

Aus dem Pathologischen Institut (Vorstand: Prof. Dr. F. J. LANG)
und dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Innsbruck
und aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. E. RANDEATH)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Glomerulum bei der Masugi-Nephritis der Ratte*

Von

F. MILLER und A. BOHLE

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 31. Mai 1957)

Bei der nach MASUGI erzeugten diffusen Glomerulonephritis kommt es, wie PRESSMAN und KEIGHLEY nachweisen konnten, in den Glomerula zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Dabei sollen Substanzen der glomerulären Basalmembran oder des glomerulären Endothels mit dem Antikörper des Nephrotoxins reagieren (KRAKOWER und GREENSPON, HILL, CRICKSHANK und CROSSLAND). Bei der Ratte entsteht meist schon in den ersten Tagen nach der Nephrotoxingabe eine schwere Proteinurie mit Änderung des Serumeiweißbildes (HIERONYMI, BOHLE und HARTMANN, PFEIFFER u. Mitarb.), gelegentlich entwickeln sich Ödeme (BOHLE und HIERONYMI, WAGENHÄUSER); eine Hämaturie ist selten und meist geringfügig (BOHLE und HIERONYMI, EHRICH und PIEL).

Klinisch bietet somit die Masugi-Nephritis der Ratte das Bild einer Glomerulonephritis mit nephrotischem Einschlag; funktionell steht die Permeabilitätsstörung als glomeruläre Betriebsstörung [RANDEATH (1, 2)] im Vordergrund. Auch morphologisch treten gewöhnlich die proliferativen entzündlichen Veränderungen gegenüber alternativen zurück. Im wesentlichen werden Schwellungen und Vermehrung von Endothel-, Mesangium- und visceralen Deckzellen sowie eine Verbreiterung bzw. Aufsplitterung der glomerulären Basalmembranen beschrieben. Von ZOLLINGER (1, 2) wird die Aufsplitterung der Basalmembran als morphologisches Zeichen für entzündliche Veränderungen gewertet; die Nephrose soll durch eine reine Verbreiterung der Basalmembran gekennzeichnet sein.

PIEL u. Mitarb. sowie REID berichteten erstmalig über elektronenmikroskopische Untersuchungen am Glomerulum bei der Masugi-Nephritis. PIEL u. Mitarb. fanden bei der Ratte nach Nephrotoxingaben dunkles osmiophiles Material um die Fortsätze der visceralen Deckzellen und 6 Std nach der Nephrotoxininjektion eine Verdickung der Basalmembran. REID beschrieb bei der Maus herdförmige osmiophile Ablagerungen zwischen der nicht verdickten Basalmembran und dem manchmal geschwollenen Endothel sowie eine Schwellung und Vacuolisierung der Deckzellen.

Der Zweck unserer Arbeit ist, in erster Linie das Verhalten der Basalmembran bei der Masugi-Nephritis zu untersuchen, da die bei dieser Erkrankung auftretende Proteinurie zum Teil als Ausdruck einer erhöhten Permeabilität der Glomerulumcapillaren angesehen wird. Ferner sollte

* Auszugsweise vorgetragen auf der 41. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Bad Nauheim, 7.—11. 4. 57.

am Modell der Masugi-Nephritis der Frage nachgegangen werden, ob es bei entzündlichen Erkrankungen der Glomerula zu einer Aufspaltung der Basalmembran [ZOLLINGER (1, 2)] bzw. zu einer Ablösung der subendothelialen von der subepithelialen Basalmembran (MACCALLUM, JONES (1, 2), BOHLE und KRECKE) kommt. Mit lichtmikroskopischen Methoden sind diese Fragen wegen der Zartheit der Basalmembran nicht zu entscheiden; die bisherigen elektronenmikroskopischen Untersuchungen sind auf diese Probleme zum Teil nicht eingegangen, zum Teil konnten sie wegen technischer Schwierigkeiten noch nicht gelöst werden.

FARQUHAR, VERNIER und GOOD fanden elektronenmikroskopisch bei zwei Fällen von akuter Glomerulonephritis im Kindesalter eine Vermehrung und Schwellung der Endothel- und Deckzellen, wobei die Fußfortsätze der Deckzellen erhalten blieben. Außerdem beschrieben sie eine Verdickung der Basalmembran und eine Ansammlung von „Basalmembran-ähnlichem Material“ zwischen dem Endothelcytoplasma. Auch mit Rücksicht auf diese Befunde am Menschen schien es wünschenswert, Untersuchungen an einer reproduzierbaren experimentellen Nephritis vorzunehmen.

Methode

Die Versuche wurden an sechs 80–100 g schweren weiblichen Wistarratten eigener Zucht durchgeführt. Die Tiere erhielten 0,3 cm³ eines stark, bzw. 1–1,4 cm³ eines schwächer wirksamen Nephrotoxins vom Kaninchen in die Schwanzvene. Bei allen Tieren entwickelte sich am 2.–3. Versuchstag eine mittelschwere bis schwere Proteinurie (bis 15⁰/₁₀₀ Esbach). Am 4., 8., 10. und 14. Tag nach der Injektion wurden in leichter Äthernarkose kleinste Rindenstückchen aus einer Niere entnommen und in gepuffertem (p_H 7,2) isotonischem Osmiumtetroxyd 1–4 Std lang fixiert. Die Einbettung erfolgte in üblicher Weise in Plexiglas, die weitere Präparation und elektronenmikroskopische Untersuchung in der früher (MILLER und BOHLE) angegebenen Weise. Von jedem Versuchstier wurden mindestens vier verschiedene Glomerula elektronenmikroskopisch untersucht und insgesamt 330 Aufnahmen angefertigt. Formolfixierte Gefrier- und Paraffinschnitte des restlichen Nierenmaterials wurden nach verschiedenen Methoden (VAN GIESON, GOLDNER, PAS, PAS-Alcian Blau, WEIGERTS Fibrin, Sudan III, Perjodsäure-Silber nach JONES) gefärbt.

Ergebnisse

Lichtoptisch sind die Glomerula nach 4 Tagen gewöhnlich zellreich, Endothel und Deckzellen deutlich geschwollen. Die Capillarlumina erscheinen ausgesprochen eng und enthalten nur wenige Erythrocyten. Das Endothelcytoplasma ist an Paraffinschnitten zum Teil deutlich vacuolisiert und enthält an mit Sudan III gefärbten Gefrierschnitten bis 1,5 μ große, leuchtendrote Tropfen. Im ungefärbten Plexiglasschnitt sind diese Tropfen im Phasenkontrastmikroskop als dunkle Gebilde deutlich erkennbar. Außerdem liegen vereinzelt bedeutend kleinere Tropfen im Endothel bzw. im Deckzellencytoplasma. Diese Tropfen färben sich nach GOLDNER rot und mit WEIGERTS Fibrin blau. Einzelne große Vacuolen im Endothel sind nach dem Lumen hin von einer schmalen Cytoplasmasschicht begrenzt. Die Capillärwände sehen zu diesem Zeitpunkt an mit HE bzw. nach GOLDNER und

VAN GIESON gefärbten Schnitten verdickt aus. Nach Anwendung der PAS- bzw. Perjodsäure-Silber-Reaktion nach JONES erscheinen sie jedoch nicht sicher verdickt, dagegen beobachtet man an diesen Schnitten wiederholt Bilder, die MACCALLUM, JONES (1, 2), BOHLE und KRECKE u. a. als Ablösung des subendothelialen von dem subepithelialen Grundhäutchen bei der Glomerulonephritis des Menschen beschrieben haben.

Nach 8—10 Tagen fällt eine deutliche Vermehrung von Endothel- und Deckzellen auf. Die Capillarwände der Nierenkörperchen erscheinen auch jetzt noch, wenn auch nicht mehr so ausgeprägt wie nach 4 Tagen, an mit HE und nach VAN GIESON bzw. GOLDNER gefärbten Schnitten verdickt. Die Capillarlumina sind nicht mehr so hochgradig eingengt wie am 4. Versuchstag. Die Glomerula sind auch zu diesem Zeitpunkt noch relativ blutarm. Fetttropfen sind in Endothelien nicht mehr oder nur noch vereinzelt nachweisbar. Nach 14 Tagen besteht im wesentlichen der gleiche Befund wie nach 10 Tagen, außerdem sieht man mehrfach Schlingensynechien. Das parietale Blatt der Bowmanschen Kapsel ist unverändert.

Elektronenmikroskopisch sind nach 4 Tagen die Endothelzellen und die visceralen Deckzellen erheblich geschwollen, so daß die Capillarlumina und der intercapilläre Bowmansche Kapselraum beträchtlich eingengt erscheinen (Abb. 1). In den Capillarlichtungen liegen feinetzige Plasmabestandteile, während der Bowmansche Kapselraum meist leer erscheint. Die Schwellung des Endothelcytoplasmas betrifft vor allem die um den Kern gelegenen Abschnitte, doch sind auch die kernfernen Teile des hier normalerweise sehr dünnen Cytoplasmamantels beträchtlich verdickt. In der häufig spaltförmigen Capillarlichtung erscheinen die spärlichen Erythrocyten wie eingeklemmt. Am Endothelkern ist nichts Auffälliges zu beobachten; es besteht der Eindruck, daß zweikernige Endothelien häufiger als bei gesunden Tieren angetroffen werden. Das Cytoplasma enthält sehr reichlich kleine, rundliche oder spindelförmige Mitochondrien mit typischen dreischichtigen Außen- und Innenmembranen (Abb. 2). Sie finden sich auch außerhalb des Perikaryon. Bei geeigneter Schnittrichtung kann man die bekannten Endothelporen sehen, deren durchschnittliche Weite von $0,1\ \mu$ gegenüber Normaltieren (PEASE) nicht verändert erscheint. Im Perikaryon ist das Cytoplasma durch zahlreiche, optisch leer erscheinende, bis $0,4\ \mu$ große Vacuolen aufgelockert, die von einem osmiophilen, etwa $60\text{--}80\ \text{\AA}$ dicken Saum umgeben sind. Rundliche und langgestreckte Anschnitte des endoplasmatischen Reticulums sind reichlich vorhanden; zum Teil handelt es sich um die glattwandige Form von PALADE (1), zum Teil liegen den Membranen an der Außenseite die von PALADE (2) beschriebenen Partikel an, die auch frei im Cytoplasma vorkommen. Der größere Teil der Vacuolen entspricht umschriebenen Erweiterungen des endoplasmatischen Reticulums. Die mit Sudan III färbbaren Tropfen erscheinen als $1\text{--}1,5\ \mu$ große, stark osmiophile Gebilde mit leicht welliger Kontur und ohne begrenzende Membran (Abb. 2). Vereinzelt liegen in der Nähe der Basalmembran bedeutend kleinere, weniger osmiophile,

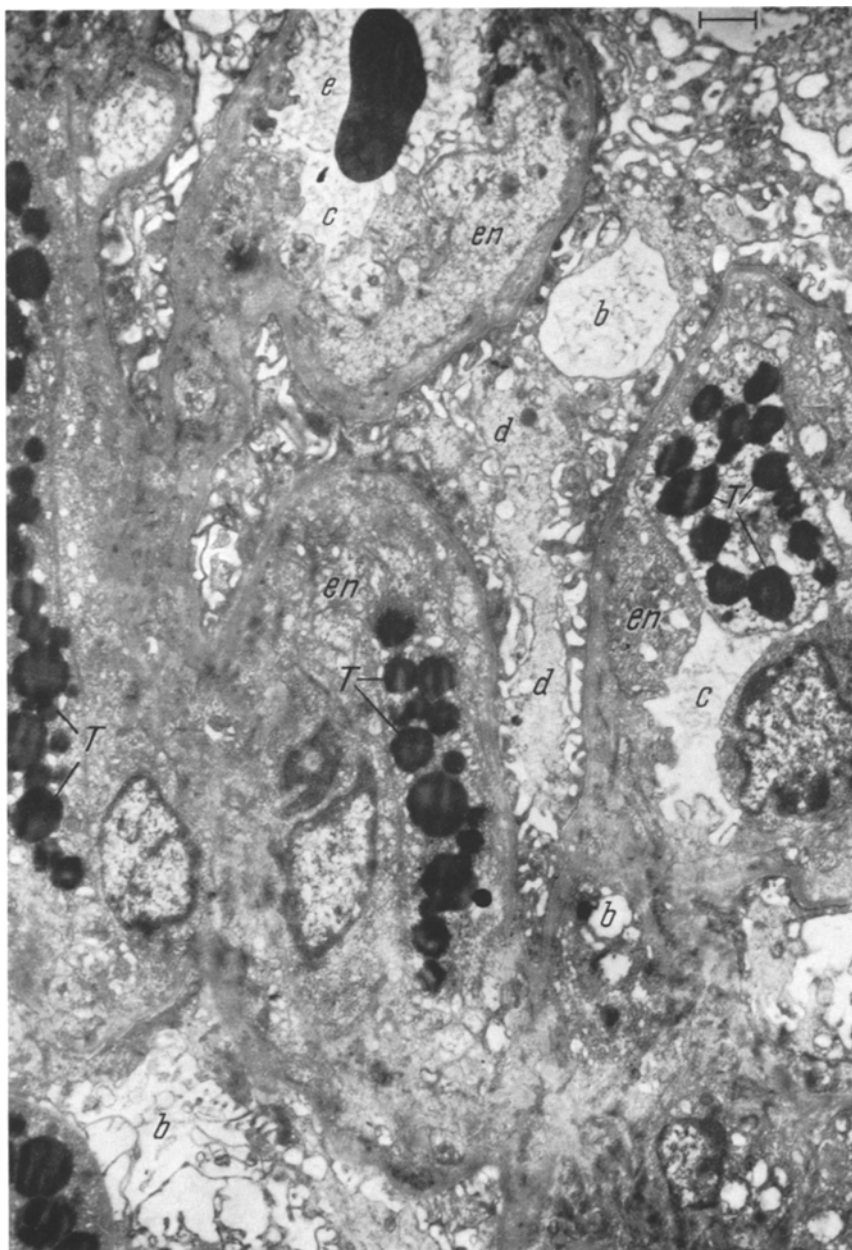


Abb. 1. Vierter Versuchstag. Übersicht. Mehrere Capillarschlingen mit geschwollenem Endothel (*en*), das reichlich große, osmiophile Tropfen (*T*) enthält. *c* Capillarlichtung; *e* Erythrocyt; *b* Bowmanscher Kapselraum; *d* Deckzellenfortsätze. 7200:1

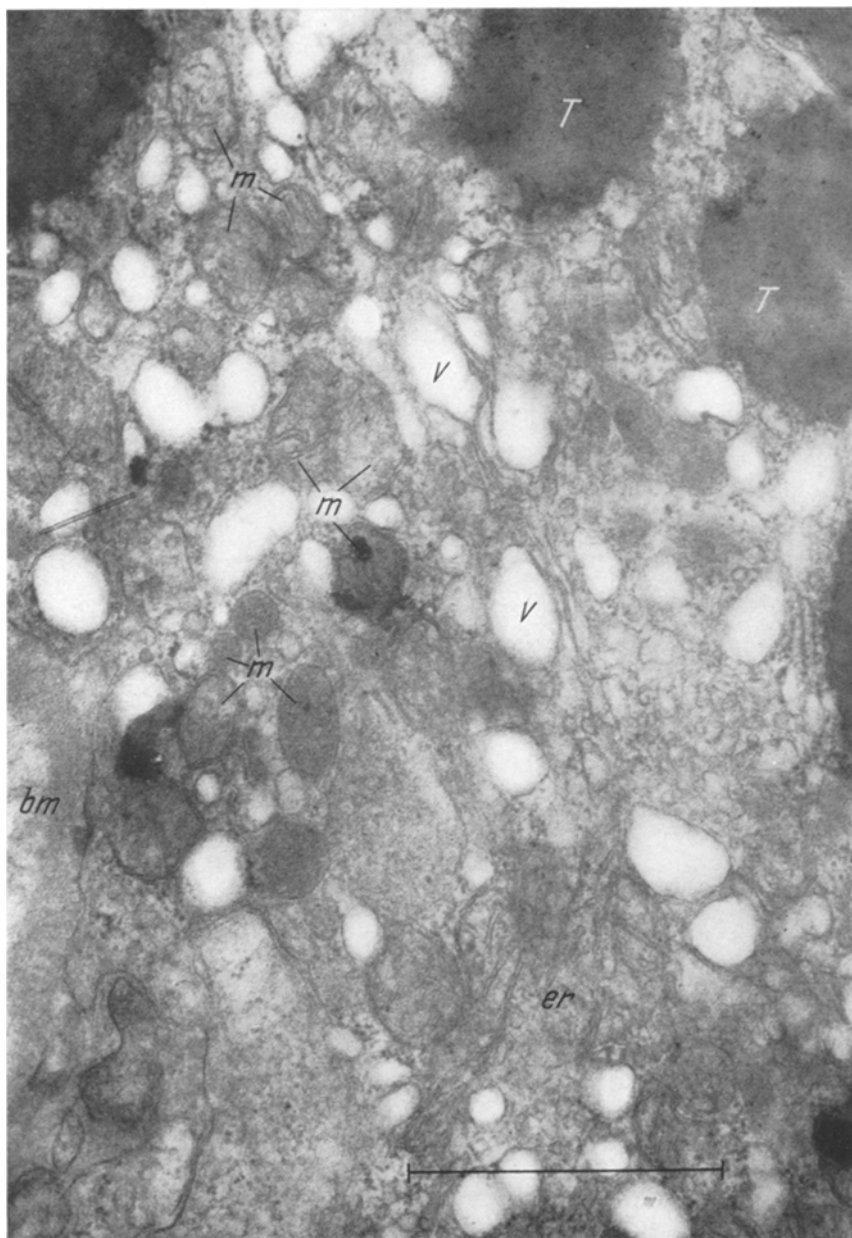


Abb. 2. Vierter Versuchstag. Ausschnitt aus einer Endothelzelle; *T* große osmiophile Tropfen; *m* Mitochondrien; *er* endoplasmatisches Reticulum. *V* Vacuolen; *bm* Basalmembran. 41500:1

0,1—0,5 μ große Tropfen, die den im Lichtmikroskop zu sehenden, mit der Goldnerfärbung rot dargestellten Gebilden zum Teil entsprechen dürften und die möglicherweise Proteintropfen darstellen. 4—8 Tage nach der Injektion zeigt das Endothelcytoplasma stellenweise blasenförmige, bis zu 2 μ große Auftreibungen gegen das Lumen zu, die von einer zarten osmiophilen Membran umschlossen sind; der Inhalt ist

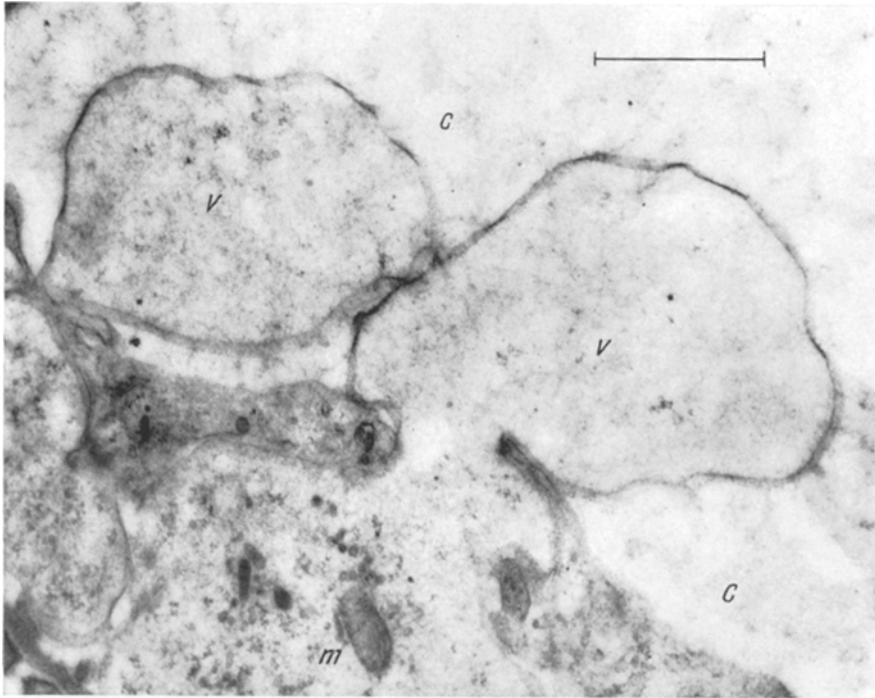


Abb. 3. Achter Versuchstag. Blasige Auftreibungen (v) des Endothels gegen die Capillarlichtung (c). m Mitochondrium. 22200:1

feinnetzig und etwas dichter als der des umgebenden Capillarlumens (Abb. 3). Bei querer Schnittrichtung scheinen diese Blasen frei in der Capillarlichtung zu liegen (Abb. 4). An einigen Stellen erscheint das Endothel von der Basalmembran in umschriebenen Bezirken abgelöst, zumindest klafft zwischen dem Endothelcytoplasma und der osmiophilen Mittelschicht der Basalmembran ein unregelmäßig breiter Spalt, der aber den gleichen Kontrast wie die osmiophobe Innenschicht zeigt (Abb. 5). Es ist unwahrscheinlich, daß ein Artefakt vorliegt, weil bei technisch gleich behandelten Schnitten von gesunden Glomerula derartige Veränderungen nicht gesehen wurden. Ob es sich um eine Quellung der osmiophoben Innenschicht oder um eine echte Abhebung des

Endothels von der Basalmembran handelt, ist nicht sicher zu entscheiden. An anderen Stellen mit Endothelabhebung erkennt man zwischen der osmiophilen Mittelschicht (Lamina densa) und dem Endothel ein meist feinkörniges Material, das sich durch geringere Osmiophilie von der Lamina densa einerseits und vom Endothelcytoplasma andererseits unterscheidet (Abb. 6). Hier scheint sich innerhalb der osmiophoben

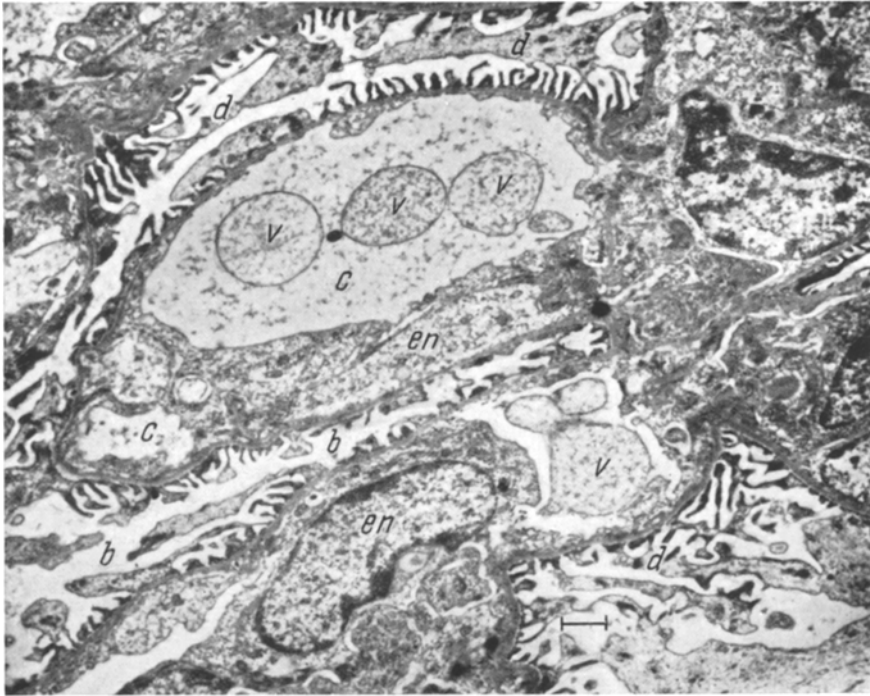


Abb. 4. Achter Versuchstag. Querschnitte von blasigen Auftreibungen (v) des Endothels im Capillarlumen (c). en Endothel; b Bowmanscher Kapselraum; d Deckzellenfortsätze. 5500:1

Innenschicht ein Material von Exsudatcharakter abgelagert zu haben. Dadurch kommt es zu einer Verbreiterung mit Kontraststeigerung der normalerweise osmiophoben Innenschicht und zu einer Abhebung des Endothels von der Lamina densa.

Die Basalmembran zeigt im übrigen in allen Versuchsstadien den bekannten dreischichtigen Bau mit einer inneren und äußeren osmiophoben und einer mittleren osmiophilen Schicht (Abb. 7). Abgesehen von den eben erwähnten Veränderungen beträgt die Breite der osmiophoben Innen- und Außenschicht 300 Å; dies entspricht den von PEASE erhobenen Werten. Die Gesamtdicke der Basalmembran liegt im Mittel bei 1370 Å und ist damit etwas höher als der von PEASE ermittelte Wert

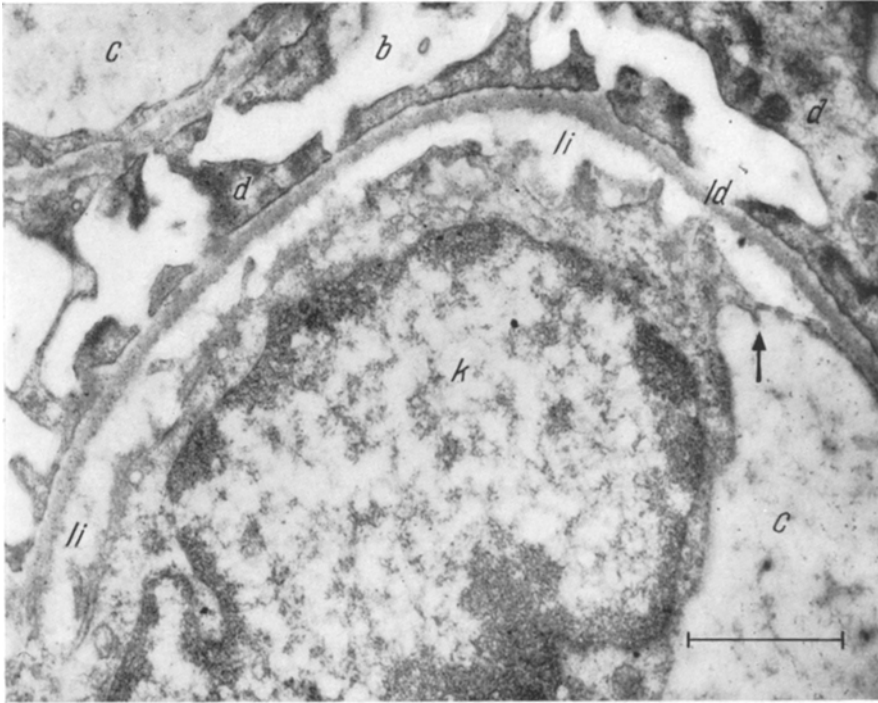


Abb. 5. Achter Versuchstag. Ablösung des Endothels mit örtlicher Verbreiterung oder Quellung der osmiphoben Innenschicht (*li*) der Basalmembran. *K* Kern einer Endothelzelle, deren Cytoplasma sich abrupt zu einem dünnen Saum verschmälert (Pfeil); *c* Capillarlichtung; *ld* osmiphile Mittelschicht der Basalmembran; *b* Bowmanscher Kapselraum; *d* Deckzellenfüßchen. 20 000:1

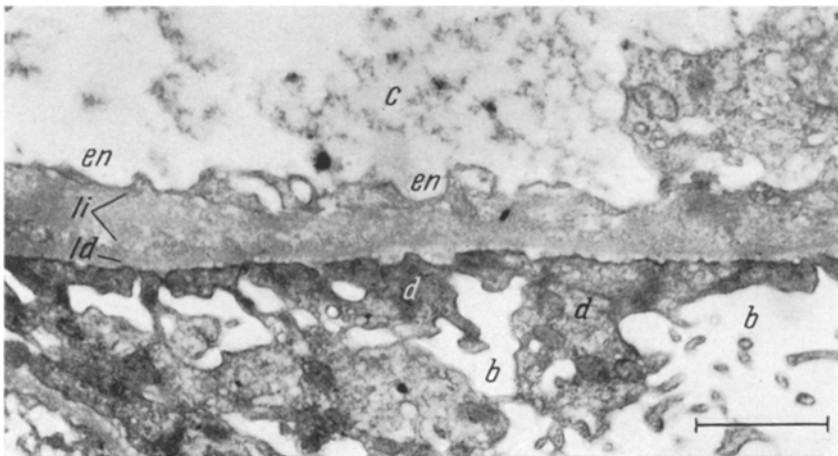


Abb. 6. Vierter Versuchstag. Ansammlung eines feinkörnigen Materials im Bereich der osmiphoben Innenschicht (*li*) der Basalmembran mit Abhebung des Endothels (*en*). *ld* osmiphile Mittelschicht; *c* Capillarlichtung; *b* Bowmanscher Kapselraum; *d* Deckzellenfüßchen. 17 000:1

um rund 1000 \AA . Die geringe Verdickung wird durch eine Verbreiterung der osmiophilen Mittelschicht (Lamina densa) auf $856 \text{ \AA} \pm 48$ hervorgerufen. Diese Dicke der osmiophilen Mittelschicht ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05% signifikant verschieden von einer Dicke von 675 \AA und mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,5% verschieden von einer Dicke von 720 \AA . Da die Dicke der osmiophilen Mittelschicht bei der gesunden Ratte nach PEASE aber nur 500 \AA , nach eigenen Messungen um 600 \AA beträgt, erscheint die Verbreiterung der

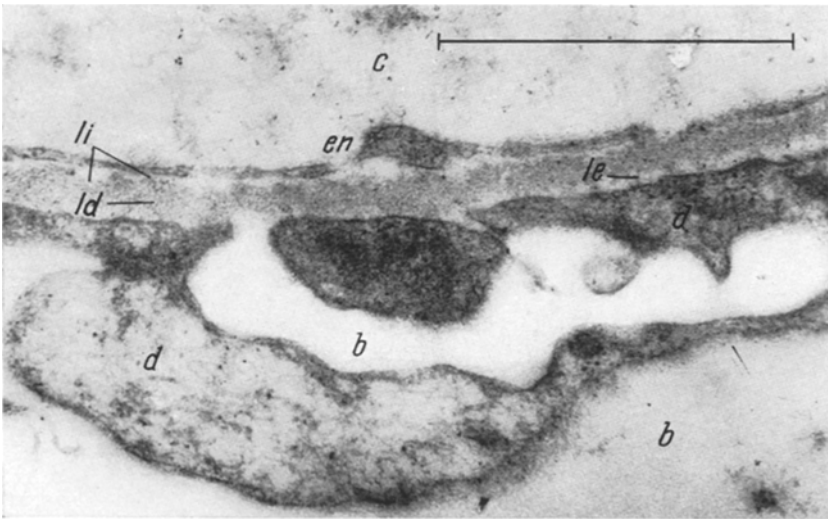


Abb. 7. Achter Versuchstag. Ausschnitt aus der Basalmembran. *c* Capillarlichtung; *en* Endothel; *li* innere osmiophobe Schicht; *ld* lamina densa oder osmiophile Mittelschicht; *le* äußere osmiophobe Schicht; *b* Bowmanscher Kapselraum; *d* Deckzellenfüßchen.
47 000:1

osmiophilen Mittelschicht bei den Masugi-Tieren statistisch hinreichend gesichert. Pilzförmige Auftreibungen der Lamina densa, wie sie bei der experimentellen Amyloidose der Maus beschrieben wurden (MILLER und BOHLE), waren nur ganz vereinzelt zu finden. Niemals wurde eine Aufsplitterung der Basalmembran beobachtet. (Auf die Bauverhältnisse im Bereich des sog. Mesangiums sei hier nicht eingegangen.)

An den visceralen Deckzellen betrifft die Schwellung hauptsächlich die um den Kern gelegenen Cytoplasmaabschnitte und die größeren, vielfach sehr stark verästelten Deckzellenfortsätze. Im Cytoplasma liegen zahlreiche Mitochondrien und Anschnitte des endoplasmatischen Reticulums mit glatter oder von Palade-Partikeln besetzter Oberfläche. Stellenweise sieht man relativ umfangreiche Golgi-Felder in Kernnähe. Die an der äußeren, nicht veränderten osmiophoben Schicht der Basalmembran ansetzenden und leicht eingesenkten Deckzellenfüßchen sind

stellenweise, aber nicht regelmäßig, geschwollen oder leicht verbreitert; sie sind stärker osmiophil als die kernnahen Cytoplasmaabschnitte. Ihre charakteristische umgekehrte T-Form ist erhalten, und ihre Abstände untereinander sind nicht grob verändert. Ein von PIEL u. Mitarb. beschriebenes Exsudat um die Deckzellenfüße konnte nicht beobachtet werden. Innerhalb der größeren Deckzellenfortsätze liegen

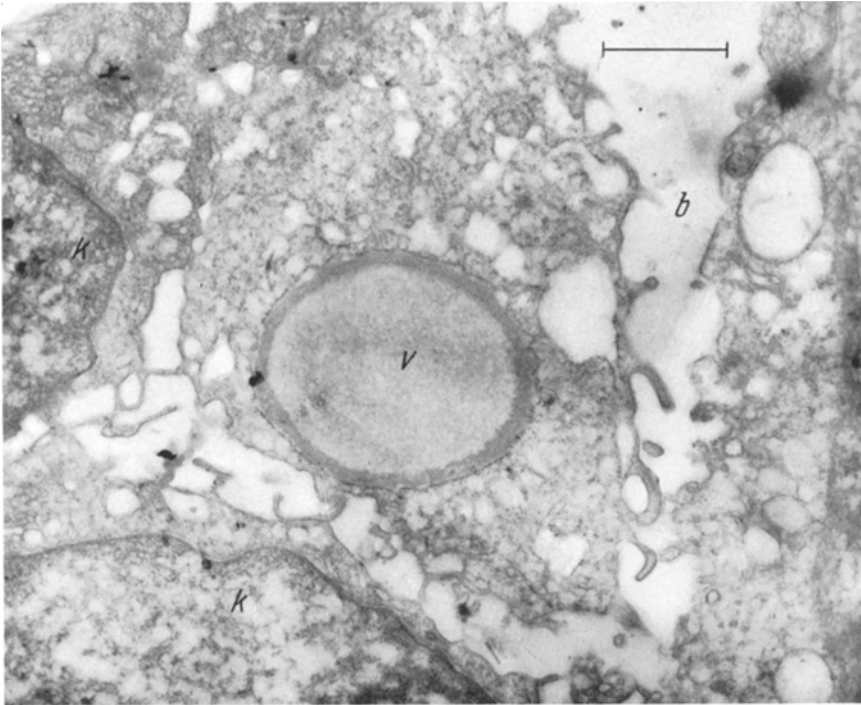


Abb. 8. Vierter Versuchstag. Vacuole (*v*) mit osmiophilem Randsaum im Cytoplasma einer Deckzelle. *k* Kerne von Deckzellen; *b* Bowmanscher Kapselraum. 16 000:1

mehrfach $1\text{--}2\ \mu$ große Vacuolen mit feinnetzigem Inhalt und einer etwa $0,1\ \mu$ breiten osmiophilen Randzone, die von einer dünnen Cytoplasmamembran umfaßt sind (Abb. 8); sie gehen vielleicht aus soliden osmiophilen Körpern gleicher Größe hervor, da man Zwischenformen mit herdförmigen vacuolären Aufhellungen sehen kann. Ähnliche Gebilde wurden von BARGMANN u. Mitarb. in den Deckzellen von *Xenopus laevis* gefunden.

Besprechung

In den ersten Tagen nach der Nephrotoxingabe schwillt das Endothelycytoplasma deutlich an, wodurch es zu einer Einengung des Capillar-

lumens kommt. Auch der intercapilläre Bowmansche Raum erscheint durch die Schwellung und starke Verästelung der Deckzellen eng. Gleiche Befunde wurden von FARQUHAR u. Mitarb. bei akuter Glomerulonephritis des Kindes erhoben. Im Cytoplasma der geschwollenen Endothelien treten zahlreiche Mitochondrien auf, und es kommt zu einer Entfaltung des endoplasmatischen Reticulums. Dieser morphologische Befund läßt mit aller gebotenen Vorsicht auf eine Steigerung der Zellatmung und der Proteinsynthese schließen. Welche Bedeutung die im Endothel vorkommenden, meist unter lichtmikroskopischer Sichtbarkeit bleibenden Tropfen haben, ist bisher nicht bekannt. Es ist auch nicht sicher, ob sie aus Eiweiß bestehen. Die im Lichtmikroskop nachweisbaren, Sudan-III-positiven Tropfen liegen, wie die elektronenmikroskopische Untersuchung zeigt, als homogene, stark osmiophile Gebilde mit leicht welliger Kontur wahllos im Cytoplasma der Endothelien. Ob es sich bei diesen Tropfen um demaskiertes, zelleigenes Fett handelt oder um aus dem Blutplasma aufgenommene Fettsubstanzen, ist nicht zu entscheiden; die zweite Möglichkeit wird aber durch den Nachweis einer Hyperlipämie bei nephrotoxischer Rattenephritis (ORTEGA und MELLORS) gestützt. Es ergab sich kein Hinweis für die Annahme von OBERLING und ROULLER, daß Lipoidtropfen durch eine fettige Degeneration der Mitochondrien entstehen könnten.

Aus den Untersuchungen geht weiter hervor, daß sich die Struktur der Basalmembran der Glomerulumcapillaren auch bei krankhaften Veränderungen als sehr beständig erweist. Die Basalmembran der Glomerulumcapillaren der bisher untersuchten Tiere und des Menschen ist mit einer Gesamtdicke von $0,1\text{--}0,12\ \mu$ im Lichtmikroskop als isolierte Struktur nicht sichtbar. Was bisher lichtmikroskopisch als Basalmembran beschrieben wurde, umfaßt in gesunden Nierenkörperchen, wie schon von HALL betont, Teile des streckenweise $0,03\text{--}0,05\ \mu$ dicken Endothelcytoplasmas und die an der Basalmembran ansetzenden Abschnitte der Deckzellenfortsätze. Die wiederholt beschriebene Aufsplitterung der Basalmembran [ZOLLINGER (2), EHRLICH, FORMAN und SEIFER] konnte im Elektronenmikroskop nicht nachgewiesen werden. Bei den phasenoptischen Befunden von ZOLLINGER (2) dürfte eine Aufsplitterung durch Phaseneffekte an Grenzflächen des geschwollenen Endothels oder der dickeren Deckzellenfortsätze vorgetäuscht werden. Außerdem ergab sich, daß den von MACCALLUM, JONES, BOHLE und KRECKE u. a. lichtoptisch beobachteten Ablösungen des subendothelialen Grundhäutchens von der subepithelialen Basalmembran lediglich eine Ablösung des Endothelcytoplasmas von der subepithelialen Basalmembran zugrunde liegt. Ein eigenes subendotheliales Grundhäutchen konnte in den Glomerulumcapillaren bisher elektronenmikroskopisch nicht nachgewiesen werden.

Die Ablösung des Endothels von der Basalmembran wird vermutlich durch eine Art Entleimung im Bereich der osmiophoben Innenschicht hervorgerufen. Diese Veränderung könnte als Folge der nach ORTEGA und MELLORS an der Basalmembran der Glomerulumcapillaren ablaufenden Antigen-Antikörper-Reaktion auftreten. Dabei lagert sich zwischen Endothelcytoplasma und osmiophiler Mittelschicht (Lamina densa) ein feinkörniges Material ab, bei dem es sich wahrscheinlich um plasmatische Bestandteile handelt. ORTEGA und MELLORS vermuteten, daß sich bei akuter nephrotoxischer Nephritis der Ratte Ödemflüssigkeit in den Capillarwänden, und zwar in dem von JONES postulierten potentiellen Bindegewebsraum zwischen epithelialer und endothelialer Basalmembran ansammle. Die Annahme von JONES (1) ist nach den bisherigen elektronenmikroskopischen Arbeiten über die Struktur des Glomerulums nicht aufrechtzuerhalten. Nach unseren Untersuchungen muß angenommen werden, daß sich Plasmabestandteile im Bereich der osmiophoben Innenschicht ablagern. Diese Schicht erscheint dann stärker osmiophil und verbreitert. Das Endothel wird also durch Ansammlung eines „Exsudates“ im Bereich der normalerweise osmiophoben Innenschicht der Basalmembran oder durch Quellung (Entleimung) dieser Schicht von der osmiophilen Mittelschicht (Lamina densa) abgehoben. Anscheinend stimmen die elektronenmikroskopischen Befunde von REID mit dieser Auffassung überein, obwohl auf Grund seiner Abbildungen sichere Aussagen nicht möglich sind.

Die osmiophile Mittelschicht reagiert bei der Masugi-Nephritis in ähnlicher, aber nicht so eindrucksvoller Weise wie bei der experimentellen Amyloidose der Maus (MILLER und BOHLE) mit einer statistisch gesicherten Verdickung. Man hat außerdem den Eindruck, daß hierbei eine gewisse Auflockerung des feinen Faserfilzes der Lamina densa auftritt. Die Auflösung und nutzbare Direktvergrößerung des in Innsbruck aufgestellten Elektronenmikroskopes (Siemens ÜM 29) läßt jedoch eine genauere Analyse nicht zu. Auch an Schnitten, die mit Phosphor-Wolfram-Säure kontrastiert waren, konnten keine weitergehenden Beobachtungen gemacht werden. Poren wurden innerhalb der Lamina densa nicht gesehen. Die Verdickung der osmiophilen Mittelschicht nach vermehrtem Eiweißdurchtritt bei der Masugi-Nephritis unterstreicht die früher geäußerte Vermutung (MILLER und BOHLE), daß diese Schicht das eigentliche Ultrafilter des Glomerulums darstellt. Über die funktionelle Bedeutung der inneren und äußeren osmiophoben Schichten läßt sich auf Grund dieser Versuche keine eindeutige Aussage machen. Die Konstanz ihrer Breite bei der experimentellen Nierenamyloidose der Maus (MILLER und BOHLE) sowie die Veränderungen im Bereich der inneren osmiophoben Schicht an den Stellen mit Ablösung des Endothelcytoplasmas im Laufe der Glomerulonephritis sprechen für die

Annahme von PEASE, daß diesen Schichten eine Art Kitt- oder Zementfunktion zukommt, und daß es sich nicht um Spalträume (POLICARD u. Mitarb.) oder Artefakte (HALL) handelt.

Die von FARQUHAR u. Mitarb. bei der akuten Glomerulonephritis des Menschen beschriebene Ablagerung von Basalmembran-ähnlichem Material, das sich in unregelmäßigen Zügen zwischen den Endothelzellen ansammeln soll, konnte bei unseren kurzfristigen Versuchen nicht beobachtet werden.

Ob die Antigen-Antikörper-Reaktion, wie von ORTEGA und MELLORS angenommen, direkt an der Basalmembran abläuft oder primär im Endothelcytoplasma, wie aus den Experimenten von STREHLER und von BAXTER und GOODMAN entnommen werden könnte, ist bis jetzt noch nicht zu entscheiden. Da elektronenmikroskopisch keine Aussage über den chemischen Aufbau der drei Schichten der Basalmembran möglich ist, kann auch der vermutliche Sitz des Antigens, das nach HILL u. Mitarb. ein Polysaccharid ist, nicht erkannt werden. Es sei jedoch in diesem Zusammenhang erwähnt, daß Kohlenhydrate und ihre Polymere das Osmiumtetroxyd nicht reduzieren (BAHR); nach den elektronenmikroskopischen Kontrastverhältnissen ist es deshalb nicht ausgeschlossen, daß die innere osmiophobe Schicht Stoffe von Antigencharakter enthält. Weitere kurzfristige Experimente zur Klärung der Frage nach der vermutlichen Lokalisation der Antigen-Antikörper-Reaktion sind in Vorbereitung.

Zusammenfassung

Mit nephrotoxischem Serum vom Kaninchen wurde bei 6 Ratten eine Masugi-Nephritis erzeugt, die zu einer schweren Proteinurie führte. Die Glomerula wurden vom 4.—14. Versuchstag licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Das Endothel ist in den ersten Versuchstagen beträchtlich geschwollen und zeigt eine Vermehrung der Mitochondrien und des endoplasmatischen Reticulums. Neben kleinen und größeren, auch gegen das Capillarlumen zu vorspringenden Vacuolen treten Fett- und vermutlich auch Eiweißtropfen im Endothelcytoplasma auf. Die osmiophile Mittelschicht der Basalmembran ist geringgradig verdickt. Die Basalmembran der Glomerulumcapillaren ist nicht aufgesplittet. Die osmiophobe Innenschicht ist stellenweise durch Einlagerung von osmiophilem Material verbreitert. Die Porenweite des Endothels und die Abstände der Deckzellenfüßchen sind nicht auffällig verändert. Die Deckzellen sind geschwollen und stark verästelt. Im Cytoplasma liegen osmiophile Körper und Vacuolen. Über den Ort der Antigen-Antikörper-Reaktion sind keine sicheren Aussagen möglich.

Literatur

- BAHR, G. F.: Osmium tetroxide and ruthenium tetroxide and their reactions with biologically important substances. *Electron stains III. Exper. Cell Res.* **7**, 457—479 (1954). — BARGMANN, W., A. KNOOP u. TH. H. SCHIEBLER: Histologische, cytochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nephron (mit Berücksichtigung der Mitochondrien). *Z. Zellforsch.* **42**, 386—422 (1955). — BAXTER, J. H., and H. C. GOODMAN: Nephrotoxic serum nephritis in rats. *J. of exper. Med.* **104**, 467—485 (1956). — BOHLE, A., u. G. HIERONYMI: Über die Wirkung von Desoxycorticosteronacetat auf die Niere und das Gefäßsystem der Ratte bei Bestehen einer Masugi-Nephritis. *Frankf. Z. Path.* **64**, 261—284 (1953). — BOHLE, A., u. H. J. KRECKE: Zur Frage der Basalmembranen der Glomerulumschlingen in der Niere des Menschen. *Virchows Arch.* **327**, 663—696 (1955). — EHRRICH, W. E., C. W. FORMAN and J. SEIFER: Diffuse glomerular nephritis and lipid nephrosis. Correlation of clinical, morphological and experimental observations. *Arch. of Path.* **54**, 463—503 (1952). — EHRRICH, W. E., and C. F. PIEL: Morphologic differentiation of nephritis in the rat and the therapeutic effects of anticoagulants and proteolytic enzymes. *Proc. V. Ann. Conf. Nephrotic Syndrome*, New York; The National Nephrosis Foundation, Inc. 1954, p. 117—134. — FARQUHAR, M. G., R. L. VERNIER and R. A. GOOD: The application of electron microscopy in pathology: Study of renal biopsy tissues. *Schweiz. med. Wschr.* **1957**, 501—510. — HALL, V. B.: Further studies on the normal structure of the renal glomerulus. *Proc. VI. Ann. Conf. Nephrotic Syndrome*, New York: The National Nephrosis Foundation, Inc. 1955, p. 1—39. — HIERONYMI, G., A. BOHLE u. F. HARTMANN: Morphologische und elektrophoretische Untersuchungen bei der Masugi-Nephritis an Ratten. *Arch. Kreislaufforsch.* **18**, 34—49 (1952). — HILL, A. G. S., B. CRUCKSHANK and A. CROSSLAND: A study of antigenic components of kidney tissue. *Brit. J. Exper. Path.* **34**, 27—34 (1953). — JONES, D. B.: (1) Inflammation and repair of the glomerulus. *Amer. J. Path.* **27**, 991—1009 (1951). — (2) Glomerulonephritis. *Amer. J. Path.* **29**, 33—51 (1953). — KRAKOWER, C. A., and S. A. GREENSPON: Localization of the nephrotoxic antigen within the isolated renal glomerulus. *Arch. of Path.* **51**, 629—639 (1951). — MACCALLUM, W. G.: Glomerular changes in nephritis. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **55**, 416—432 (1934). — MASUGI, M.: Über das Wesen der spezifischen Veränderungen der Niere und der Leber durch das Nephrotoxin bzw. das Hepatotoxin. *Beitr. path. Anat.* **91**, 82—112 (1933). — MILLER, F., u. A. BOHLE: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Basalmembran der Glomerulumschlingen der Maus bei experimentellem Nierenamyloid. *Klin. Wschr.* **1956**, 1204—1210. — OBERLING, CH., et CH. ROULLER: Les effets de l'intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone sur le foie du rat. *Étude au microscope électronique. Ann. d'Anat. path.* **1**, 401—427 (1956). — ORTEGA, L. G., and R. C. MELLORS: Analytical pathology. IV. The role of localized antibodies in the pathogenesis of nephrotoxic nephritis in the rat. *J. of Exper. Med.* **104**, 151—170 (1956). — PALADE, G. E.: (1) The endoplasmic reticulum. *J. Biophys. a. Biochem. Cytology* **2**, Suppl., 85—98 (1956). — (2) A small particulate component of the cytoplasm. *J. Biophys. a. Biochem. Cytology* **1**, 59—68 (1955). — PEASE, D. C.: Electron microscopy of the vascular bed of the kidney cortex. *Anat. Rec.* **121**, 701—722 (1955). — PREIFFER, E. F., K. SCHÖFFLING, W. SANDRITTER, J. SCHRÖDER, H. STEIGERWALD u. L. WOLF: Studien zur „Übertragung“ der Masugi-Nephritis der Ratte. *Z. exper. Med.* **124**, 471—480 (1954). — PIEL, C. F., L. DONG, F. W. S. MODERN, J. R. GOODMAN and R. MOORE: The glomerulus in experimental renal disease in rats as observed by light and electron microscopy. *J. of Exper. Med.* **102**, 573—580 (1955). — POLICARD, A., A. COLLET et L. GILTAIRE-RALYTE: Recherches au microscope

électronique sur la structure du glomérule rénal des mammifères. *Arch. d'Anat. microsc.* **44**, 1—19 (1955). — PRESSMAN, D., and G. KEIGHLEY: The zone of activity of antibodies as determined by the use of radioactive tracers; the zone of activity of nephrotoxic antikidney serum. *J. of Immunol.* **59**, 141—146 (1948). — RANDERATH, E.: (1) Nephrose-Nephritis. *Klin. Wschr.* **1941**, 281—284, 305—308. — (2) *Nierenkrankheiten* (E. BECHER), Bd. II. Jena: Gustav Fischer 1947. — REID, R. T. W.: Electron microscopy of glomeruli in nephrotoxic serum nephritis. *Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci.* **34**, 143—150 (1956). — STREHLER, E.: Glomerulonephritis und Endocarditis bei Kaninchen nach Injektion von Immunserum gegen Aorta. *Schweiz. med. Wschr.* **1951**, 104—105. — WAGENHÄUSER, F.: Über die Besonderheiten der Masugi-Nephritis bei der Ratte. *Schweiz. Z. Path. u. Bakter.* **17**, 669—682 (1954). — ZOLLINGER, H. U.: (1) Die diffuse, chronische Glomerulonephritis mit Vorherrschen des nephrotischen Einschlages (intrakapilläre Form). *Schweiz. med. Wschr.* **1950**, 300—303. — (2) Untersuchungen an Nierenpunktaten: Phasenmikroskopie am Dünnschnitt. *Schweiz. Z. Path. u. Bakter.* **20**, 42—46 (1957).

Prof. Dr. F. MILLER, Pathologisches Institut der Universität Innsbruck,
Müllerstr. 44.