, daß wir bei den „Tagestieren“ sehr verbreitete Epithelnekrosen, Abstoßung der Epithelien in die Kanälchenlumina und Verkalkung der nekrotischen Zellmassen gefunden haben. Es liegt hier ohne Frage das Bild der sog. nekrotisierenden „Nephrose“ vor.

Die Tatsache, daß also die Formazankrystalle nachweisbar sind, und daß kurze Zeit nach deren Verschwinden stärkere Epithelveränderungen nicht sichtbar gemacht werden können, daß jedoch nach einer Versuchsdauer von 1—2 Tagen Nekrosen vorhanden sind, ist in verschiedener Hinsicht bemerkenswert: Die aus der Stufenfolge der Einteilung der akuten Nierenparenchymveränderungen in Intensitätsgrade im Sinne von FAHR abgeleitete Vorstellung, daß im allgemeinen eine gewisse Folgeordnung der Epithelveränderungen eingehalten werde, kann, worauf RANDERATH wiederholt nachdrücklich hingewiesen hat, *nicht* befriedigen. Unsere Beobachtung, daß eine Epithelnekrose ohne besonders intensive oder in bestimmter zeitlicher Folge ablaufende „Degeneration“, daß eine Nekrose nurmehr nach trüber Schwellung beobachtet werden *kann*, spricht durchaus *für* die Vorstellung von RANDERATH. Eine hyalintropfige Eiweißspeicherung wurde nur vereinzelt beobachtet. Sie kann in unseren Fällen sicher nicht als „akute Nephrose vom zweiten Intensitätsgrad“ verstanden werden.

Es ist danach so, daß das TTC ohne weiteres durch die Glomeruli in den Vorharn hineingelangt und von hier aus in die Tubulusepithelien aufgenommen worden ist. Dort, am Orte der Oxydoreduktionsvorgänge, entstehen durch aktiven Wasserstoff die beschriebenen Krystalle. Sie werden nach einiger Zeit abgebaut oder aufgelöst und dann erst werden Epithelnekrosen sichtbar. Worauf im einzelnen die Epithelschädigung zurückzuführen ist, wissen wir nicht. DOERR hatte früher geäußert, daß das überreiche Angebot von TTC sozusagen eine exzessive „Beschäftigung“ der Dehydrasen und somit eine Art „Erschöpfung“ der wasserstoffübertragenden Fermente verursachen könnte. Die morphologischen Veränderungen der Harnkanälchenepithelien wären demnach möglicherweise Ausdruck einer bestimmten Form einer chemisch verursachten Hypoxydose. Inzwischen hat aber DOERR (gemeinsam mit V. BECKER) zeigen können, daß die histotoxisch, und zwar durch Malonsäure, bedingte Hypoxydose in der Niere zu Veränderungen führt (durch Lähmung der Bernsteinsäuredehydrase, feinvacuoläre Umwandlung des Protoplasma), die ungleich stärker sind als die nach TTC-Gabe. So glauben wir *jetzt*, daß durch TTC-Injektion *keine* morphologischen Äquivalentbilder einer durch vorübergehende Besetzung der Dehydrasen erzeugten Störung der Zellatmung zu erzielen sind, und zwar vor allem nicht durch eine einmalige Gabe des Indicators. Eine eigentliche Giftwirkung des

TTC kann aber zur Zeit nicht definiert werden. Die Epithelnekrosen sind also nicht auf eine Behinderung der Zellatmung, sondern auf eine vorläufig nicht näher bekannte Formazanwirkung zurückzuführen.

Beiläufig sei erwähnt, daß eine Salzsäurewirkung nicht angenommen werden kann. Tatsächlich werden ja bei der Reduktion von TTC zu Triphenylformazan Chlorionen frei. Eine pathologische Leistung aber der Salzsäure (in statu nascendi) im *gepufferten* Milieu (bei Applikation des Indicators durch das strömende Blut und Reduktion desselben in der Niere als einem an Ammoniak besonders reichen Organe) ist in *hohem Maße* unwahrscheinlich.

Bei unseren sog. Tagestieren fanden sich nun zahlreiche *hyaline Cylinder*. Ihr Nachweis läßt an die Möglichkeit des Vorliegens einer glomerulären Permeabilitätsstörung denken. Sichere morphologische Anhaltspunkte für eine solche waren aber nicht zu gewinnen. Das ist jedoch bekanntlich auch nicht nötig, ja bei gewöhnlicher histologischer Technik vielfach unmöglich (RANDERATH). Schließlich wird man daran denken müssen, daß das TTC auch an den Schlingenendothelien nicht ganz spurlos vorübergegangen ist. Auf der anderen Seite werden zweifellos die zugrunde gehenden Tubulusepithelien in die Kanälchenlichtung abgestoßen. So gelangt auch Zelleiweiß in den Harnstrom. Es wäre plausibel, einen guten Teil der lockeren in den Kanälchenlumina gelegenen Eiweißgerinnsel auf das durch Desintegration der Tubulusepithelien abströmende Zelleiweiß zurückzuführen.

Da die Stärke der Formazanbildung als Maß für die Stoffwechselgröße der Nierengewebsschnitte aufgefaßt werden kann und danach die Gesamtheit der untersuchten gesunden Nieren eine einheitliche *Stoffwechseltopographie* zeigen, ist der Gedanke naheliegend, Verteilung, Größe und Dichte der Formazankrystalle bei verschiedenartigen Nierenerkrankungen zu prüfen. ZWEIFACH, BLACK und SHORE geben an, bei Mensch, Hund und Ratte bei essentiellem und renalem Hochdruck typische Umlagerungen der Formazanbilder der Niere nach Einlegung in TTC-Lösungen gefunden zu haben. Sie glauben zeigen zu können, daß an Stelle der Ablagerung von Formazankrystallen gewöhnlicher Größe und Dichte im Bereich des Tubulus contortus I im Falle des Bluthochdruckes grobe und miteinander verklumpte Krystalle auftreten. Die Menge des Formazan bezogen auf die Gewichtseinheit des Nierengewebes sei jedoch konstant geblieben. Die Atmungsgröße des Nierenschnittes wäre also an sich wahrscheinlich ebenfalls konstant. Auch wir haben derartige Untersuchungen, allerdings am laufenden Sektionsgut, ausgeführt. ZWEIFACH dagegen arbeitete mit frischem beim Menschen durch Exstirpation und Excision gewonnenem Material. Wir konnten uns aber vorläufig nicht davon überzeugen, daß ZWEIFACH und Mitarbeiter einen regelhaften Sachverhalt beschrieben haben.

Bemerkungen zum Problem der sog. akuten Nephrose.

Wir können unsere Erörterungen nicht beenden, ohne wenigstens mit einigen Worten auf die Darstellung von LÜDERS eingegangen zu sein. Es ist uns dabei *nicht* um eine detaillierte Kritik der inhaltsschweren Arbeit von LÜDERS zu tun. Dies besonders auch darum nicht, weil der Schwerpunkt seiner Untersuchungen letzten Endes auf einer instruktiven neuen Interpretation des Problems der serösen Entzündung beruht. Das ist aber jener Punkt, in dem wir übereinstimmen und in dem *wir* neues nicht zu sagen haben. Es sollen daher lediglich die *gemeinsamen Berührungspunkte*, die seine und unsere Untersuchungen hinsichtlich des Problems der sog. akuten Nephrose besitzen — in aller Kürze — besprochen werden. In seiner Abhandlung über „Die Histogenese akuter Kanälchenepithelschäden bei der malignen Nephrosklerose“ beschäftigt sich LÜDERS eingehend mit den Fragen „direkter epitheliotoxischer Läsionen“ und trennt die akute Nephrose scharf ab von der klassischen, der chronischen. Unseres Erachtens sind gegen die Darstellung von LÜDERS 2 grundsätzliche Einwände möglich: 1. Einmal scheint das seinen Untersuchungen zugrunde liegende Material nicht recht geeignet zu sein, das zu beweisen, worum es dem Verfasser eigentlich zu tun ist (nämlich quoad Akuität der Zellschädigungen). 2. Zum andern sind die gedanklichen Konsequenzen besonders im Hinblick auf die Nephroserlehre von RANDEATH nicht ganz frei von Mißverständnissen.

Das Beispiel der malignen Nephrosklerose ist aus folgenden Gründen nicht geeignet, die formale Entstehung *akuter* toxisch bedingter Epithelveränderungen zu erläutern.

1. Ich stimme zwar LÜDERS vollständig zu in der überwiegenden Auffassung der malignen Nephrosklerose als bestimmte Form einer serösen Entzündung. Allein die Bedingungen der Entstehung, Ausbreitung und geweblichen Folgeerscheinungen des entzündlichen Geschehens sind hierbei so schwierig zu übersehen, daß man die Pathogenese „akuter“ epitheliotoxisch bedingter Gewebsveränderungen gerade an *diesem* Beispiel nur schwerlich diskutieren kann.

2. Da man über die Art der bei einer Entzündung primär wesentlichen und sekundär wirksam werdenden Gifte, von einer ganz allgemein zu haltenden Charakteristik abgesehen, wenig und im konkreten Falle meist gar nichts aussagen kann, ist man auch nicht in der Lage, die *Hodogenese* beim Erwerb von Veränderungen der Harnkanälchenepithelien im einzelnen anzugeben. Es ist also in Unkenntnis der physikalisch-chemischen Eigenschaften der „Gifte“ in den Fällen von LÜDERS nicht zu entscheiden, ob Giftangriff *am* Epithelbestand oder Stoffaufnahme *in* die Tubulusepithelien im Sinne von OLIVER zustande kommen durch: Athrocytose (Speicherung), Resorption oder Diffusion. Dies wäre aber wichtig, wenn, wie LÜDERS es will, gezeigt werden soll, daß „die Möglichkeit einer zweigleisigen Bahn für die Einwirkung von Schädlichkeiten auf die Tubulusepithelien“ (von der Harnkanälchenlichtung oder von den intertubulären Gefäßen aus) im Falle der malignen Nephrosklerose tatsächlich besteht.

3. Die maligne Nephrosklerose als eine seröse Glomerulitis geht natürlich auch mit einer glomerulären Permeabilitätsstörung einher. Die Möglichkeit der Ent-

stehung einer „Pseudonephrose“ ist dadurch gegeben. Das bedeutet, daß nur ein Teil der von LÜDERS erörterten Epithelveränderungen akute und durch direkte Giftwirkung entstanden sein können.

4. Es ist schwer denkbar, daß eine seröse Vasculitis und Glomerulitis ohne extrarenalen Eiweißzerfall einhergeht. LÜDERS selbst hat gelegentlich eine generalisierte Arteriitis beobachtet. Es ist naheliegend, gerade in diesen Fällen eine Heteroproteinämie mit einer polypeptidämischen Nephrose *mit* in Rechnung zu stellen.

Es ist verständlich, daß wir die Untersuchungen über primäre epitheliotoxische Nierenveränderungen lieber an einem System mit weniger Unbekannten ausgeführt wissen möchten. Nun besitzen wir selbst einige Erfahrungen über wirklich akute, experimentell-toxisch bedingte Veränderungen der Harnkanälchenepithelien (DOERR, DOERR und V. BECKER). Obwohl in einigen Versuchsreihen die Gifte direkt in die Nierenarterien eingespritzt worden waren (Kaliumcyanid und Kaliummalonat), also von einem sozusagen idealen und unmittelbaren Giftangriff gesprochen werden könnte, sind wir nicht auf den Gedanken gekommen, die Entstehung der auf diese Weise erzeugten Parenchymveränderungen in Gegensatz zu bringen zur Nephrothese von RANDEATH. Die von RANDEATH gegebene Definition des Begriffes der Nephrose¹ wird doch auch dem Wesen jener Nierenveränderungen gerecht, die akut und zwar durch Giftaufnahme vom Harnstrom aus entstehen. Die im Zusammenhang mit unseren Vergiftungsversuchen entstandenen Probleme lassen sich danach ohne weiteres vom Blickpunkt der Lehre von RANDEATH aus aufrollen und begreifen.

Nun ist es LÜDERS unter anderem um eine Erörterung der prinzipiellen Möglichkeiten für den Erwerb von Veränderungen der Kanälchenepithelien zu tun. Aber auch in dieser Hinsicht werden wohl nicht alle Eventualfälle genügend berücksichtigt. Ich glaube, rein gedanklich folgende Verhältnisse auseinanderhalten zu sollen:

A. Die Epithelien haben einen eigenen Stoffwechsel. Man wird zugeben dürfen, daß ohne erkennbare Ursachen eine Veränderung am zelleigenen Stoffwechselapparat eintreten und zu morphologischen Veränderungen führen kann.

B. Die Epithelien erkranken durch toxische Schädigung von der Seite der intertubulären Blutgefäße aus.

C. Die Harnkanälchen-Uferzellen werden vom tubulären Harnstrom aus alteriert.

Unsere Vergiftungsversuche hatten den Sinn, einigermaßen definierbare Giftwirkungen möglichst „direkt“ an den Parenchymbestand der Niere heranzubringen. Es sollte damit gleichsam beim gesunden Versuchstier eine jener möglichen oder denkbaren Giftwirkungen nachgeahmt werden, die beim kranken Tier primär fernab der Niere in Szene gehen und erst sekundär die Niere beschädigen. Da auch nach Giftinjektion in die

¹ „Nephrosen sind primäre Durchtrittsänderungen durch die Glomeruluscapillaren, die ohne oder mit Schädigung der Capillarwand einhergehen können und die sekundär zu morphologischen Veränderungen an den sog. Nierenepithelien der Harnkanälchen und der Glomeruli führen können.“

Arteria renalis nicht zu übersehen ist, ob und welche Veränderungen durch das zur Anwendung gebrachte Agens an Blutplasma oder Glomerulus hervorgerufen werden, auch eine chemisch-physikalische Veränderung des Giftes selbst (Adsorption, Bindung an Kolloide usw.) sollte bedacht werden —, ist auch die so gesetzte Zellveränderung keine „primär epitheliotoxische“. Ich nenne sie daher lieber eine „quasi-primäre“. Wenn man die Dinge so analysiert, erkennt man, wie schwierig es ist, diejenigen Probleme einer Lösung näherzubringen, um deren Aufklärung sich LÜDERS so lebhaft bemüht hat.

Welche Bedeutung können nun unsere TTC-Versuche für die Frage der Hodogenese der Harnkanälchenepithelveränderungen erlangen?

Mit Hilfe dieser Indicatoruntersuchungen läßt sich zweierlei sagen:

1. Wir hatten nachgewiesen, daß aus bestimmten Gründen (vgl. S. 550) das Tetrazol so gut wie ausschließlich vom Harnstrom aus in die Tubulusepithelien aufgenommen wird. Die nach etwa 1 Tage nachweisbaren Epithelveränderungen sind daher Beispiele akuter vom Tubulushumen aus gesetzter epitheliotoxischer Läsionen.

2. Die Indicatoruntersuchungen mit TTC veranschaulichen besonders deutlich, daß die Epithelien den lebhaftesten Stoffwechsel besitzen. Da den morphologisch faßbaren Epithelveränderungen Stoffwechselstörungen zugrunde liegen, haben Indicatoruntersuchungen auf einzelne Stoffwechselqualitäten auch eine bestimmte Bedeutung für folgende Fragen: a) Welche Seite des Zellstoffwechsels ist gestört und b) aus welcher Richtung ist die mutmaßliche Schädigung herangekommen?

Welche Stoffwechselqualität im einzelnen gestört sein kann, kann unmöglich hier zur Sprache kommen. Es sei nur so viel bemerkt, daß z. B. gerade die Störung der *Zellatmung* für die Pathologie des Flüssigkeitswechsels in der Zelle sehr wesentlich ist. Das wurde schon früher auch von uns vermutet (DOERR 1949) und kürzlich besonders für die Vergiftung der Dehydrasen und deren Folgen bestätigt (DOERR und V. BECKER 1951).

Da, wie oben auseinandergesetzt, der wesentliche Energieverbrauch der Tubulusepithelien im Dienste der Rückresorption erfolgt, wird ohne Zweifel der größte Teil der Stoffwechselstörungen der Nierenepithelien mit dem Reabsorptionsgeschäft, mittel- oder unmittelbar, ursächlich verknüpft sein. Daraus ist zu schließen, daß die Epithelveränderungen im wesentlichen vom Harnstrom aus, d. h. durch eine pathologische Zusammensetzung des Glomerulusharnes entstehen.

Wenn man feststellt, daß im Mittelpunkt der Nephroselecthe von RANDEATH die Auffassung steht, daß die Nephrose durch Aufnahme von nach Quantität oder Qualität abnorm zusammengesetzten Stoffen aus dem Glomerulusharn zustande kommt, dann gehört der ganz überwiegende Teil der akuten Nephrosen ebenfalls hierher. Diese Fälle der akuten Nephrose, und das sind eben die allermeisten, lassen sich pathogenetisch *nur* im Sinne von RANDEATH begreifen. Demgegenüber treten die unter A und B genannten Möglichkeiten für die sog. *akute*

Nephrose an Bedeutung *stark* zurück. Alle Überlegungen und Schlüsse, und zwar sowohl die von LÜDERS, als auch die unserigen, gründen sich ganz wesentlich auf *Indizien*. Eine größere Klarheit kann nur erreicht werden durch gründliche Würdigung der physiologischen Voraussetzungen von Nutrition, Eigenstoffwechsel und Leistung der Harnkanälchen-epithelien. Die Nephroselehre von RANDEATH wird diesem Postulat am ehesten gerecht, steht sie doch in Übereinstimmung mit den Tatsachen der Filtrations-Reabsorptionstheorie.

Zusammenfassung.

Bei 25 Kaninchen wurde *in vivo* eine verdünnte Lösung von 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid in physiologischer Kochsalzlösung in die linke Arteria renalis langsam eingespritzt. Die Nieren wurden nach Minuten, Stunden oder Tagen untersucht. Dabei zeigte sich eine imponierend starke Ablagerung von Triphenylformazan nach wenigen Minuten bis zu etwa einer Stunde, am stärksten jedoch nach 5 min. Nach 6 Std konnten keine Krystalle mehr gefunden werden. Es besteht ein ausgesprochenes Mißverhältnis zwischen der Stärke der Krystallbildung und der Geringfügigkeit der morphologischen Veränderungen. Dagegen treten nach Ablauf etwa eines Tages nach der Injektion, nachdem also die Krystalle längst verschwunden sind, Epithelnekrosen auf.

Es ist so gut wie sicher, daß das Triphenyltetrazoliumchlorid vom Harnstrom aus resorbiert wird. Das Schicksal der Formazankrystalle, deren Bedeutung für den Erwerb sog. regressiver Epithelveränderungen und das Permeabilitätsproblem, sowie die Frage der Anwendbarkeit der Indicatorreaktion bei pathologisch veränderter Niere werden erörtert. Indicatoruntersuchungen mit Triphenyltetrazoliumchlorid erscheinen ebenfalls geeignet, das Problem der sog. akuten Nephrose zu fördern.

Die arterielle Injektion wäßriger TTC-Lösungen (genauer: Von TTC-Lösungen in physiologischer Kochsalzlösung) ist geeignet, einen morphologischen Überblick über die „Stoffwechseltopographie“, also über regionale Verbreitung und Intensität der der Zellatmung entsprechenden Oxydoreduktionsvorgänge zu vermitteln. Es ist daher innerhalb gewisser Grenzen möglich, mit Hilfe der Formazanbildung etwas über den Funktionszustand bestimmter Nierenabschnitte auszusagen.

Literatur.

- BECKER, H., u. G. QUADBECK: Naturwiss. **24**, 565 (1950). — BIELIG, H. J., G. A. KAUSCHE u. H. HAARDICK: Z. Naturforschg **4**, 80 (1949). — BLACK, M. M., S. R. OPLER and F. D. SPEER: Amer. J. Path. **26**, 1097 (1950). — DOERR, W.: Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-naturwiss. Kl. **1949**, Abh. 7. — Frankf. Z. Path. **61**, 557 (1950). — DOERR, W., u. V. BECKER: Verh. dtsh. path. Ges. (35. Tagg), **1951**. — DOERR, W., u. E. v. LÜTTICHAU: Klin. Wschr. **1949**, 754. — FAHR, TH.: HENKE u. LUBARSCH' Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. VI/1,

S. 156. Berlin: Springer 1925. — Die Morphologie des Morbus Bright. In Nierenkrankheiten von E. BECHER, Bd. I, S. 578. Jena: Gustav Fischer 1944. — FREY, W.: Handbuch der inneren Medizin, Bd. VIII, S. 1—354. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951. — HÖLSCHER, H. A.: Naturwiss. **25**, 116 (1951). — JERCHEL, D.: Naturforschung und Medizin in Deutschland, Bd. 39, S. 59. Wiesbaden: Dietrich 1947. — LÜDERS, CL. J.: Virchows Arch. **319**, 433 (1951). — MEYER-ARENDT, J.: Klin. Wschr. **1949**, 608. — MÖLLENDORFF, W. v.: Anatomie der Nierensysteme. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. IV, S. 183. Berlin: Springer 1929. — OLIVER, J.: An essay toward dynamic morphology of the mammalian nephron. Seminares on Renal Physiology, Bd. IX, S. 11ff. New York 1950. — RANDERATH, E.: Ergebnisse der pathologischen Anatomie von LUBARSCH-OSTERTAG, Bd. 32, S. 91. 1937. — Nephrose-Nephritis. In Nierenkrankheiten von BECHER, Bd. II, S. 98. Jena: Gustav Fischer 1947. — RICHARDS: Zit. nach FREY. — ZWEIFACH, B. W., M. M. BLACK and E. SHORR: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **74**, 848 (1950).

Prof. Dr. W. DOERR, Heidelberg, Pathologisches Institut der Universität.