

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen

(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

## Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen zur experimentellen Dysproteinämie an Winter- und Sommerfröschen.

Von

GERD RUHRMANN.

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. April 1955.)

Für die Morphologie gilt mehr als für andere Betrachtungsweisen der Natur, daß ihre Erkenntnisse der Bestätigung und Ausweitung durch fortwährendes Vergleichen bedürfen. Das Abwägen und Gegenüberstellen von Beobachtungen in einem weit gesteckten Rahmen hat in der Pathologie stets zur Klärung der Begriffe beigetragen, was besonders deutlich aus dem Streit um das Wesen der Entzündung hervorgeht (RÖSSLE).

Eine vergleichende experimentelle Pathologie führt deshalb nicht nur zur Förderung neuer Tatsachen, sondern hilft zugleich den Blick auf das Besondere und Einmalige der Bedingungen richten, die man als Ursachen oder doch als wesentlich mitwirkende Kräfte zu erkennen glaubt. Andererseits stößt man dabei auf Einschränkungen, durch die das Tierexperiment von selbst den Charakter des Vorläufigen erhält, der *Hilfe* zur Beweisführung und nicht des Beweises schlechthin.

Aus solchen Erfahrungen früherer Untersuchungen (LETTERER) haben wir es unternommen, die Reaktionen zu studieren, die am Kaltblüter auftreten, wenn man ihn zu verschiedenen Jahreszeiten den gleichen Bedingungen unterwirft, die im Mäuse-Amyloidversuch zur Anwendung kommen. Der Ausgangspunkt lag also in einem wohl-bekanntem Grundexperiment am Warmblüter, das besonders gute Voraussetzungen zum Vergleich bietet.

### *Methodik.*

Unseren Versuchen liegen Untersuchungen an insgesamt 160 Fröschen zugrunde. Mit Ausnahme einiger vergleichender Messungen wurden zum Experiment selbst nur *R. esculenta*, immer vom gleichen Fangort (Federsee) verwendet. Genauer Zeitpunkt der Versuche waren jeweils Dezember-Januar 1952/53 und 1953/54 sowie August-September 1953 und 1954. Alle Tiere wurden nach dem Transport unter gleichen Bedingungen *ohne Nahrungsaufnahme* in Becken mit fließendem Wasser gehalten. Den Versuchen ging stets eine Woche der Gewöhnung voraus.

Die Tiere wurden mehrmals vor der Injektion gewogen. Im einzelnen erhielten sie, genau wie bei früheren Mäuse-Amyloidversuchen, in fünftägigen Versuchsabschnitten mit anschließender zweitägiger Pause (GÖSSNER und Mitarbeiter) intramuskuläre Injektionen in die dorsale Oberschenkelmuskulatur. (Maximal bis

20 Injektionen, Menge: 0,25 cm<sup>3</sup> je 10 g Körpergewicht einer wäßrigen Natrium-Caseinlösung aus 0,3% NaOH/3,5% Casein.)

Vor Versuchsbeginn und nach 5maliger Injektion Blutentnahme durch Absaugen mittels ausgezogener Capillare aus peripheren Venen (Fußrücken, Unterschenkel, am Schluß des Versuches Herzpunktion), Menge jeweils etwa 0,3 cm<sup>3</sup>. Da von 0,1 cm<sup>3</sup> Serum zur Serumeiweißbestimmung nach dem Mikro-Kjeldahl-Verfahren. 0,02 cm<sup>3</sup> Serum im Winter, 0,03 cm<sup>3</sup> im Sommer dienten zur Elektrophorese. Die Methodik war die gleiche, wie bei SCHNEIDER (2), SCHEURLEN angegeben ist.

An zahlreichen normalen Winter- und Sommerfröschen wie auch bei behandelten Tieren wurde am Versuchsende der Gesamteiweißwert von Muskulatur, Leber und Niere festgestellt. Dabei wurde kjeldahlometrisch an etwa 50 mg Frischsubstanz der Gesamtstickstoffgehalt bestimmt und unter Vernachlässigung des nicht coagulablen Stickstoffes (Rest-N) durch Multiplikation mit 6,25 in gleicher Weise wie beim Serum das Gesamteiweiß berechnet. Da nur ein Überblick über die Größenordnung der Eiweißverschiebungen an den einzelnen Organen gegeben werden sollte, wurde vorläufig auf eine nähere Differenzierung der verschiedenartigen N-Substanzen verzichtet. Bei der Muskulatur verwandten wir dazu Stücke aus *injektionsfernen* Gebieten: Brust- und Unterschenkelmuskulatur. Eiweißbestimmung durch das Mikro-Kjeldahl-Verfahren.

Gleichzeitig erfolgte eine Bestimmung des prozentualen Gehaltes an Trockensubstanz bei Muskel und Leber. Einwägen von 100 mg Feuchtsubstanz im Wäagegläschen auf der Analysenwaage. Vortrocknung über Nacht im Brutschrank. Anschließend mehrtägiges Trocknen im Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz.

Eine laufende Gewichtskontrolle erfolgte während der Versuche. Alle Tiere wurden nach dem Tod oder der Tötung gewogen, dabei das Gewicht von Leber, Niere, Milz, Herz, Lungen, Eierstöcken oder Hoden festgestellt und mit den entsprechenden Werten nichtbehandelter Tiere verglichen. Darüber hinaus wurde an einem Teil normaler und behandelter Tiere nach sorgfältiger Präparation der relative Anteil sämtlicher Organe am Gesamtgewicht ermittelt. Nach mühsamer Präparierarbeit konnte dabei das Gewicht der *gesamten* Muskulatur bestimmt werden.

Leber, Milz, Nieren, Herz, Lunge und Muskulatur der Injektionsstelle wurden in 4%igem Formalin fixiert, teilweise auch in ZENKERSCHER Lösung, Carnoy oder absolutem Alkohol, darauf in Paraffin eingebettet. Die HE-Färbung diente zur Übersicht. Besonders an Nieren, Leber und Milz kamen weitere Methoden zur Anwendung: die Kimmelstiel-Färbung, Masson-Trichromfärbung, Scharlachrot-Fettfärbung, BAUERSCHER Glykogenfärbung, PAS-Reaktion nach HOTCHKISS und McMANUS (mit und ohne Diastasevorbehandlung), Kresylviolett-Färbung, Kongorot-Färbung, Methylgrün-Pyronin-Färbung (succedane Modifikation nach GÖSSNER), Fibrinfärbung, Galloeyaninfärbung.

## I. Ergebnisse.

1. Die Tiere zeigten während der Winter- und Sommerversuche ein verschiedenes Verhalten.

Im Winter lagen sie nach dem Transport tagelang träge im Becken. Erst nach einigen Injektionen wurden sie lebhafter, vor allem bei der Abwehr gegen die Einspritzung. Dann starben sie oft schon wenige Tage nach Versuchsbeginn ganz unvermittelt. Eine große Anzahl erreichte etwa 10—12 Injektionen, nur 4 Tiere standen 20 Versuchstage durch.

Im Sommer erforderte ihre Lebhaftigkeit von Anfang an eine erhöhte Wachsamkeit. Mancher Ausbrecher mußte wieder eingefangen werden. Alle blieben bis zum Schluß kräftig, trotz der Behinderung durch die örtliche Einwirkung an den Oberschenkeln. Im Winter wie im Sommer machte sich hier eine Schwellung bis zum Anderthalbfachen des normalen Umfanges bemerkbar. Die Oberhaut blieb intakt. Bei der Sektion fielen kleine Blutungen auf. Die Muskulatur war verquollen und trüb. Dazwischen gab es nur vereinzelte, mit bloßem Auge sichtbare Nekrosen.

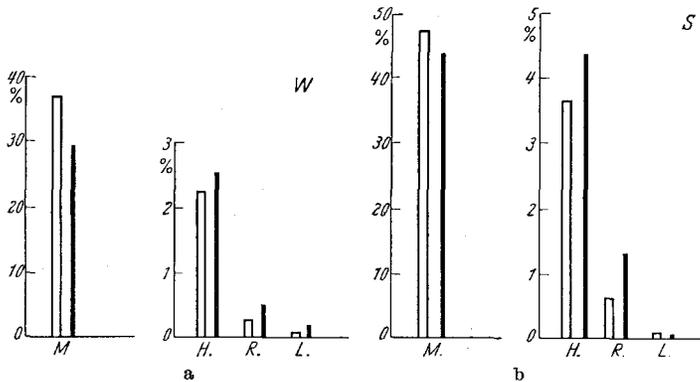


Abb. 1a u. b. Relative Organgewichte für Muskulatur, Leber, Nieren und Milz. (Weiße Säulen Normaltiere, schwarze Säulen Versuchstiere. Muskel (M), Leber (H), Niere (R), Milz (L).

2. Die Gewichtskurven waren in Sommer und Winter von verschiedenem Verlauf.

Im Winter starben die Frösche meist mit erhöhtem Gewicht (Abb. 2 oben), während das Endgewicht im Sommer gewöhnlich unter dem Ausgangsgewicht lag. Aber auch im Sommer ergab sich bei vielen ein initialer Anstieg um einige Gramm. Bei den wenigen längeren Verläufen im Winter glich sich der Gewichtsanstieg oft bis zu einem gewissen Grade wieder aus.

Während der Sektion fiel nach dem Versuch stets eine größere Feuchtigkeit der Muskulatur auf, aus den Lymphräumen lief mehr Gewebwasser ab. In der Bauchhöhle war besonders im Sommer mehr Flüssigkeit vorhanden, ohne daß dieser momentane Eindruck zunächst weiter objektiviert werden konnte.

3. Auf das Gesamtgewicht bezogen hat der Frosch im Sommer mehr Muskulatur als im Winter (Abb. 1). Im Winterversuch verliert er aber mehr davon als im Sommer. Die Leber des Sommertieres, aber auch Nieren und Milz sind normalerweise stets schwerer als im Winter. Aus den Kurven wird sichtbar, daß während des Versuches in beiden Jahreszeiten eine Gewichtszunahme dieser Organe eintritt. Nicht ganz eindeutig ist dabei das Verhalten der Milz zu ermitteln, da bei dem

niedrigen Organgewicht (durchschnittlich 20—40 mg) die wechselnde Durchblutung eine exakte Auswertung stört.

4. Bei niedrigerem Gesamtanteil an Muskelgewicht im Winter liegen dagegen die Eiweißwerte nach unseren Bestimmungen höher (Abb. 2). Dasselbe gilt für die Feststellung am Lebereiweiß. Im Versuch äußern sich deutliche Eiweißverluste der Muskulatur in Winter und Sommer. An der Leber ist ein gegensinniges Verhalten zu beobachten: Einlagerung im Winter, leichte Abnahme im Sommer.

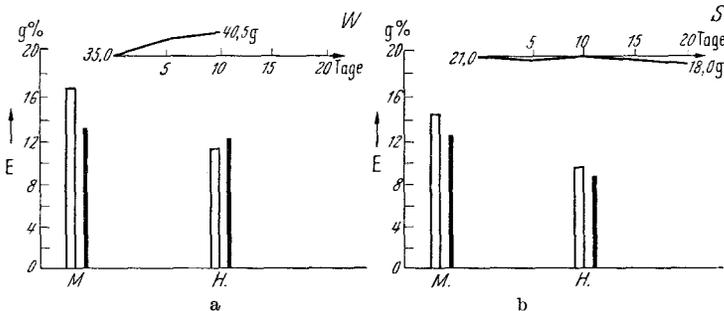


Abb. 2a u. b. Vergleich des Gesamteiweißes. Oben Gewichtskurve.

5. Die Anteile der Trockensubstanz stimmen in den Jahreszeiten weitgehend überein. Unter den Versuchsbedingungen tritt in Muskel und Leber eine Wassereinlagerung ein, die sich jahreszeitlich ungefähr entspricht.

6. Die Serumeiweißwerte haben beim Normaltier eine auffällig verschiedene Höhe. Im Winter bestimmten wir den Mittelwert von 4,32 g-% an 10 Tieren (Schwankungen s. Abb. 3a und b). Das Sommertier hat mit dem Mittelwert 2,5 g-% einen erheblich niedrigeren Gehalt. Während der Injektionsbehandlung sinkt dieser Wert ständig ab, im Winter sogar besonders deutlich (Abb. 3a).

Um dem Einwand zu begegnen, daß die Blutentnahme während des Versuches die alleinige Ursache des Eiweißverlustes sein könnte, wurde ein Kontrollversuch angestellt. Dabei erfolgte die Serumeiweißbestimmung jeweils am Ende einer Versuchswoche, ohne daß eine oder mehrere Blutentnahmen vorausgegangen waren. Diese Kontrollwerte ergaben in mehreren Gruppen einen völlig gleichartigen Serumeiweißabfall.

7. Durch die Elektrophorese ließ sich eine saubere Auftrennung in die üblichen Fraktionen erzielen. Wir bestimmten dabei für normale Winter- und Sommerfrösche im einzelnen folgende Mittelwerte (an 10 Tieren bestimmt):

	Winter %	Sommer %
Albumin . .	38,8	41,5
α-Globulin .	29,0	29,4
β-Globulin .	28,7	25,2
γ-Globulin .	3,5	3,9
	61,2	58,5

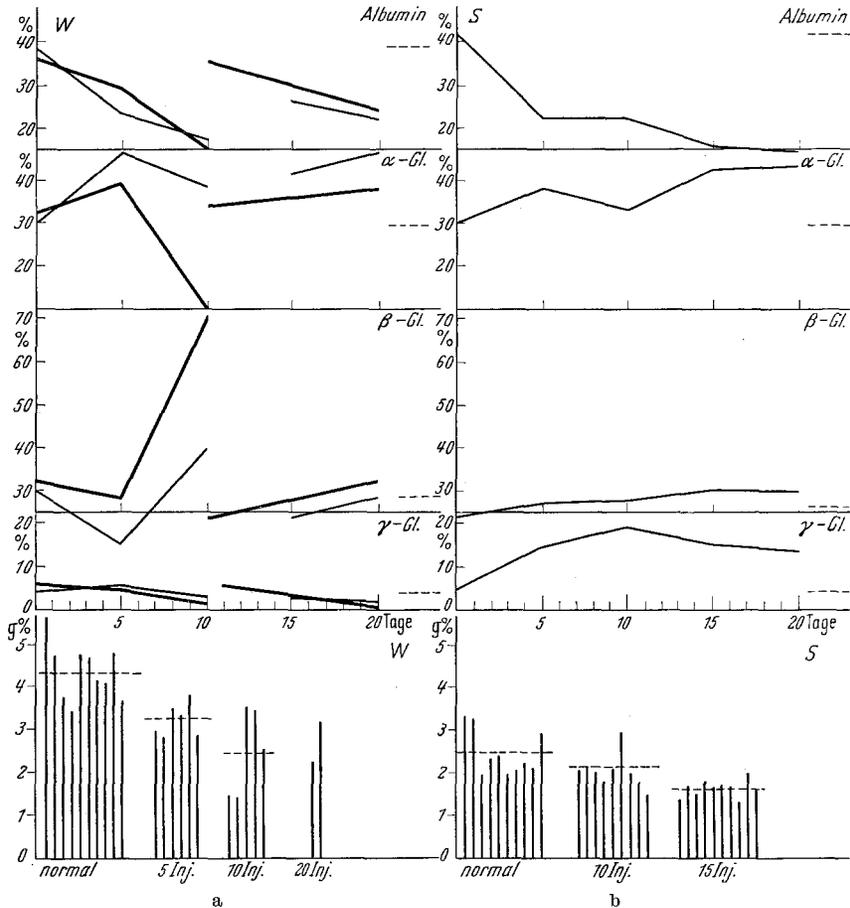


Abb. 3a u. b. Verhalten der Serumproteine während des Versuches (oben). Serumweißwerte (unten). Mittelwerte der Normaltiere horizontal gestrichelt.

Der Albumin-Globulinquotient beträgt demnach im Winter 0,63, im Sommer 0,71.

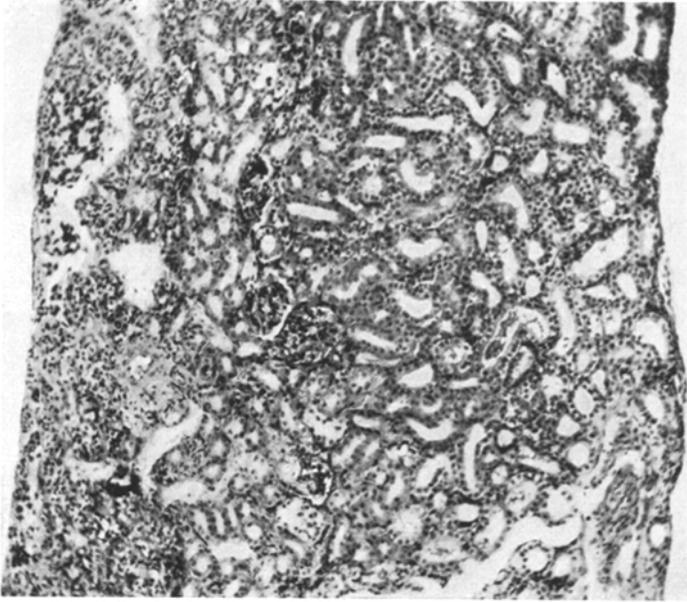
Im Winter konnten keine zusammenhängenden Verlaufsbeobachtungen gewonnen werden, da die Tiere oft schon früh und plötzlich starben. Abb. 3a gibt deshalb je 2 Werte bis zur 10. Injektion und von der 10. bis zur 20. Injektion an. Mit der Hinzunahme weiterer Einzelwerte ergibt sich insgesamt ein unsystematisches sprunghaftes Bild. Durchgehend ist lediglich zu sehen, daß die Albumine sich stets vermindern und die  $\gamma$ -Globuline keinerlei Veränderungen aufweisen. Die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globuline zeigen ein gänzlich regelloses Verhalten, manchmal auch nur eine sehr geringe Reaktion.

Dagegen stößt die Untersuchung im Sommersversuch auf keine Schwierigkeiten. Es ergibt sich ein kontinuierlicher, regulierter Verlauf mit anhaltender Albuminabnahme, einer stetigen Zunahme der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globuline, wobei das  $\alpha$ -Globulin früher und nachhaltiger reagiert. Besonders auffällig springt der Ablauf der  $\gamma$ -Globulinveränderung ins Auge. Bis zum Versuchsende entwickelt sich eine kräftige Zunahme dieser Fraktion, die gewöhnlich um die 10. Injektion ihre größte Höhe erreicht hat und bis zum Versuchsende etwa in gleicher Größenordnung bestehen bleibt. Dieser Verlauf findet sich in allen Fällen und ist auch durch Einzelkontrollen ohne vorherige Blutentnahme zu bestätigen.

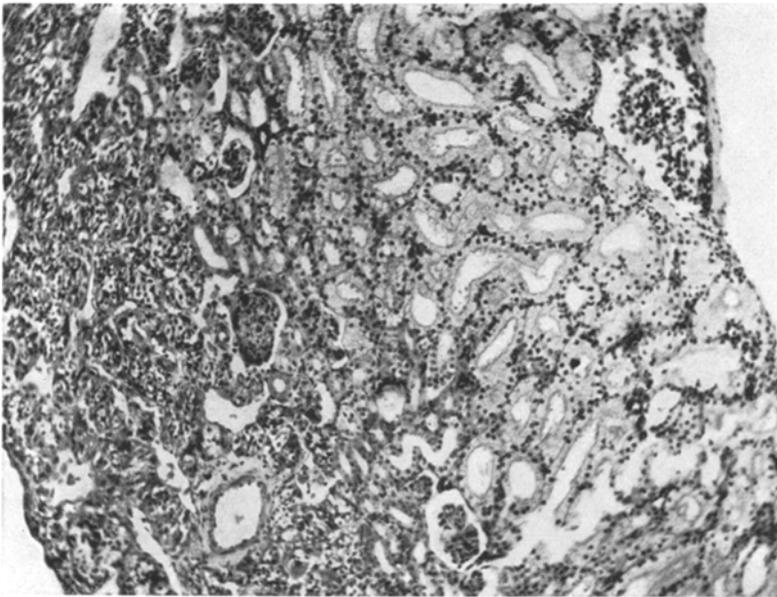
8. Wesentliche histologische Veränderungen finden sich nur in Niere, Leber und Milz. Die Befunde seien hier einander gegenübergestellt.

Die *Nieren der Wintertiere* weisen gegenüber dem normalen Gewebsbild relativ geringe Abweichungen auf (Abb. 4a und b). Die Glomerula sind in den meisten Fällen völlig unverändert. Die Capillarschlingen bleiben zart, das Knäuel ist insgesamt nicht vergrößert. Bei einigen Tieren fällt nach mehreren Injektionen auf, daß die Kerne der Deckzellen eine leichte Vergrößerung erfahren haben. In einer Anzahl von Kapselräumen findet sich ein wenig fein geronnenes, leicht eosinophiles Eiweiß. Dieser Befund wiederholt sich auch in den Lumina einzelner Hauptstückabschnitte. Beim normalen Tier zeigen sich hier ziemlich regelmäßig feine netzartige Strukturen, die von ERNST zuerst als „Schäumchen“ beobachtet und gewürdigt wurden. Auffallend ist dabei, daß sie nie innerhalb der Glomerulumkapsel zu finden sind und nur in den Hauptstücken auftreten. Während tubuläres Eiweiß nur bei etwa der Hälfte der Tiere zu beobachten ist, entwickelt sich dagegen regelmäßig eine Auflockerung und Vergrößerung der Hauptstückzellen (Abb. 4b). Diese nehmen eine mehr zylindrische Gestalt an, ihre Kerne rücken nach der Zellbasis, ohne in ihrer Form wesentlich verändert zu werden. Das Protoplasma wird hell und durchscheinend. Weit unauffälliger verhalten sich die Mittelstücke. Hier wird das Protoplasma lediglich etwas homogener, sonst bieten Kern und Zellgröße insgesamt nichts Besonderes. Es muß noch hinzugesetzt werden, daß sehr viele Tiere, vor allem in den tieferen Abschnitten der Harnkanälchen, im Winter kleine kugelige Parasiten beherbergen, die sich zu zylinderartigen Gebilden zusammenschlagen und zu Verwechslungen führen können. Bei einigen normalen und behandelten Tieren konnten wir die basophilen Massen in den Glomerula beobachten, die auch LETTERER und SEYBOLD als Nebenbefund feststellten.

Die *Nieren der Sommertiere* erfahren dagegen eine recht erhebliche Umgestaltung. Dies kommt neben der makroskopischen Vergrößerung

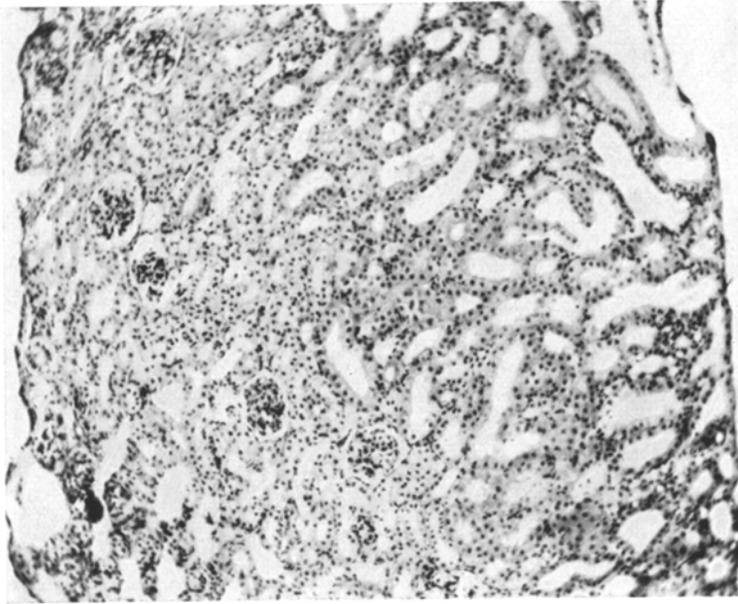


a

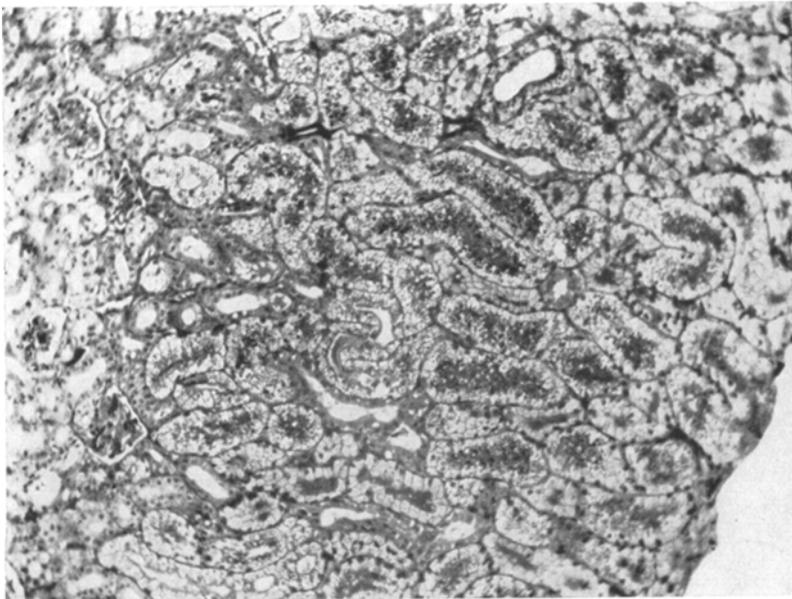


b

Abb. 4a u. b. Normaler Winterfrosch oben. Versuchstier unten. Niere. H.-E. 76mal.



a



b

Abb. 5a u. b. Normaler Sommerfrosch oben. Versuchstier unten. Niere. H.-E. Masson.  
76mal.

im Vergleich der Übersichtsbilder zum Ausdruck (Abb. 5), die eine erhebliche Zunahme der Hauptstückabschnitte aufzeigen (Abb. 5b). Dadurch nehmen diese fast denselben Raum ein, der sonst der ganzen Nierentiefe zukommt. Schon nach 5—6 Injektionen stellt sich der hier dargestellte Zustand der Hauptstücke ein. Die Zellen nehmen mächtig an Länge und Breite zu, so daß in vielen Fällen keine eigentliche Kanälchenlichtung mehr besteht. Die Kerne sitzen der Basalmembran

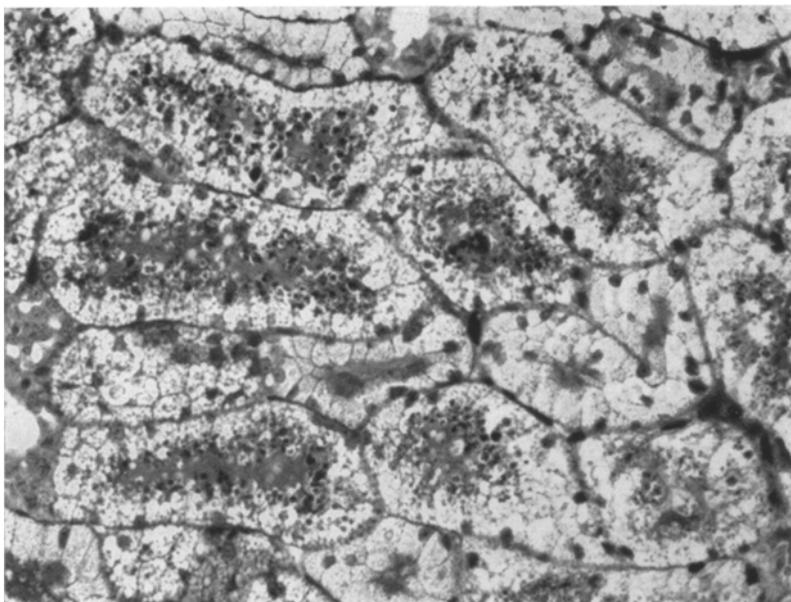


Abb. 6. Nierenausschnitt aus Abb. 5b. Masson. 218mal.

auf, sind meistens am Anfang etwas vergrößert und zeigen mehrere Kernkörperchen. Später können sie stark aufgelockert oder auch gegensätzlich ganz pyknotisch sein. Diese Aufschwellung der Zellen ist von einer Auflockerung und Aufhellung des Protoplasmas begleitet, in dessen gegen die Lichtung gerichteten Abschnitten mit Regelmäßigkeit größere Granula auftreten, die sich eosinophil anfärben. Die Lichtung enthält zwischen den Zelloberflächen eine ziemlich homogene eosinophile Masse, in der reichlich Granula liegen (Abb. 6). In den mittleren Zellabschnitten sind diese Körperchen kleiner. Nach der 10.—12. Injektion finden sich diese Hauptstückveränderungen überall in etwas wechselnder Stärke.

Die Granula verhalten sich bei verschiedenen Färbemethoden differently. Im H.-E.-Schnitt eindeutig eosinophil, nehmen sie bei Kimmelstiel-Färbung hauptsächlich Anilinblau und Goldorange an, nach der MASSONschen Trichrommethode ist ein anderer Teil stark rot tingiert. Sehr

wenige sind fibrinpositiv, mit Kongorot fehlt jede Reaktion. Die Fettfärbung fällt überall negativ aus, desgleichen die PAS-Reaktion. In der Methylgrün-Pyroninfärbung läßt sich teilweise eine Pyroninophilie erzielen; Gallocyanin ergibt ein negatives Resultat. Mit Kresylviolett färben sich einige Granula, Metachromasie tritt nirgends auf.

Die homogenen Eiweißmassen in der Kanälchenlichtung geben neben ihrer Eosinophilie und Anfärbung mit Anilinblau eine starke PAS-Reaktion. Auffällig ist schon an der normalen Kanälchenlichtung der PAS-positive Bürstensaum. Nach einigen Injektionen ist er deutlich verbreitert und drängt sich mit der Höhenzunahme der Zelle kappenartig zur Mitte. Es bestätigt sich so der erste Eindruck, daß diese zentralen Eiweißmassen, die das Lumen in vielen Fällen ganz verschließen, durch konfluierende Bürstensäume zustande kommen.

Waren die Glomerula im Winter bereits morphologisch sehr wenig erkenntlich alteriert, so ist im Sommer ihre Reaktion noch spärlicher. Im Vergleich zum normalen Tier fehlt jede Veränderung oder Vergrößerung. Die gelegentliche Zunahme der Kerngröße von Deckzellen im Winter wird vermißt. Die Kapselräume haben durchgehend offene Lichtungen. Eiweiß trat hier nur bei 3 von 50 Versuchstieren in spärlicher Menge auf.

Auch im Sommer stehen die tieferen Kanälchenabschnitte gegenüber den Veränderungen der Hauptstücke zurück. Es macht sich allerdings in stärkerem Maße ein dichteres Protoplasma mit vermehrter Anfärbung und eine Kernvergrößerung bemerkbar. Die Kanälchenlichtungen bleiben stets frei.

9. Die *Leber des Winterfrosches* ist von der des Sommertieres nicht wesentlich unterschieden. Hier wie dort fallen Zellbalken auf, aus zwei Zellreihen bestehend, mit dunklen dichten Kernen. Das Protoplasma liegt meist an den einander zugekehrten Seiten leicht vermehrt in Säumen, die Kerne demgegenüber in den nach außen gewandten Teilen der Zelle. Die Capillaren sind gewöhnlich kollabiert, hier und da nur durch die Haufen von kernhaltigen Erythrocyten kenntlich.

Gegenüber diesem normalen Zustand ändert sich das Bild schon nach wenigen Injektionen beträchtlich. In der Übersicht fallen die weit geöffneten Capillaren auf, ohne daß in den meisten Fällen eine besondere Blutfülle vorliegt. Bei manchen Tieren steigert sich das Bild bis zur Dissoziation der Leberzellen, die Capillarwände heben sich stellenweise von den Zellbalken ab. Großkernige KUPFFERSche Sternzellen werden sichtbar. In den Capillarlumina zeigt sich ein feingeronnenes, eosinophiles, teilweise auch tropfiges Material, oft eindeutig den Sternzellen zugeordnet. Die Leberzellen selbst bekommen jetzt ein gleichmäßigeres Protoplasma. Sie sind nicht mehr so durchscheinend wie im normalen Zustand. Es entwickelt sich ein großer Kern mit zahlreichen Kernkörperchen.

Ähnlich verhält es sich mit der *Leber im Sommerversuch*. Auch hier treten die eröffneten Capillaren hervor. Jedoch bleibt die Struktur insgesamt besser bewahrt, nirgends kommt es bis zur Dissoziation. Besonders schön macht sich die Betonung des Capillarraumes im Kimmestiel-Präparat bemerkbar, wo neben die rötlich gefärbten Leberzellbänder die blauen Capillarstränge treten. Dabei wird dieser Akzent hauptsächlich durch die blau gefärbten amorphen oder tropfigen Eiweiß-

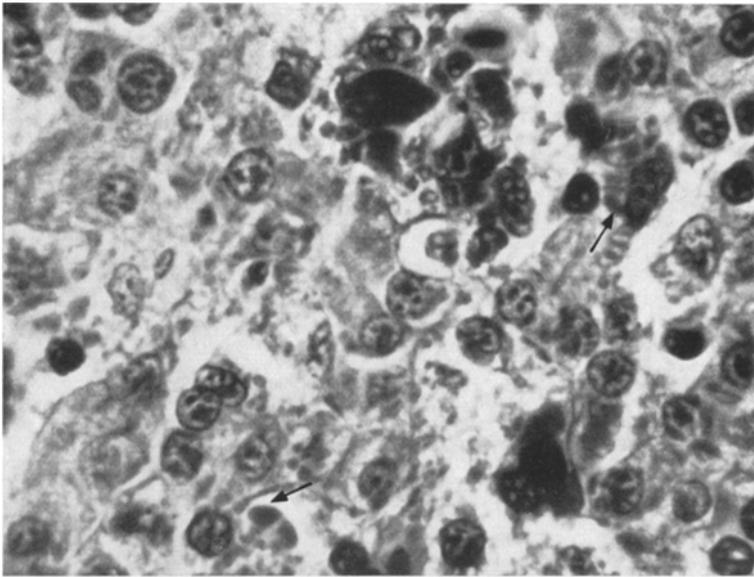
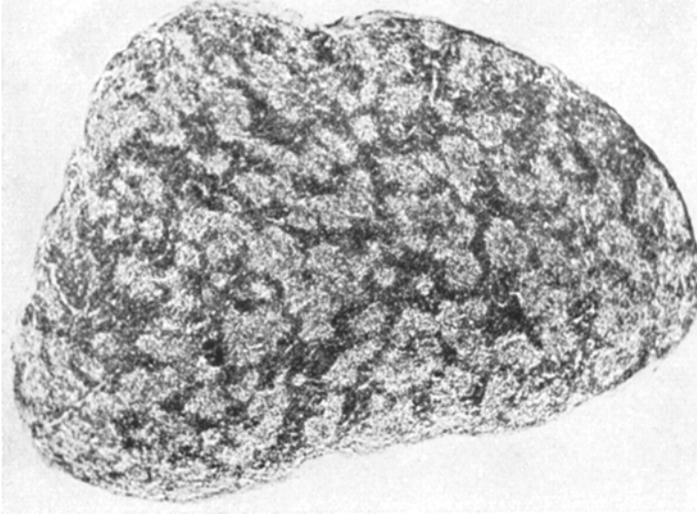


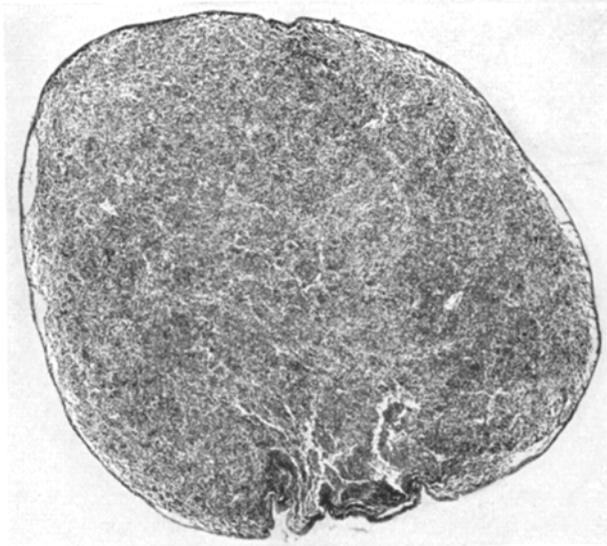
Abb. 7. Leber. Sommerfrosch Versuchstier PAS. 882mal. Pfeilmarkierung wegen schlechten Kontrastes in schwarzweiß.

bestandteile der Capillarwände hervorgerufen (Abb. 7). Die Zellkerne der Sternzellen färben sich hier mit Carminrot an, die Leberzellkerne dagegen mehr im Goldorangeton. Auch im Sommer bildet sich eine gleichmäßigere Verteilung des Protoplasmas der Leberzellen aus. Der Kern erweitert sich zu einem beträchtlich größeren Volumen. Im Gallocyanin- und Methylgrün-Pyroninpräparat stellt sich die Vermehrung der Nucleotide besonders gut dar. Mit der PAS-Reaktion gibt ein Teil der Eiweißpartikel in den Sternzellen einen positiven Farbausfall (Abb. 7). Das Protoplasma der Pigmentzellen zeigt regelmäßig die typische weinrote Farbe. Die anderen mehr amorphen Eiweißsubstanzen färben sich nur schwach oder gar nicht an.

10. Regelmäßige jahreszeitliche Unterschiede zwischen der normalen *Milz* von Sommer- und Winterfröschen fielen uns nicht auf. Jedoch bietet das Organ an sich und insofern ein unterschiedliches Verhalten,



a



b

Abb. 8 a u. b. Normale Milz oben. Versuchstier unten. H.-E. 25mal.

als der Anteil der follikelähnlichen Rundzellansammlungen gegenüber den Reticulumzellen sehr wechseln kann. Im Winter trifft man allerdings die großen Pigmentzellen gewöhnlich häufiger an als im Sommer.

Die charakteristische Änderung des Gewebsbildes durch den Versuch besteht in einer zunehmenden *Reticulumzellvermehrung und -vergrößerung*. Mit steigender Injektionszahl kann dann ein Zustand eintreten, in dem nur mehr Reticulumzellelemente mit großen Kernen vorhanden sind (vgl. Abb. 8a und b). Diese enthalten zahlreiche Nucleolen (Abb. 9). Es ist allerdings aus vorgenannten Gründen nicht ohne weiteres aus dem Überwiegen reticulumzelliger Elemente auf eine

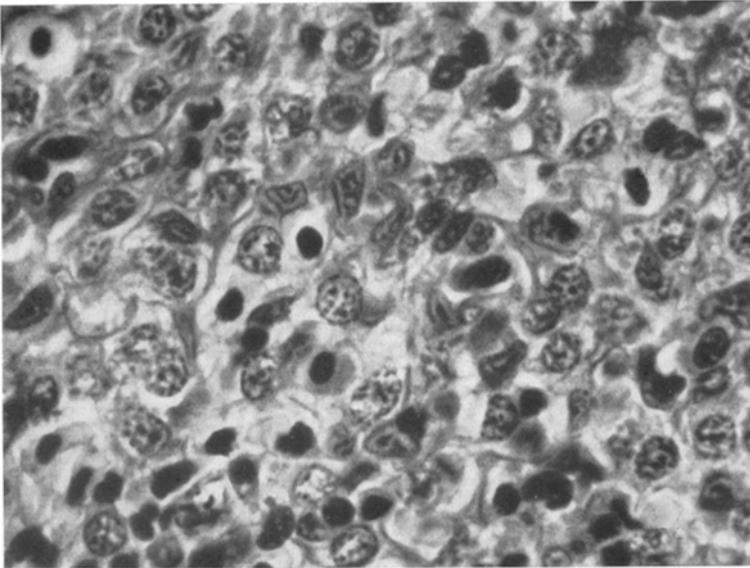


Abb. 9. Milzausschnitt. Sommerfrosch Versuchstier PAS. 765mal.

entsprechende Transformation des Gewebsbildes zu schließen. Man erkennt jedoch selbst bei noch relativ zahlreichen Rundzellanhäufungen an der Kerngröße und Lagerung der Reticulumzellnester deren Reaktionsart.

Diesem, im Sommer durchgängig ausgebildeten Zustand, tritt im Winter ein besonderes Verhalten zur Seite. Bei frühem und plötzlichem Tod der Wintertiere ließ sich nicht immer vermeiden, daß die Organe manchmal erst einige Stunden nach dem Tod zur Fixierung gelangten. Dabei fiel stets die rasch einsetzende Autolyse der Wintermilz auf. Entsprechende Kontrollen an normalen Tieren, auch an behandelten Sommertieren zeigten diese Erscheinungen nicht oder erst nach größeren Zeiträumen.

Bei Anwendung der PAS-Reaktion ergab sich als weiterer Befund, daß vornehmlich in den Sinusendothelzellen der behandelten Tiere eine diffuse oder tropfige Anfärbung zu beobachten war, wie überhaupt

neben der Kernvergrößerung auch der Zelleib allgemein eine Zunahme erfährt.

11. Die lokale Reaktion der Muskulatur an den Injektionsstellen beginnt mit einem starken Ödem der Bindegewebssepten zwischen den Muskelfasern. Es setzt ein scholliger Zerfall der Muskelfibrillen ein, die Kerne lösen sich auf. Eine Infiltration mit Leukocyten und auch Rundzellen pflanzt sich zunächst entlang den Muskelfasern in der Längsrichtung fort. Schließlich entstehen kleine Abszesse. In einer größeren Fläche der Muskelpartien liegen gewöhnlich relativ gut erhaltene Abschnitte neben kleinen Blutungen und Nekrosen bei insgesamt starker Auftreibung der betroffenen Faserbündel.

## II. Lebendbeobachtungen.

Angesichts der tubulären Gewebsveränderungen in der Niere des Sommerfrosches erschien es wichtig, die Funktion des Organes und die Zusammensetzung des Harnes unter den veränderten Bedingungen festzustellen. Dabei war es einmal von Bedeutung, die Niere des lebenden Tieres zu beobachten, zum anderen, den Harn während der Beobachtungszeit aufzufangen und einer Analyse zu unterziehen. Wir beschränkten uns dabei vorerst auf die Messung der Harnmenge und die Ermittlung des Anteiles von Eiweißstickstoff und Rest-N. Vorversuche wurden unternommen, um auch die Glomerulumfunktion in die Betrachtung miteinbeziehen zu können, wie dies in den klassischen Versuchen von WEARN, RICHARDS und ihrer Schule wie auch von anderen Untersuchern unternommen wurde. Da die methodischen Probleme in der zur Verfügung stehenden Zeit nicht mit genügender Exaktheit gelöst werden konnten, beschränkten wir uns vorerst auf die Untersuchung des Harnes, der aus dem Ureter abgesaugt wurde.

### *Methodik.*

Eine binoculare Zeiss-Opton-Lupe stand zur Verfügung. Die Beobachtung erfolgte im Auflicht mit Wärmeschutzfilter. Der große Objektstand und die weite Tiefenschärfe machten eine ausgezeichnete Beobachtung möglich. Der Frosch wurde in Curare-Urethan-Narkose auf einem selbstkonstruierten Tisch präpariert, dabei meist die linke Niere freigelegt. Auf eine seitliche Vorlagerung der Niere (WEARN und RICHARDS, SEYBOLD, EKEHORN) konnte verzichtet werden. Sie hat nach unseren Erfahrungen meist eine Beeinträchtigung der Blutzirkulation zur Folge. Durch seitliche Hochlagerung des Tieres wurden Darm und Magen außerhalb des Gesichtsfeldes gehalten. Da wir nur männliche Frösche verwendeten, die durch ihre weiten Ureteren bessere Operationsverhältnisse boten, hatten wir mit den sonst störenden Eierstöcken der weiblichen Tiere keine Last. Nur selten wurden große Hoden exstirpiert. Eine ausgezogene Kanüle konnte nach einiger Übung leicht in den Ureter eingebunden werden. Der Sog eines Hebersystems, nach den Angaben von WEARN und RICHARDS hergestellt, wurde empirisch auf 2—4 cm Wassersäule geeicht. Die Beobachtungszeit betrug gewöhnlich 6 bis 12 Std. Die freiliegenden Oberflächen erfuhren während dieser Zeit eine stete

Benetzung mit Frosch-Ringerlösung. Der ganze Frosch lag in einer Wasserlache, von feuchten Tüchern eingehüllt.

Bei den Glomerulumpunktionsversuchen war wie bei TANNENBERG und WINTER die Punktioneinrichtung auf ein Mikroskopstativ montiert. An einem Dreiwegehahn konnte die obengenannte Sauganlage angeschlossen werden.

Auf eine detailliertere Darstellung soll hier verzichtet werden. Zudem liegt die Beschreibung der Methodik in den obengenannten Arbeiten vor. Weitere Fragen sind ohnehin unter den jeweiligen Bedingungen durch Improvisation zu lösen.

Die Harnmenge wurde in einer feingradierten Pipette bestimmt, anschließend die eine Hälfte auf den Gesamtstickstoffgehalt im Mikro-Kjeldahl-Verfahren untersucht. Die andere Hälfte erfuhr nach der Fällung mit gleicher Menge 20%iger Trichloressigsäure und Zentrifugieren die gleiche Behandlung. Das Ergebnis wurde teilweise auch durch nephelometrische Untersuchung [nach SCHNEIDER (1)] kontrolliert. Bei vielen Tieren wurde auf diese Weise auch der Blasenurin analysiert. Allerdings muß hierbei kritisch vorgegangen werden, da sich oft bei Kontrolle mit der Lupe Parasiten in der Blase feststellen ließen.

### Ergebnisse.

Die Niere bot im Sommersversuch nach der ersten Woche ein eindrucksvolles Bild. Sie war mächtig aufgeschwollen und in Länge und Breite stark vergrößert. Ihr unterer Pol hatte sich so weit caudal verlagert, daß der gewöhnlich sanft nach unten abfallende Ureter in einen sigmaförmigen Verlauf abgedrängt wurde, ehe er in die Kloake einmündete. Dadurch erschwerte sich das Einbinden der Kanüle in das sonst frei verlaufende Ureterende beträchtlich. Um Verletzungen der Niere zu vermeiden, mußte der Bauchschnitt so weit wie möglich nach unten verlängert werden. Die Kanüle war oft erst nach völligem Freipräparieren des Ureters und genügender seitlicher Mobilisierung einzubinden. Mancher Versuch wurde verworfen, da durch die Operation Erythrocyten aus den Uretercapillaren austraten, die das Ergebnis unzuverlässig machten.

Die gesamte Nierenstrombahn befand sich in maximaler Durchblutung. Sämtliche Glomerula zeigten eine schnelle, kontinuierliche Blutströmung, die intertubulären Capillaren boten das gleiche Bild. Dies erschien im Gegensatz zur Beobachtung an normalen Tieren besonders auffällig, wo mindestens ein großer Teil der Nierenknäuel zeitweise nicht durchströmt war. Außerdem hatten die Glomerula in diesem Zustand ein größeres Volumen. Es ließ sich auch sofort übersehen, daß die intertubulären Capillaren weiter auseinander gedrängt waren, als man es beim normalen Tier festgestellt hatte. Die Tubuli zeigten sich als breite opale Säume. Man konnte auch durch einen Dichteunterschied im Zentrum stellenweise die Lichtung feststellen.

Das farbige Organ in hohem Funktionszustand, mit den kontrastierenden gelben Nebennierenkomplexen in den abführenden Venensinus, gab ein lebendiges Bild der Nierenveränderungen, die sich im Paraffinschnitt allzu abstrakt darbieten.

Völlig überraschend war dabei das Verhalten der Nierenfunktion: Kaum ein Zehntel der üblichen Harnmenge ließ sich gewinnen. Es lag eine hochgradige Oligurie vor. Auch der Stickstoffgehalt, der nur in ganz seltenen Fällen etwas Eiweiß enthielt, war in der gleichen Größenordnung gesenkt. Eine nennenswerte Proteinurie konnte also nicht vorliegen (Abb. 10). Der Blasenurin, der manchmal bei Versuchsbeginn abpunktiert wurde, zeigte das gleiche Verhalten.

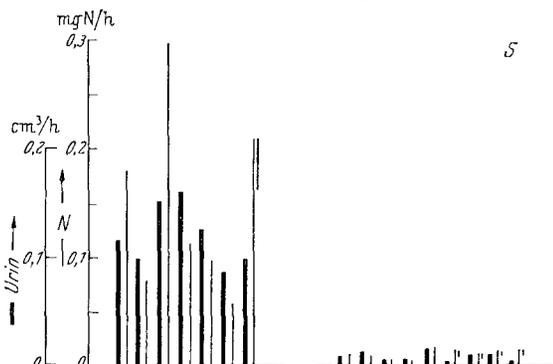


Abb. 10. Vergleich der Urinmenge und N-Ausscheidung in der Stunde. Eiweißanteile der N-Werte rechts neben den dünnen Säulen markiert. Links Normaltiere, rechts Versuchstiere.

An dieser Stelle sei auch auf einen Vergleich des Gesamt-N in der

normalen und behandelten Niere hingewiesen (Abb. 11). Aus dem Diagramm geht hervor, daß neben der früher besprochenen Zunahme an Größe und Gewicht auch eine Stickstoffeinlagerung vorliegen muß, die nach dem histologischen Bild einer Nephrose als Eiweißeinbau gewertet werden kann.

### Diskussion.

I. Im Vergleich zu dem „Amyloidexperiment“ am Kalt- und Warmblüter ist von vornherein auf einen grundlegenden Unterschied hinzuweisen. Der Frosch hatte keine Möglichkeit einer Nahrungsaufnahme organischer Stoffe. Es ist nicht nötig darzulegen, daß wir einen Amyloidbefall beim Kaltblüter nicht erwarteten. Der Schwerpunkt der Betrachtung sollte auf der Beobachtung der Eiweißverschiebungen liegen,

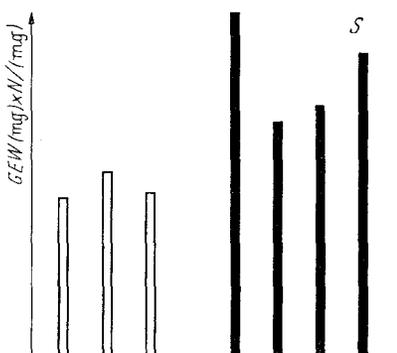


Abb. 11. Vergleich des Gesamt-N in der Niere (Gewicht in mg  $\times$  N/mg Organgewicht). Weiße Säulen Normaltiere, schwarze Säulen Versuchstiere.

unter besonderer Berücksichtigung ihrer morphologischen Manifestationen. Allgemein ausgedrückt wurde an dem Tier ein lokaler Eingriff durch Unterhalten einer entzündlichen Reaktion vorgenommen, und es war zu analysieren, wie der Kaltblüter, der gewohnt ist, in einem periodischen Energieauf- und -abbau zu leben, diesem Eingriff begegnet.

Dabei ist nicht zu übersehen, daß sich gerade bei Möglichkeit einer Nahrungsaufnahme weitere Probleme ergeben, die zusätzliche Vergleiche zu den früheren Untersuchungen über den Einfluß der Ernährung beim Warmblüter (GÖSSNER und Mitarbeiter) unter denselben Versuchsbedingungen gestattet hätten. Solche Versuche überschritten aber das zunächst gesteckte Ziel.

Es lagen also zu Versuchsbeginn streng begrenzte energetische Bedingungen vor. Diese Einschränkung bedeutet im Sommer naturgemäß einen größeren Eingriff, bei allerdings wesentlich besserem Ernährungszustand.

Die Einwirkung des Versuches auf Leber und Muskelsubstanz als Schwerpunkten der Eiweißdepots, die wir zunächst herausgriffen, gehen aus den Kurven der Abb. 12 und 13 besser hervor als aus den ersten schematischen Darstellungen. Hier sind alle Werte unter Berücksichtigung des Körpergewichtes für einen charakteristischen Einzelvergleich dargestellt. Dabei wurden die gleichen Relationen in derselben Darstellungsweise gewählt, wie sie TERBRÜGGEN (3) in die Diskussion solcher Fragen eingeführt hat (vgl. auch SCHNEIDER im gleichen Heft).

Es geht daraus hervor, daß am Versuchsende die Relation Gesamtmuskelgewicht/Körpergewicht in Winter wie Sommer deutlich erniedrigt ist. Im Sommer wird darüber hinaus der Verlust an Trockensubstanz gegenüber dem Eiweißverlust relativ größer als im Winter, was darauf hinweist, daß bei dem gut ernährten Sommertier weitere Reserven, hauptsächlich wohl Glykogen, zur Verfügung stehen. Dasselbe wird im Lebervergleich offenbar, wo der Sommerfrosch in der Ausgangslage über erheblich größere Substanz verfügt als im Winter. Auch hier ist eine Betonung des Trockensubstanzverlustes gegenüber dem Eiweißabbau unverkennbar. Bemerkenswert ist bei der Leber im Winterversuch der leichte Eiweißanstieg.

Schon im histologischen Bild ist angedeutet, daß ein jahreszeitlicher Unterschied des Glykogengehaltes besteht, der allgemein verständlich ist und neuerdings in seinem Jahresrhythmus besonders im Hinblick auf die Blutzuckerbewegung untersucht wurde (SMITH). Es bestätigt sich darin, daß im Juni/Juli allgemein eine Anhäufung von Glykogen erfolgt, nachdem die erste Nahrungsaufnahme im April/Mai zunächst nur zum Gewebersatz und Wachstum ausgenutzt wird. Auch der Fettkörper erfährt nach diesen Sommermonaten seine größte Ausbildung. Der Frosch befindet sich also vor unserer Sommersuchsperiode gerade im besten Kräftezustand. Dazu sei noch erwähnt, daß diese allgemeine Periodik auch im Funktionszustand anderer Organsysteme zutage tritt (SCHERMER). So gibt es charakteristische jahreszeitliche Unterschiede der peripheren Erythrocyten-, Leukocyten- und Thrombocytenwerte. Im Knochenmark läßt sich in der Mitosenzahl die sommerliche Aktivität nachweisen.

Während bereits genaue Untersuchungen über den normalen Kohlenhydratstoffwechsel vorliegen (SMITH), fehlen ähnliche Beobachtungen

für den Eiweißbestand. Unsere Befunde können keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben, sie geben nur die Werte unter extremen jahres-

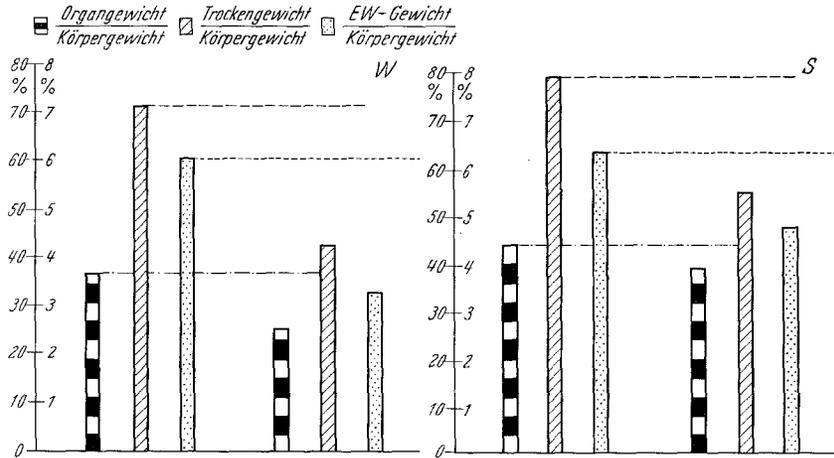


Abb. 12. Vergleich von Winter- und Sommermuskulatur. Oben eingetragene Relationen Links Normal-, rechts Versuchswerte.

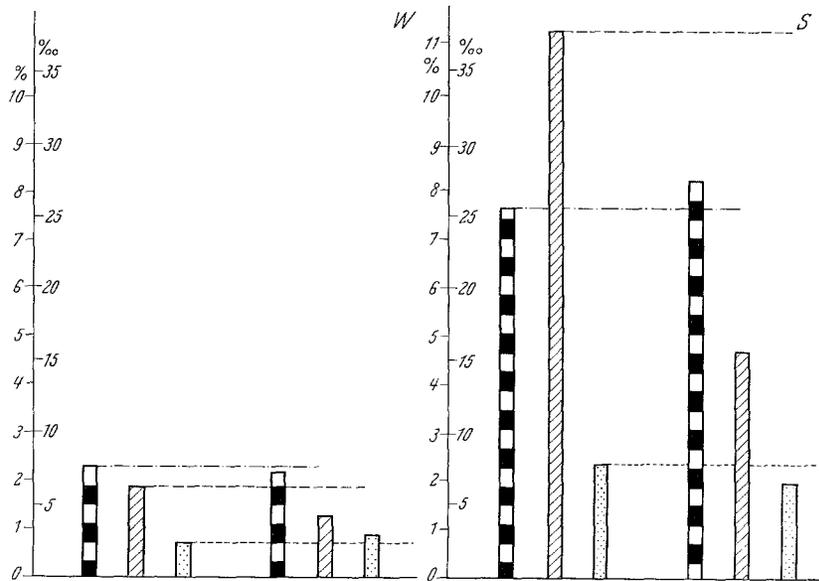


Abb. 13. Vergleich von Winter- und Sommerleber. Relationen wie oben.

zeitlichen Bedingungen wieder. Sie müßten im Hinblick auf eine Jahresrhythmik erweitert werden.

Von Interesse sind hierbei vor allem die Bluteiweißuntersuchungen. Für das Serumeiweiß finden sich dabei deutlich unterschiedene Werte. Frühere Angaben darüber differieren stark. So sind Mittelwerte von

4,6 g-% bis 2,54 g-% verzeichnet (SCHERMER). Allerdings geht daraus nicht hervor, in welcher Jahreszeit die Bestimmungen vorgenommen wurden. An sich könnten die Werte mit unseren Beobachtungen für die entsprechende Jahreszeit übereinstimmen.

Über eine Aufspaltung in die einzelnen Fraktionen liegt nichts Genaues vor. Bei der allgemeinen Unterscheidung in Albumine und Globuline ist für *R. esculenta* das Verhältnis von 0,16 angegeben (SCHERMER). Dies muß nach unseren Untersuchungen an einer großen Zahl von Tieren und innerhalb zweier Jahre revidiert und durch die genauen, oben mitgeteilten Angaben ersetzt werden.

Überraschenderweise zeigen die Bluteiweißfraktionen unter der Behandlung die gleichen initialen Verschiebungen, die grundsätzlich mit denen des Warmblüters übereinstimmen. Allerdings fällt dabei der Winterversuch insofern aus der Reihe, als auch im Bluteiweißbild der frühe Zusammenbruch der Regulation in einem oft widersprechenden, unsystematischen Verhalten zum Ausdruck kommt. Der Sommerfrosch zeigt dagegen den gleichen Albuminabfall, die gleiche  $\alpha$ - und schließlich  $\beta$ -Globulinvermehrung, wie sie für den Amyloidversuch (OTT und SCHNEIDER, LETTERER und SCHNEIDER, SCHEURLLEN) und im Rahmen anderer Fragestellungen bekannt sind. Auffällig ist die starke Reaktion der  $\gamma$ -Globuline, die im Winter keinerlei Schwankungen zeigen. Dies darf als besonderer Ausdruck einer cellulären und humoralen Reaktionsfähigkeit des Sommerfrosches angesehen werden, zumal nach den COHNschen Untersuchungen gerade diese Fraktion die Antikörper als modifizierte Serunglobuline enthält. Unsere Beobachtung hinsichtlich des starken  $\gamma$ -Globulinanstieges stimmt indirekt auch mit den alten Feststellungen von METSCHNIKOFF und v. DUNGERN darin überein, daß Kaltblüter im Winter nicht imstande sind, Antikörper zu bilden. Im Amyloidversuch an der Maus haben gerade die  $\gamma$ -Globuline Aufmerksamkeit gefunden, da sie mit dem Zeitpunkt des Auftretts von Amyloidsubstanz im Übergang zwischen akuter und chronischer Phase der Dysproteinämie im Zusammenhang stehen (vgl. LETTERER-SCHNEIDER). Die Reaktionen dieser Fraktion sind von SCHEURLLEN in einer ausführlichen Studie über den Amyloidversuch unter zusätzlicher Sensibilisierung beschrieben worden (SCHEURLLEN).

Wenn auch die Bluteiweißkonstellation des Sommerfrosches mit der des Warmblüters weitgehend übereinstimmt, so liegt doch ein wichtiger Unterschied darin, daß sich innerhalb der Versuchszeit keine Rückbildung der Schwankungen ergibt, die allgemein sehr viel heftiger verlaufen, als man es vom Warmblüter gewohnt ist. Der Frosch ist offenbar nicht in der Lage, in diesem Zeitraum normale Verhältnisse wiederherzustellen. Insbesondere bleibt der hohe Albuminverlust bestehen; auch ist die zeitliche Aufeinanderfolge, wie sie im Amyloidexperiment analysiert wurde (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEG-

MANN, OTT und SCHNEIDER, LETTERER und SCHNEIDER) weitgehend gewahrt. Allerdings fehlt beim  $\gamma$ -Globulin der initiale Abfall. Es wäre zu denken, daß die allgemein langsamere Reaktion des Frosches größerer Zeiträume zur Gegenregulation bedarf.

Andererseits ist diese bleibende Konstellation in Beziehung zum nephrotischen Syndrom zu setzen. Es findet sich die starke Albuminverminderung, die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zunahme bei insgesamt negativer Stickstoffbilanz. Der Anstieg der  $\gamma$ -Globuline im Sommer stellt aber eine Besonderheit dar, die nicht ganz zum Bluteiweißbild des nephrotischen Symptomenkomplexes paßt (WUHRMANN). Fügt man die Tendenz zur Wasseraufnahme in den Organen und die Beobachtung vermehrter freier Flüssigkeit hinzu, so steht der Annahme des klinischen Bildes der Nephrose nichts entgegen, besonders wenn man an die Nierenveränderungen im Sommer denkt. Wichtig ist hier der Vergleich zur Maus, wo trotz der experimentellen Dysproteinämie keinerlei Nierenveränderungen im Sinne einer Nephrose auftreten. Man kann daraus schließen, daß die ausgeprägten Bluteiweißveränderungen bei Nephrosen nur Symptom und Teilursache sind, also mehr einen universellen Eiweißstoffwechselschaden anzeigen, als ihn erklären. HARTMANN hat diese Ansicht in der Gegenüberstellung seiner Plasmaphereseversuche mit den experimentellen Bluteiweißveränderungen im Hinblick auf die Nephrose in ähnlicher Weise dargestellt.

Der „Amyloidversuch“ beim Frosch bietet darüber hinaus gewisse Ähnlichkeiten mit der Einwirkung von Cortison auf den Versuchsverlauf bei der Maus [SCHNEIDER und TOCHTERMANN (3)]. Hier ist zu beobachten, daß die Gegenregulationen des Organismus in Gestalt der Leber- und Milzvergrößerung mit den kennzeichnenden histologischen Veränderungen, der typischen Bluteiweißverläufe, des schließlichen Serumeiweißzuwachses, der Körpergewichtszunahme in diesem Falle bei insgesamt negativer Stickstoffbilanz ausbleiben. Auch beim Frosch besteht in Verbindung mit einer verstärkten Abnahme der Körpersubstanz, einem Bluteiweißverlust, einem Schwinden der Muskulatur und Leber, ein forcierter Stickstoffverlust. Im Sommer sind aber mit der Bluteiweißregulation, vor allem der  $\gamma$ -Globulinvermehrung, den histologischen Zeichen der Aktivität in Leber, Milz und Nieren, die teilweise auch im Winter vorliegen, Beweise für eine Phase der Regulation im Sinne der Wiederherstellung des Gleichgewichtes gegeben. Allerdings fehlt auch hier innerhalb der Versuchszeit eine voll genügende Umstellung von der akuten in die chronische Bluteiweißkonstellation, die schließlich auch das Auftreten der Amyloidsubstanz nach sich zieht.

Es bietet sich hier in der Aktualität des „künstlichen Winterschlafes“ oder der „potenzierten Narkose“ für die Therapie eine Gegenüberstellung der Winter- und Sommerreaktionen unter diesem Gesichtspunkt an. Die zugrunde liegenden Erscheinungen, die man besser als „gesteuerte Hypothermie“ bezeichnen würde,

haben aber ihre Parallele nicht in der Poikilothermie der niederen Wirbeltiere, sondern in den tiefgreifenden Veränderungen des Säugetierlebens, die in der *Vita minima* von Murmeltier, Hamster u. a. *nicht nur auf Anpassung*, sondern auch auf *zentrale Steuerung* zurückgehen. Das ist auch aus dem verwandten Sommerschlaf mancher Tiere erkenntlich. Es erscheint verfrüht, hier Beziehungen zu entdecken, die vorläufig nur spekulativer Natur sein können.

II. Vor diesem Hintergrund der Eiweißverschiebungen, die ihren Ausdruck in den Eiweißverlusten und Schwankungen der Serumfraktionen finden, ergeben sich histologische Organveränderungen, von denen die der Nieren die größte Aufmerksamkeit beanspruchen dürfen. Es findet sich ein jahreszeitlicher Unterschied in der *Intensität* und dann auch der *Art*, mit der die Nieren in das ganze Geschehen einbezogen sind.

Nach dem histologischen Bild im *Winter* ist die Reaktion dieses Organes gering. Es ist möglich, daß hier eine Proteinurie vorliegt, denn in vielen Fällen ist sowohl in der Glomerulumkapsel als auch in den Tubuluslichtungen fein verteiltes Eiweiß nachzuweisen. Die Tubuluszellen sind dabei kaum in Mitleidenschaft gezogen. Sie weisen eine leichte Zellvergrößerung auf, darüber hinaus aber nichts Besonderes. Endgültig kann zu dieser Frage erst Stellung genommen werden, wenn auch im Winterversuch Harnmenge und Zusammensetzung festgestellt sind, was weiteren Untersuchungen vorbehalten bleibt. Es wäre aufschlußreich, wenn sich ein Antagonismus herausstellte, der die Verschiedenheit von Sommer- und Winterversuch in Gewebsbild und Funktion in Einklang bringt.

Im *Sommer* liegt histologisch eine Gewebsveränderung der Tubuli vor, die im wesentlichen auf die Hauptstücke beschränkt bleibt. Sie soll mit dem Rahmenbegriff „Nephrose“ benannt werden. Es entwickelt sich eine mächtige Zunahme der Tubuluszellen, welche die Kanälchenlichtungen völlig verschließen kann. Überall treten verschieden große hyaline Tropfen auf; im Zentrum bildet sich eine ziemlich homogene Eiweißzone aus; die basal gelegenen Zellkerne zeigen schließlich regressive Veränderungen. Bei Lebendbeobachtung findet man die Niere in stärkster Durchblutung. Trotzdem ist gleichzeitig eine beträchtliche Oligurie nachzuweisen, ohne daß vermehrt Stickstoff ausgeschieden wird.

Ehe auf eine weitere Erörterung eingegangen wird, ist auf die Tatsache zu verweisen, daß die Kanälchen der Froschniere von Ästen der Nierenpfortader versorgt werden. Diese erhält ihr Blut aus den Stromgebieten der hinteren Extremitäten, die, wie oben beschrieben, in der Oberschenkelmuskulatur Injektionsort und Bereich eines entzündlich-nekrotisierenden Herdes waren. Bei der Betrachtung der anatomischen Verhältnisse drängt sich die Frage auf, ob für die alte Streitfrage über den Entstehungsweg nephrotischer Veränderungen unter *unseren* Versuchsbedingungen der Schwerpunkt in der Einheit Tubuluscapillare—Harnkanälchen gegeben ist, denn die Nierenpfortader

führt aus den Nekrosebezirken der Oberschenkel den Tubuluscapillaren unmittelbar Resorptionsprodukte zu.

Die Alternative dazu ist sofort gegeben: Sind diese Veränderungen „primäre Durchtrittsänderungen durch die Glomeruluscapillaren“, die „sekundär zu morphologischen Veränderungen an den sog. Nierenepithelien der Harnkanälchen“ geführt haben? (RANDERATH.) Diese Vorstellung ist gerade auf Grund zahlreicher Experimente am Kaltblüter begründet und eingehend diskutiert worden.

Einer Interpretation in diesem Sinne steht aber in unserem Falle Verschiedenes entgegen. Es läßt sich kein Eiweiß in der BOWMANSchen Kapsel nachweisen, was im Hinblick auf die Nierenfunktion des Frosches ohne weiteres zu fordern wäre; denn der Harn des Frosches ist hypotonisch, eine Einengung in nennenswertem Maße findet nicht statt. Eine Proteinurie müßte also beim Frosch optimal faßbar sein, ohne die umstrittenen Fixationsmaßnahmen, die beim Menschen im Hinblick auf den oft schwierigen Eiweißnachweis zur Anwendung kamen. Die „Einengung des Primärharnes“ spielt in der zitierten Konzeption der Nephrosen eine bedeutende Rolle, kann aber für den Frosch nicht in Anspruch genommen werden.

Neuerdings wird die Annahme großer Primärharmengen nach der CUSHNYSchen Theorie wieder bestritten (FREY und FREY). Mit einleuchtenden Argumenten ergibt sich nach experimentellen Untersuchungen und Berechnungen eine normale Primärharmenge von 4 Liter für den Menschen. Es ist abzuwarten, wie weit diese Anschauungen Fuß fassen. Manche Deutungen der morphischen Zustände sollten danach einer Neuorientierung bedürfen.

Wir sehen deshalb keine Notwendigkeit, für unsere Ergebnisse eine „primäre Glomerulopathie“ anzunehmen, die sonst in diesen Fragen ein grundlegendes pathogenetisches Prinzip darstellt (LETTERER).

Die in wenigen Fällen beobachteten spärlichen Eiweißgerinnsel der Glomerulokapsel (Sommerversuch) haben keine Bedeutung. Sie stehen in keiner Beziehung zur Ausdehnung der Tubulusveränderungen. Im Hinblick auf die insgesamt veränderte Nierenfunktion scheint uns *zusätzlich* ein gelegentlicher Eiweißaustritt möglich.

Es folgt aus der Deutung der histologischen Bilder unter Berücksichtigung der physiologischen und anatomischen Verhältnisse sowie der eigenen Untersuchungen am lebenden Objekt, daß die Leistungssteigerung der Hauptstückzelle nicht als Äquivalent eines tubulären Resorptionsprozesses aufzufassen ist. Damit ergibt sich eine nahe Beziehung zu den Ansichten TERBRÜGGENS (1 und 2), die er für die Entstehung der hyalinen Tropfen entwickelt hat, welche in so reichem Maße bei unseren Versuchstieren auftreten. Schon unsere Versuchsanordnung entspricht der Voraussetzung TERBRÜGGENS, daß ein einschmelzender Prozeß im Körper vorliegen muß. Damit stellen die hyalinen Tropfen Anreicherungen von Eiweißspaltprodukten dar, die im Golgi-Apparat der Hauptstückzellen entstehen und sicher auch im Sinne einer Sekretion

ausgestoßen werden können. Färberisch, nach ihrer Lage und Größe erfüllen unsere Granula nicht die Ansprüche, die nach TERBRÜGGEN an das eigentliche „Ausscheidungshyalin“ zu stellen sind. Die wechselnde Färbbarkeit, die ungleiche Größe und ungerichtete Lagerung passen dagegen genau in die Definition der Granula beim „tropfigen Zerfall“ der Zelle. Wir fassen die Umgestaltung der Hauptstückzellen als Leistungssteigerung bei einem großen Angebot von Polypeptiden aus örtlichem Eiweißzerfall und allgemeinem Eiweißabbau auf. Diese Leistungssteigerung endet schließlich in regressiven Kernveränderungen, in maximaler Aufquellung der Zelle, die durch Verschluß ihrer Kanälchenlichtung die Organfunktion einschränkt und zur Oligurie führt. Aus dem Fehlen einer Proteinurie ist zu schließen, daß diese Zellveränderungen nicht ohne weiteres als Zeichen einer Sekretion zu werten sind. Das morphische Bild bedarf unserer Meinung nach nicht unbedingt des teleologischen Zwanges: Rückresorption oder Sekretion.

Aufschlußreich ist in diesem Zusammenhang das Verhalten der Bürstensäume. Sie geben am normalen Tier eine positive PAS-Reaktion. Auch die „Schäumchenstrukturen“ zeigen den gleichen Färbeeffect. Sie stehen in enger Beziehung zum Bürstensaum und sind nach BARGMANN auch im frischen, überlebenden Nephron festzustellen, also keine Kunstprodukte. Nach dem H.-E.-Schnitt könnte man die im Versuch auftretenden Verschlüsse der Kanälchenlichtung zunächst als kondensierte, extracelluläre Eiweißmassen auffassen, die aus dem Glomerulum stammen. Die färberische Differenzierung sichert, daß es sich um zusammenfließende Bürstensäume handelt. Unsere Deutung, daß es sich um einen Endzustand gesteigerter Zelltätigkeit handelt, erhält daraus eine Stütze.

Es zeigt sich also, daß hyaline Tropfen nicht als Substrat einer tubulären Eiweißrückresorption schlechthin angesprochen werden können (BÜCHNER). Beide Möglichkeiten haben in der Nierenpathologie ihren Platz.

Aus unseren Versuchen soll kein einseitiges Bild entstehen, das nicht imstande wäre, den *verschiedenen* Gegebenheiten von Warm- und Kaltblütern Rechnung zu tragen. Es ergibt sich wieder, daß scheinbar gleiche Strukturen auf verschiedenen Wegen zustande kommen können. Das gilt im Hinblick auf die wichtigen Salamanderexperimente, die damit eine Ergänzung und Einschränkung erfahren. Erst recht sollte dies in der Beweisführung gegenüber höheren Tieren und dem Menschen beachtet werden.

In neuerer Zeit hat sich OLIVER mit zahlreichen Mitarbeitern um die histochemische Analyse der hyalinen Tropfen bemüht. Mit allen Methoden, die zur Verfügung stehen, untersuchte er Granula, die an Ratten nach Eiereiweiß- und Aminosäureinjektionen auftreten. In den Versuchen ist ein weiteres Beispiel für deren glomerulopathischen Weg gegeben. Die stets fibrin- und PAS-positiven Tropfen weisen aber morphologisch Unterschiede gegenüber unseren Befunden auf, denn neben einer ungerichteten Lagerung und Größenverschiedenheit zeigen die Granula beim Frosch überwiegend einen negativen Ausfall dieser Färbungen.

Die Leber der Versuchstiere weist sowohl im Winter- wie im Sommerversuch histologische Zeichen einer Aktivierung auf. Diese sind aber gegenüber denen der Maus beschränkt. Überall vergrößern sich die Zellkerne beträchtlich (Abb. 7) und zeigen so übereinstimmend mit dem Mäuseversuch einen erhöhten Leistungszustand der Zelle an. Dagegen tritt keine Vermehrung der Plasmanucleotide ein, die im Mäuseversuch so eindeutig zu verfolgen war (GÖSSNER und Mitarbeiter). Auch fehlten gehäufte Mitosen oder Doppelkernigkeit sowie eine merkbare Zellverkleinerung als Ausdruck der Hyperplasie, welche bei der Maus gesichert werden konnte (GÖSSNER und Mitarbeiter). Dies stimmte bei der Maus auch mit den Gewichts- und Eiweißbestimmungen überein, die ebenfalls den anabiotischen Charakter des Versuches darlegen (LETTERER und SCHNEIDER).

Im histologischen Bild lassen sich Schwankungen des Eiweißgehaltes mit den absoluten Werten der Kjeldahl- und Gewichtsbestimmungen nur mit Vorbehalt in Einklang bringen. Für den Froschversuch ist in weiten Grenzen zu schließen, daß insgesamt keine aktive Eiweißneubildung vorliegt, die bei der Maus nach allem anzunehmen ist. Vielmehr ist eine passive Anteilnahme (Mobilisierung, vorübergehende Zu- und Abnahme) innerhalb des Gesamtabbaues sicher, die für die Leber im Winter in der Dissoziation des Gefüges histologisch zutage tritt. Beachtet man, daß in dem typischen Vorrats- und Umlagerungsstoffwechsel des Frosches bei gegebenem Energievorrat höchstens Verschiebungen vorliegen können, dann nimmt es nicht wunder, daß die Gesamtsituation histologisch wenig zum Ausdruck kommt. Jedenfalls wird beispielsweise im Vergleich des Winter- und Sommerversuches wenig davon sichtbar, daß der Lebereiweißgehalt im Winter am Versuchsende, wohl infolge eines stärkeren Eiweißangebotes, insgesamt vermehrt ist, im Sommer dagegen nicht (Abb. 13).

Läßt sich aus dem Gewebsbild für die Veränderungen des Organeiweißgehaltes in quantitativer Hinsicht wenig erkennen, so ist doch eine mesenchymale Beteiligung wie bei der Maus festzustellen. Proliferationsherde treten in der Leber nicht auf. Dennoch sind die Endothelien der Lebercapillaren lebhaft beteiligt. Ihre Kerne sind sehr groß, die Zelleiber vermehrt und teilweise färberisch auffällig. Die Capillaren haben eine weit gestellte Lichtung, es findet sich reichlich fein geronnenes Eiweiß im Lumen und den Capillarwandungen. In der Milz macht sich gleichzeitig eine erhebliche Vermehrung und Vergrößerung der Reticulumzellen bemerkbar. Aus alledem möchten wir schließen, daß auch beim Frosch hier eine Eiweißsynthese aus den anfallenden Eiweißabbauprodukten stattfindet. Im Hinblick auf die  $\gamma$ -Globulinreaktion des Sommerfrosches war bisher keine jahresabhängige Differenz zu ermitteln, welche Schlüsse auf eine unterschiedliche Zellaktivität gestattet hätte. Vielleicht läßt sich später zu dieser Frage mehr sagen.

### Zusammenfassung.

Das „Amyloidexperiment“ an Fröschen ergibt Einblicke in die Dynamik des Eiweißstoffwechsels beim Kaltblüter und führt zu geweblichen Veränderungen, die in ihren jahreszeitlichen Unterschieden und im Vergleich zu den Versuchen am Warmblüter dargestellt werden.

Unter der Behandlung bildet sich im Sommer ein Zustand aus, der eine weitgehende Übereinstimmung mit dem nephrotischen Syndrom des Warmblüters aufweist. Durch die Analyse des Serum-Eiweißbildes und der Organeiweißbestände konnte dies näher festgelegt werden. Im Winterversuch fehlt trotz teilweiser Übereinstimmung ein regulierter Verlauf. Die meisten Tiere starben vorzeitig.

In Leber und Milz ist eine Leistungssteigerung des aktiven Mesenchyms zu beobachten. Darüber hinaus erfährt die Niere des Sommerfrosches eine Umgestaltung, die morphologisch als Nephrose anzusprechen ist und mit der Bildung hyaliner Tropfen in den Hauptstückzellen einhergeht. Bei Lebendbeobachtung der Niere und Untersuchung des Harnes zeigt sich gleichzeitig eine Oligurie ohne vermehrte Stickstoff- oder Eiweißausscheidung. Die Veränderungen im Sommerversuch werden als Zeichen einer vermehrten Zellaktivität der Nierentubuli gedeutet. Diese kann nicht als Ausdruck einer tubulären Eiweißrückresorption verstanden werden. Vielmehr ist sie die Manifestation einer Eiweißanreicherung nach örtlicher Gewebseinschmelzung.

### Literatur.

BARGMANN: Dtsch. med. J. 1954, 2. — BÜCHNER: Allgemeine Pathologie, S. 57. 1950. — DUNGERN, v.: Die Antikörper. 1903. — EKEHORN: On the principles of the renal function. Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. 36 (1931). — FREY, E., u. J. FREY: Die Funktionen der gesunden und kranken Niere. 1950. — GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS u. STEGMANN: Virchows Arch. 320, 326 (1951). — HARTMANN: 41. Kongr. der Nordwestdtsh. Ges. Inn. Med., 1953, S. 49. — LETTERER: Medizinische 1952, Nr 16, 1. — LETTERER u. SCHNEIDER: Plasma 1, 263 (1953). — LETTERER u. SEYBOLD: Virchows Arch. 318, 451 (1950). — METSCHNIKOFF: Immunität usw. 1902. — OLIVER, MACDOWELL u. YIN CHEN LEE: J. of Exper. Med., 1954, No 6. — OTT, u. SCHNEIDER: Z. exper. Med. 116, 545 (1951). — RANERATH: In BECHER, Nierenkrankheiten, Bd. II, S. 98. 1947. — SCHERMER: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, S. 143ff. 1954. — SCHEUBLEN: Plasma 2, H. 2/3 (1954). — SCHNEIDER: (1) Z. physiol. Chem. 283, 112 (1948). — (2) Schweiz. med. Wschr. 1952, 445. — (3) Verh. dtsh. Ges. Path. (36. Tagg) 1952, 178. — SEYBOLD: Virchows Arch. 317, 103 (1948). — SMITH: J. of Exper. Biol. 26, 412 (1950). — TANNENBERG u. WINTER: Frankf. Z. Path. 37, 1 (1929). — TERBRÜGGEN: (1) Virchows Arch. 290, 574 (1930). — (2) Beitr. path. Anat. 86, 235 (1931). — (3) Verh. dtsh. Ges. Path. 1937, 171. — WEARN and RICHARDS: Amer. J. Physiol. 71, 209 (1924).

Dr. GERD RUHRMANN,  
Pathologisches Institut der Universität Tübingen.