

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Experimentelle Nierenschädigung durch Cellulosederivate im elektronenmikroskopischen Bild*

Von
G. NOVELLO und W. WESSEL

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. August 1962)

In den letzten Jahren wurden der Abbau und Umbau makromolekularer Substanzen wie Methylcellulose, Polyvinylverbindungen, Pektine und Dextran in tierischen Zellen sowie der Einfluß dieser Substanzen auf verschiedene tierische Organe und Gewebe oft mit lichtmikroskopischen Methoden untersucht. Wir wollten diesen Vorgängen nunmehr im elektronenmikroskopischen Bereich nachgehen und wählten zu diesem Zweck die Methylcellulose bzw. ein Methylcellulose-Carboxymethylcellulose-Gemisch (CM), dessen Schicksal im tierischen Organismus schon JUNG und BRIZIARELLI lichtmikroskopisch verfolgt haben. Wir hatten so den Vorteil, an bereits bekannte morphologische Befunde anknüpfen zu können.

Bei peroraler Zufuhr wird Methylcellulose nicht resorbiert. Nach intravenöser Injektion speichert das RES die Substanz und verursacht eine Leukopenie mit anschließender Leukocytose (HUEPER). Die intraperitoneale Applikation führt zu einer Reizung des Peritoneums mit zelliger Reaktion.

Da CM mit einem Mol.-Gewicht um 90000, also etwas oberhalb der Nierschwelle liegt, war zu erwarten, daß eine geringe Permeabilitäts erhöhung bzw. -störung durch den Übertritt von CM in den Kapselraum angezeigt wird. Da außerdem HALL und HALL kürzlich eine Glomerulonephritis durch parenterale Verabreichung von Methylcellulose erzeugen konnten, stand die Niere im Mittelpunkt der folgenden Untersuchungen.

Material und Methode

Nach der von JUNG und BRIZIARELLI angegebenen Versuchsanordnung verwendeten wir eine 2,5%ige Lösung mit einem Molekulargewicht von etwa 90000 (Produkt der Firma Kalle & Co.). Als Versuchstiere benutzten wir 48 weiße männliche Inzuchtmäuse, die in zwei Gruppen von je 24 Tieren eingeteilt wurden. Die erste Gruppe erhielt ein intraperitoneales „Depot“ von 125 mg, die zweite an 10 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 12,5 mg CM intraperitoneal.

Das Depot wurde einzeitig oder, da es von den Mäusen mitunter schlecht vertragen wurde, mit zwei Injektionen verabfolgt. Die Tiere beider Gruppen töteten wir nach 1, 5, 10, 20, 30, 40 und 60 Tagen und entnahmen Nierengewebe aus dem Rindenbereich. Die Nierenstückchen fixierten wir unmittelbar nach der Entnahme in einem Puffergemisch, welches Osmiumsäure und Kaliumbichromat jeweils in einer Konzentration von 1% enthielt. Während der Entwässerung kontrastierten wir in typischer Weise mit einer 1%igen Uranylacetat-Lösung

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

nach. Die elektronenmikroskopische Dünnschnitte wurden mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom angefertigt und in einem Siemens-Elmiskop I untersucht.

Gleichzeitig wurden Stückchen der Niere in Formol fixiert und für die histologische Kontrolluntersuchung in Paraffin eingebettet. Die daran durchgeführte Kongorot-Färbung ergab, daß die Glomerula und stellenweise auch die Tubuli reichlich CM enthielten, das sich mit Kongorot gut darstellen ließ. Um sicher zu sein, daß bei der Einbettung in Methacrylat bzw. in Vestopal die Cellulosederivate nicht herausgelöst worden waren, fertigten wir von Methacrylatblöcken etwa $1\text{ }\mu$ dicke Schnitte an, die ebenfalls mit Kongorot gefärbt wurden und bei lichtmikroskopischer Betrachtung, ebenso wie die Paraffinschnitte, große Mengen CM enthielten.

Vorversuche ergaben, daß beim Eintropfen einer hoch verdünnten CM-Lösung in gepufferte 1%ige Uranylacetatlösung eine Ausfällung eines Uranylsalzes erfolgt. Die Beobachtung könnte darauf hindeuten, daß sich eine unlösliche Verbindung zwischen CM und Uranylacetat bildet. Die vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchung aufgetropfter und angetrockneter CM mit CM, welcher Uranylacetat zugesetzt worden war, ließ eine Kontrasterhöhung der CM erkennen. Um der Frage der Uranylacetatbindung durch CM weiter nachzugehen, führten wir konduktometrische Messungen durch. Dabei zeigte der Verlauf der Leitfähigkeitskurve bei tropfenweiser Zugabe von hochverdünnter Uranylacetatlösung zu 0,5%iger CM eine deutliche Bindung von Uranylacetat mit CM an. Die Bindung ist geringer als etwa die von Uranylacetat und DNS. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich, wenn an Stelle des Uranylacetates Phosphorwolframsäure verwendet wurde. Als vierte Möglichkeit, eine Bindung des Uranylacetats an CM und damit eine elektronenoptische Darstellung derselben aufzuzeigen, bot der Vergleich lichtmikroskopisch untersuchter dicker kongorotgefärberter Methacrylat- bzw. Vestopschnitte mit dünnen, elektronenmikroskopisch untersuchten Parallelenschnitten. Dabei stellte sich heraus, daß die *in vivo* in Glomerulumcapillaren angestaute und lichtmikroskopisch mit Kongorot färbbare CM bei elektronenmikroskopischer Darstellung in Form 35 \AA großer, körniger sowie 200 \AA langer, fädiger Elemente erscheinen, wie sie später in Abb. 2 b sichtbar sind. Demgegenüber lassen die Plasmaproteide in den Capillaren eine feinere Verteilung und einen geringeren elektronenoptischen Kontrast erkennen.

Ergebnisse

Die lichtmikroskopisch sichtbaren Veränderungen der Niere nach Gaben von CM wurden bereits mehrfach beschrieben (JUNG u. BRIZIARELLI u.a.). Auf diese Befunde soll deshalb nur soweit eingegangen werden, als sie für die Deutung der elektronenmikroskopischen Bilder von Wichtigkeit sind oder über die bisher bekannten Befunde hinausgehen.

Bei den Tieren der beiden Versuchsgruppen tritt 1—2 Tage nach den Injektionen eine Blutstauung in den Schlingen mit Hyperplasie der Epithelzellen auf. Gleichzeitig erweitern sich die Lumina der Capillarschlingen; man erkennt im histologischen Schnitt verwaschene Einlagerungen von CM. Die Tubuli contorti I. Ordnung weisen eine trübe Schwelling auf.

Die mittleren Stadien (10—25 Tage nach Aufsättigung mit CM) lassen eine Dilatation und dichte Füllung der Glomerulumschlingen mit CM erkennen. Die Basalmembranen der Schlingen und Bowmanschen Kapsel erscheinen verdickt, in den Kapselräumen und den Lichtungen der Tubuli treten mäßige Ansammelungen von CM auf. Dabei bemerkt man eine starke Vermehrung der Epithel- und Endothelzellen.

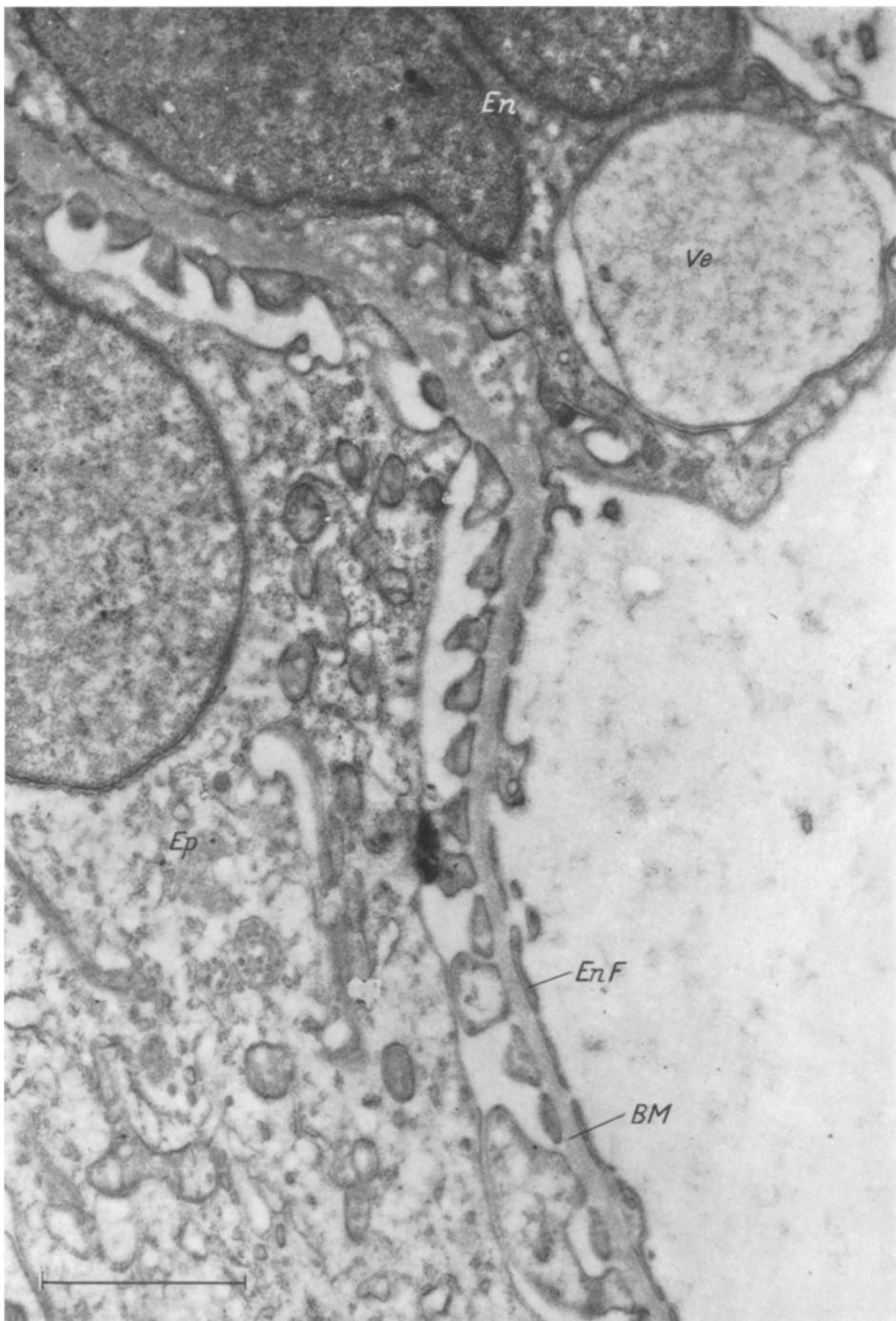


Abb. 1. Glomerulum 5 Tage nach 125 mg Methylcellulose i.p. Endothelzellen (*En*) geschwollen. Fortsätze dieser Zellen (*EnF*) dünn ausgezogen. Verzahnung der Endothelzellen (*Ve*) miteinander. Epithelzellen (*Ep*) und Basalmembran (*BM*) der Capillarschlingen zeigen einen normalen Aufbau. Vergr. 28000fach

Im späten Stadium, 40 Tage nach Aufsättigung, findet man CM in Epithelzellen und sehr selten auch im Interstitium. Nach 60 Tagen hat sich die Zellvermehrung der Glomerula größtenteils zurückgebildet. Die Befunde stimmen qualitativ bei beiden Versuchsgruppen im wesentlichen überein, wobei allerdings quantitative Unterschiede, etwa eine stärkere Reaktion der Glomerula bei der Gruppe I, bemerkt werden.

Elektronenoptisch findet man *5 Tage* nach Anlegung eines intraperitonealen Depots von 125 mg CM in den Endothelzellen eine Schwellung und Vacuolisierung. Gleichzeitig erscheinen die endothelialen Fortsätze, die der Basalmembran dicht anliegen, flacher (Abb. 1), wie ausgezogen. Infolge der Schwellung dringen plumpe Fortsätze der Endothelzellen in tiefe Buchten der Nachbarzellen vor (Abb. 1) und bilden mit diesen „Verzahnungen“. Die Capillarlumina sind erweitert, enthalten jedoch kaum CM. Die Basalmembran ist in diesem Stadium regelrecht gebaut, die Epithelzellen erscheinen nicht wesentlich verändert.

Nach *10 Tagen* hat die Schwellung der Endothelzellen weiter zugenommen. Ihr Cytoplasma weist große Vacuolen auf, die frei von der injizierten Substanz sind, obwohl die Capillarlumina sie stellenweise reichlich enthalten (Abb. 2a). Bei der Vacuolenbildung kann es sich also wohl nicht um einen einfachen Phagozytose-Vorgang handeln. An einigen Stellen haben sich die Endothelzellen von der Basalmembran abgelöst, die Zahl ihrer Ribosomen hat meist abgenommen.

Die geschwollenen Endothelzellen engen das Capillarlumen mitunter ein. Die zentral verlaufende dichte Zone der Basalmembran erscheint verbreitert und etwas aufgelockert. Die Epithelzellen haben an Zahl zugenommen und sind wesentlich an dem vermehrten Zellreichtum der Glomerula beteiligt. Ihr Cytoplasma zeigt eine geringe Schwellung, wobei die Fußfortsätze ihre schmale Form verloren haben und plumper wirken (Abb. 2a).

Die Abb. 2b zeigt die intracapilläre CM-Ansammlung in starker Vergrößerung. Sie besteht teils aus etwa 35 Å großen granulären, teils aus 200 Å langen, fadenförmigen Elementen von relativ hoher elektronenoptischer Dichte. Die ebenfalls dort vorhandenen Proteide des Blutplasmas sind schwächer kontrastiert und meist feiner verteilt.

Nach *15 Tagen* bestehen im wesentlichen die gleichen Veränderungen wie nach 10 Tagen, nur daß die Dilatation der Capillarschlingen und ihre Anfüllung mit CM weiter zugenommen hat. Die Cytoplasmavacuolen der Endothelzellen enthalten vielfach CM. Zahl und Schwellung der Epithelzellen haben stellenweise erheblich zugenommen, so daß die Bowmanschen Kapseln fast ganz ausgefüllt sind. Hin und wieder sieht man jetzt auch im Kapselraum der Glomerula CM.

25 Tage nach i.p. Injektion von 125 mg CM erreicht die Füllung der Capillarschlingen mit der injizierten Substanz ihren Höhepunkt. Die Capillaren sind oft erheblich erweitert und die Endo- und Epithelzellen so stark geschwollen, daß die Bowmanschen Kapseln prall ausgefüllt erscheinen (Abb. 2c).

Dabei stoßen die Epithelzellen der in dem Capillarknäuel peripher liegenden Schlingen unmittelbar an die Deckzellen der Bowmanschen Kapsel an, so daß hier die besten Voraussetzungen für Synechien gegeben sind. Tatsächlich treten auch manchmal in späteren Stadien, nach Retraktion der Schlingen von der Bowmanschen Kapsel, derartige Verklebungen auf. — Durch das enge Nebeneinander von dichtgedrängten Zellstrukturen wirken die Bilder etwas unüber-

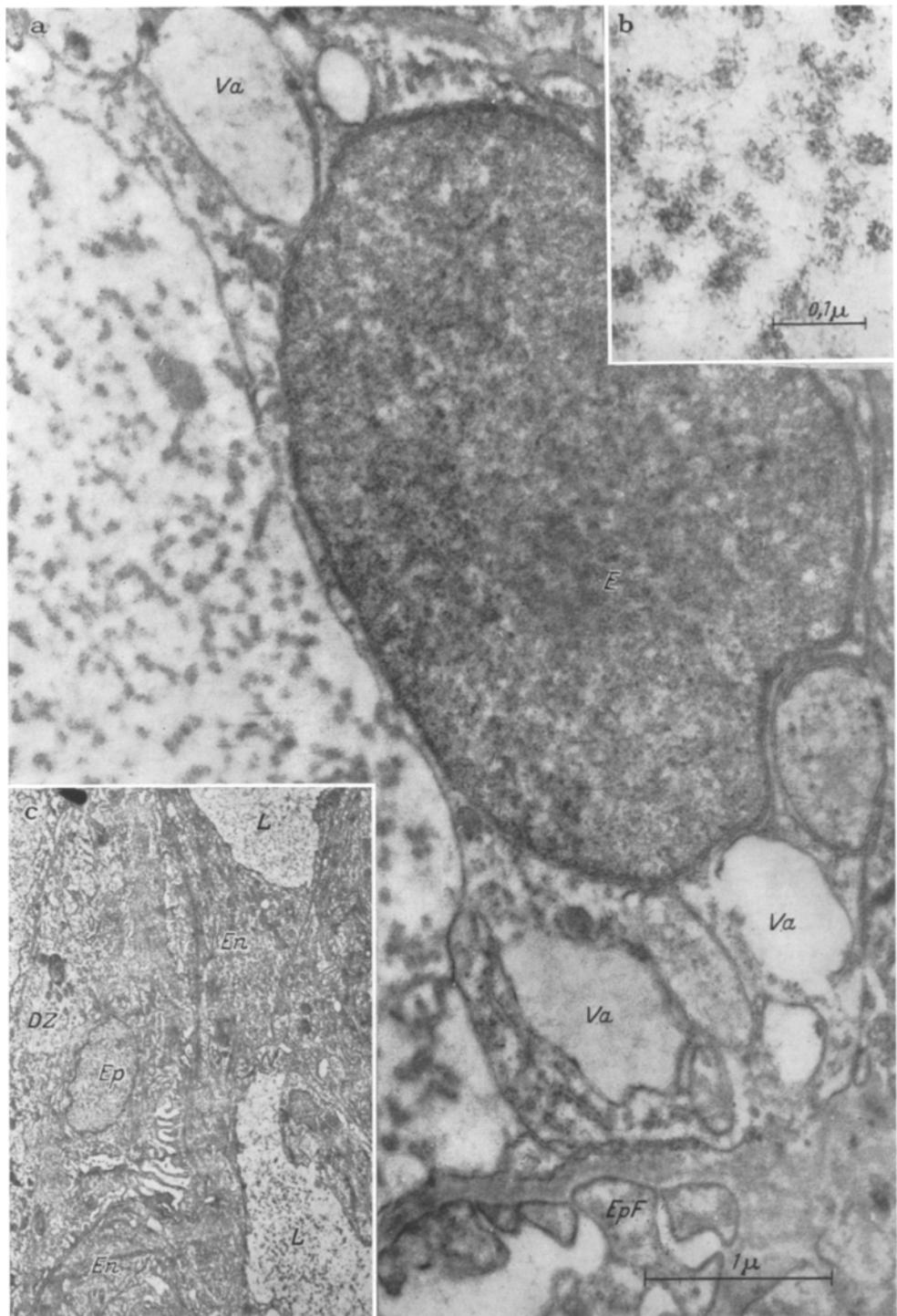


Abb. 2. a Glomerulum 10 Tage nach 125 mg CM i.p. Im Capillärlumen neben schwach osmiophilen Serumproteiden die stärker kontrastierte CM. Die Endothelzellen weisen zahlreiche Vacuolen (*Va*) auf, die keine CM enthalten. Basalmembran (*BM*) stellenweise aufgelockert, Fußfortsätze der Epithelzellen (*EpF*) verbreitert. Vergr. 30000fach (auf $\frac{1}{10}$ verkleinert). b Starke Vergrößerung der intra-

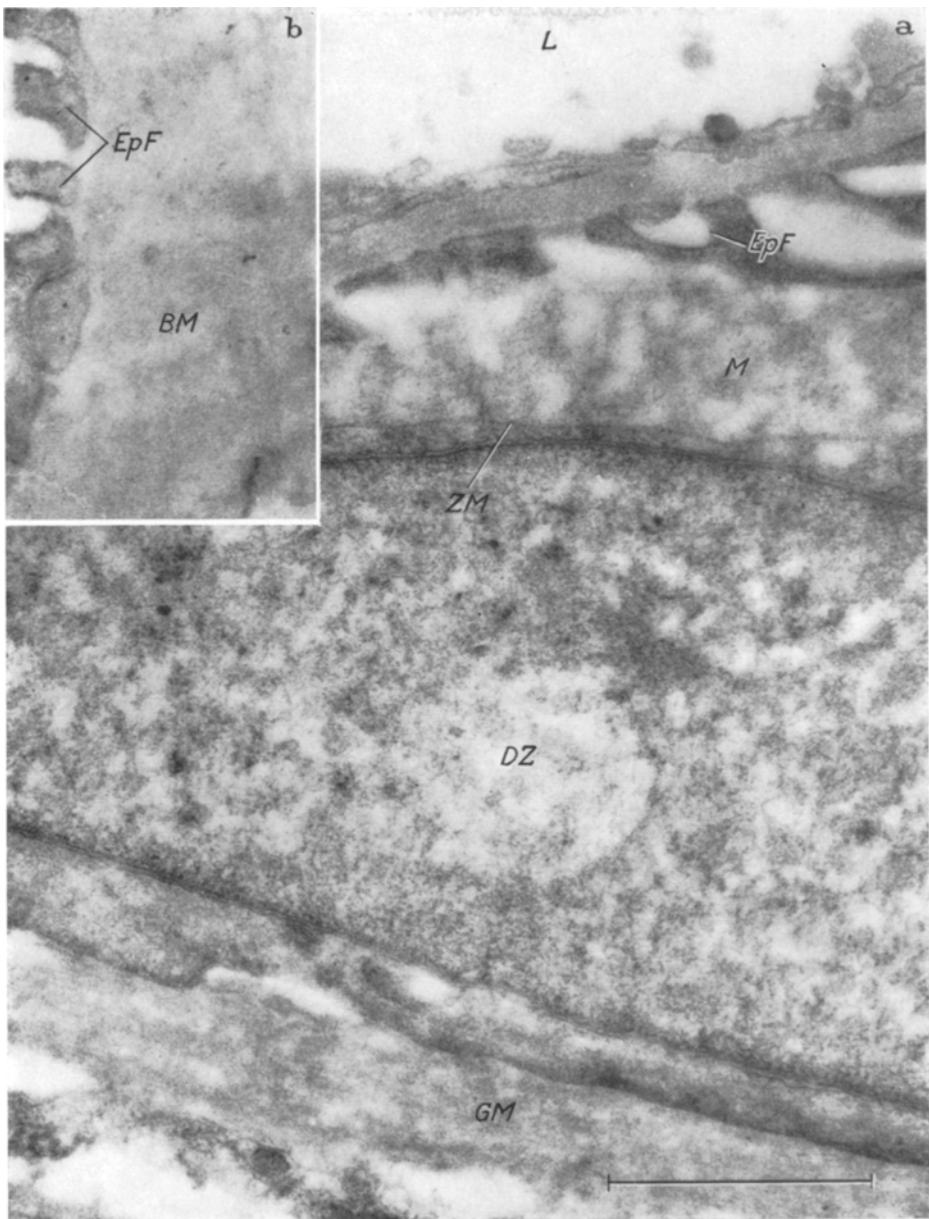


Abb. 3. a Glomerulumausschnitt 25 Tage post inj. von 125 g CM. Starke Erweiterung der Capillarschlingen (L) in Kontakt mit den Deckzellen (DZ). Fußfortsätze der Epithelzellen (EpF) stellenweise lang ausgezogen. Zwischen Deckzellen und Epithelzellen ein wolkiges, wahrscheinlich von untergegangenen Zellen stammendes Material (M). Zellmembran der Deckzelle (ZM). Die Basalmembran der Bowmanschen Kapsel zeigt, im Gegensatz zu der homogeneren Basalmembran (BM) der Capillaren, eine unregelmäßige, fibrilläre Struktur. Vergr. 35000fach. b Flachschnitt durch die Basalmembran (BM) einer Glomerulumcapillare, 25 Tage nach i.p. Injektion von CM. Die BM besitzt hier eine teils netzige, teils feinkörnige Struktur. Epithelzellen-Fußfortsätze (EpF). Vergr. 72000fach

capillären CM-Ablagerungen, die aus zahlreichen Zusammenlagerungen von 35 Å großen körnigen und etwa 200 Å langen fädigen Strukturen. Vergr. 150000fach (auf $\frac{1}{10}$ verkleinert). c Übersichtsvergrößerung eines Teiles eines Glomerulum 25 Tage nach i.p. Injektion von CM. Die Capillarlumina (L) und geschwollenen Epi- (Ep) und Endothelzellen (En) füllen den ganzen Glomerulus aus und liegen den Deckzellen (DZ) der Bowmanschen Kapsel eng an. Die Capillaren enthalten reichlich CM. Vergr. 6000fach (auf $\frac{1}{10}$ verkleinert)

sichtlich (Abb. 2c), besonders bei Übersichtsaufnahmen. In diesem Stadium haben sich die Endothelzellen manchmal von den Basalmembranen abgelöst. Andererseits findet man auch Capillarschlingen, deren Lumen fast vollständig von geschwollenen Endothelzellen verlegt wird, ähnlich wie bei der Shwartzman-Reaktion (PAPPAS u. Mitarb.). Die Basalmembran lässt auf Flachschnitten einen aufgelockerten, fast granulären Bau erkennen (Abb. 3 b). Bei stärkerer Ver-

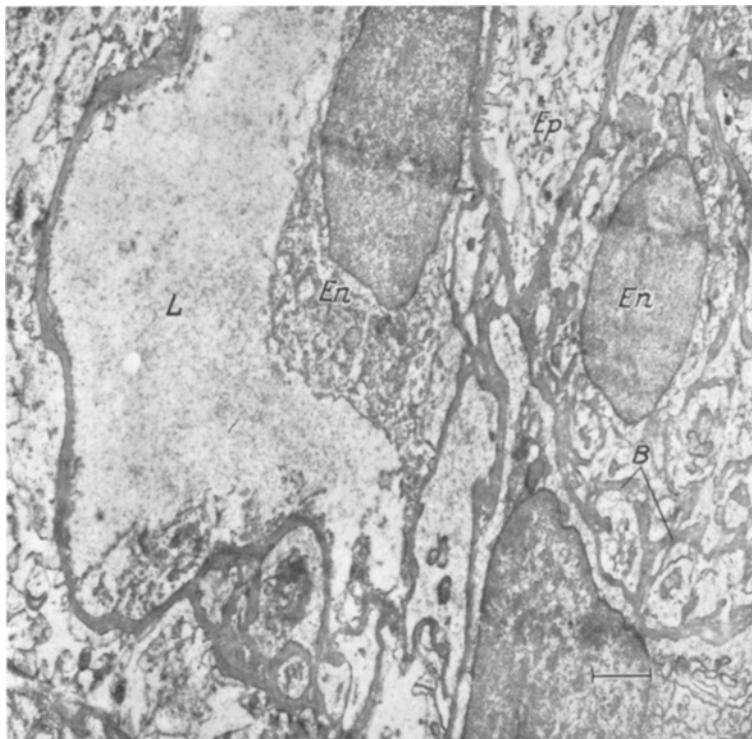


Abb. 4. Teil eines Glomerulum 40 Tage nach CM-Injektion, Ausscheidung eines unregelmäßigen basal-membranartigen Materials um einzelne Endothelzellen (En) etwa nach Art einer membranösen Glomerulonephritis (SRIRO). Capillarlumen (L). Vergr. 7000fach

größerung findet man, daß die Fußfortsätze der Epithelzellen den Basalmembranen der Capillarschlingen teilweise flach anliegen (Abb. 3a). Zwischen den flachen Deckzellen der Bowmanschen Kapsel und der in Abb. 3a angeschnittenen Capillarschlinge sieht man ein wolkiges osmiophiles Material, bei dem es sich nach den lichtmikroskopischen Kontrollen teilweise um CM in feiner Verteilung handelt. Sehr wahrscheinlich enthält dieses Material aber auch Anteile untergegangener Zellen oder durch die Basalmembran der Schlingen in den Kapselraum übergetretene Proteine. Ferner wird in Abb. 3a deutlich, daß die Basalmembran der Bowmanschen Kapsel, im Gegensatz zu der homogenen Basalmembran der Capillarschlingen, eine fibrilläre Struktur besitzt. Andere Glomerula lassen in diesem Stadium einen teilweisen Verlust der Fußfortsätze der Epithelzellen erkennen.

Die Glomerulumveränderungen 40 Tage nach der i.p. Injektion sind, ähnlich wie nach 25 Tagen, gekennzeichnet durch eine vollständige Ausfüllung der

Bowmanschen Kapsel mit erweiterten Capillarschlingen und gewucherten Epithelzellen, obwohl die Füllung der Capillaren mit CM bereits nachgelassen hat. Die Epithelzellen weisen oft eine erhebliche Schwellung auf, und man sieht hin und wieder Ansammlungen von CM im Kapselraum. Die Basalmembranen der Capillar-

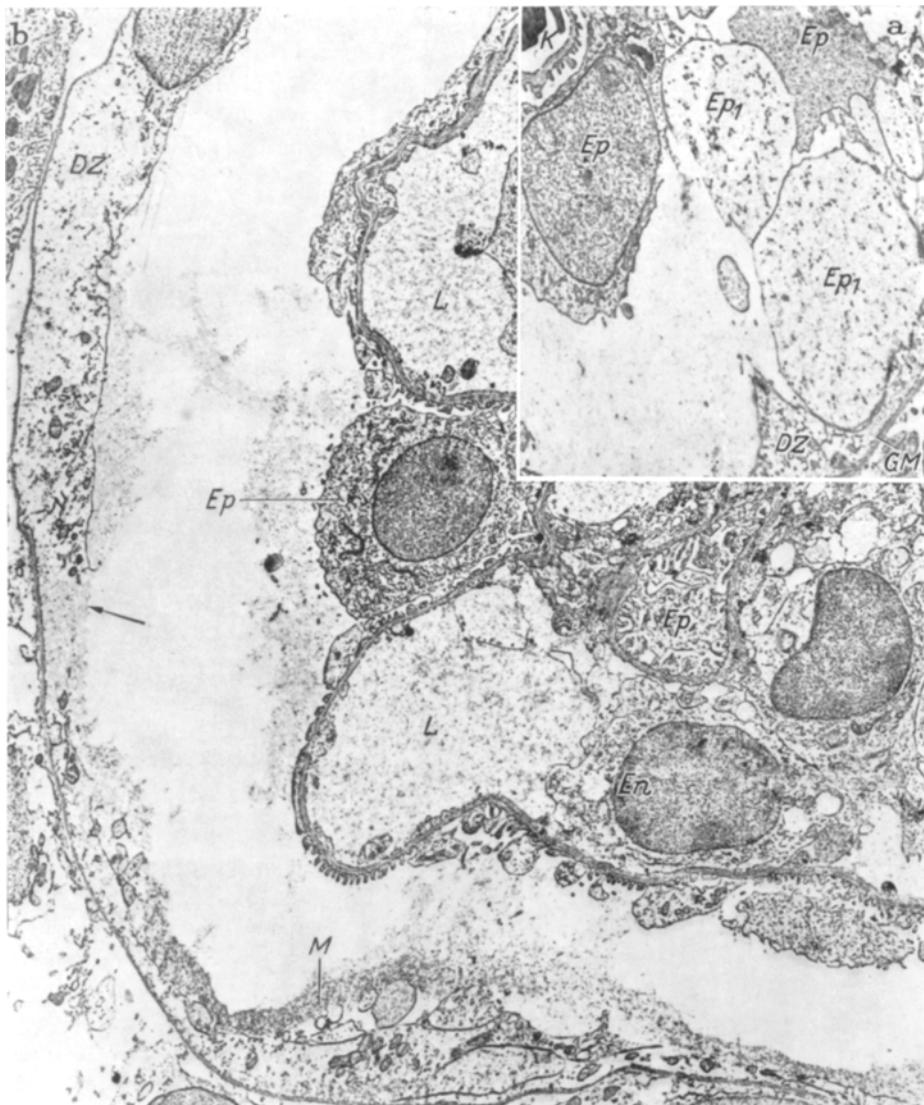


Abb. 5. a Glomerulumanteile 60 Tage nach i.p. Inj. Regenerationsphase: Das Capillarkonvolut hat sich verkleinert und von der Glomerulumwand retrahiert. Die gewucherten Epithelzellen haben sich teilweise abgelöst und liegen mit stark geschwollenem Cytoplasma frei im Kapselraum (*Ep I*). Daneben sieht man intakte Epithelzellen (*Ep*). Basalmembran (*BM*) der Bowmanschen Kapsel. Vergr. 6000fach (auf $\frac{1}{10}$ verkleinert). b Übersicht eines Glomerulum 10 Tage nach täglicher i.p. Injektion von je 12,5 mg CM. Endothelzellen (*En*) geschwollen und vacuolisiert. Im Kapsellumen ein osmophilches Material, welches zum Teil aus CM besteht (*M*), Epithelzellen (*Ep*). Hydropische Schwellung der Deckzellen (*DZ*). An einer Stelle ist die Zellmembran zerstört (\rightarrow). Capillarlumina (*L*). Vergr. 5000fach (auf $\frac{1}{10}$ verkleinert)

schlingen erscheinen verbreitert und aufgelockert mit manchmal angedeuteter fibrillärer Struktur. Einzelne Glomerula lassen Ausscheidungen einer osmiophilen Substanz erkennen, die membranartig angeordnet ist und gewucherte Endo- und Epithelien ganz oder teilweise einschließt (Abb. 4). Dabei erinnert das Bild stark an eine membranöse Glomerulonephritis, wie sie von SPIRO sowie MOVAT und McGREGOR beschrieben worden ist. Das abgeschiedene osmiophile Material und besonders die von diesem eingeschlossenen Zellen unterscheiden sich deutlich von den membranähnlichen Strukturen, wie sie an den Glomerulumpolen vorkommen.

Etwa 60 Tage nach Injektion von 125 mg CM beginnt die Regeneration der Glomerula. Dabei retrahieren sich die Capillarschlingen von der Bowmanschen Kapsel, und einige der gewucherten und oft stark geschwollenen Epithelzellen lösen sich von den Basalmembranen ab und liegen dann frei im Kapselraum (Abb. 5a).

Bei täglicher Injektion von 12,5 mg bis zu einer Gesamtdosis von 125 mg CM ergeben sich ähnliche Befunde wie bei einmaliger i.p. Injektion von 125 mg. Die Abb. 5 b zeigt ein Glomerulum nach zehn Injektionen von jeweils 12,5 mg CM. Hier fällt ebenfalls wieder die Vacuolisierung der Endothelzellen auf. Die Dilatation der Schlingen ist jedoch geringer als bei ein- oder zweizeitiger hoher Dosierung. Im Kapselraum hat sich ein elektronenoptisch deutlich erkennbares Material angesammelt, bei dem es sich zum Teil um CM handelt. Die Deckzellen der Bowmanschen Kapsel zeigen eine degenerative Schwellung und stellenweise eine Auflösung der Zellmembran.

Die Tubuli werden von der Schädigung durch CM weniger betroffen als die Glomerula.

In den mittleren und späteren Stadien sind die Räume der β -Cytomembranen ausgeweitet, und die Epithelzellen der Hauptstücke lassen eine Vacuolisierung erkennen, wobei die Vacuolen mitunter CM enthalten.

In den Tubuli contorti II. Ordnung sieht man manchmal einen Detritus, in welchem noch schattenhaft Anteile abgelöster nekrotischer Zellen erkennbar sind.

Diskussion

Das CM-Gemisch erwies sich für die vorliegenden Untersuchungen an den Glomerula als besonders geeignet, da es sich elektronenmikroskopisch durch Nachkontrastierung mit Uranylacetat darstellen und sowohl in den Capillaren als auch später im Kapselraum nachweisen lässt.

Abgesehen von der elektronenoptischen Darstellbarkeit liegt ein weiterer Vorteil der CM in ihrer Molekülgröße: Die hier verwendeten Cellulosederivate zeichnen sich durch ein Molekulargewicht aus, welches um 90000 liegt. Da von ungeschädigten Glomerula nur Moleküle bis zu einem Molekulargewicht von etwa 70000—80000 durchgelassen werden, erfolgt so lange keine Ausscheidung, wie die Permeabilität der Glomerulum-Schranke nicht durch schädigende Einflüsse erhöht ist. Der Durchtritt von CM-Molekülen, deren Molekulargewicht etwas über dem Schwellenwert liegt, würde also schon geringe Permeabilitätsstörungen anzeigen. Es ist bekannt, daß im Organismus keine Aufspaltung der CM-Kette und damit eine Verkleinerung der Molekülgröße auf unter 80000 (Mol.-Gew.) vor sich geht, die die Substanz damit gewissermaßen „harnfähig“ machen würde.

Es muß somit angenommen werden, daß es sich bei den mit Kongorot färbbaren Ablagerungen im Kapselraum der Glomerula um nichtdepolymerisierte CM handelt, die nur infolge einer Permeabilitätsstörung bzw. -steigerung in den Kapselraum gelangen konnte. Betrachtet man die beim Ablauf der Versuche gewonnenen Ergebnisse, so fällt auf, daß nach intraperitonealer Injektion von CM zunächst eine starke Vacuolisierung der Endothelzellen erfolgt. Dabei enthalten die Vacuolen noch keine, die Capillarumina nur geringe Mengen der injizierten Substanz; Zeichen einer Permeabilitätsstörung fehlen. Es schließt sich ein Zeitabschnitt an, in welchem die Schlingen wie bei einer Capillarlähmung sehr stark dilatiert, mit CM angefüllt sind und nahezu den ganzen Kapselraum ausfüllen. Die Basalmembran reagiert mit einer vorübergehenden Auflockerung und Verbreiterung. Trotz dieser Veränderungen sieht man auch jetzt noch keinen Durchtritt von CM in den Kapselraum. Erst wenn die Epithelzellen morphologisch Schädigungen, wie Abplattung oder gar Fehlen der Fußfortsätze, Schwellung, Verringerung der Paladegranula und stellenweise auch Vacuolisierung erkennen lassen, setzt eine Permeabilitätsstörung mit Übertritt von CM in die Bowmansche Kapsel ein. In diesem Stadium erscheint die sonst homogene Mittelschicht der Basalmembran oft stark aufgelockert.

Das zeitliche Zusammenfallen von Permeabilitätsstörung und Veränderungen an den Epithelzellen läßt hier einen Zusammenhang vermuten. Die Frage, welcher dieser beiden Faktoren jedoch als Ursache und welcher als Folge des anderen angesehen werden muß, kann man nach dem elektronenmikroskopischen Bild nicht beantworten.

Im weiteren Verlauf der Versuche setzt dann eine reaktive Vermehrung der Epithelzellen ein, die vereinzelt CM enthalten. Durch diese Zellvermehrung und die starke Erweiterung der Glomerulumschlingen wird der ganze Kapselraum prall ausgefüllt, so daß die abgeplatteten Epithelzellen einerseits der Basalmembran der Capillaren, andererseits den die Bowmansche Kapsel auskleidenden Zellen flach anliegen. Damit sind für die Ausbildung von Synechien gute Bedingungen gegeben. Allerdings genügt nach unseren Untersuchungen ein kurzdauernder enger Kontakt zwischen Schlingen und Kapselzellen allein nicht zur Entwicklung von Kapselverklebungen. Der Kontakt muß offenbar längere Zeit, mindestens 1—2 Wochen bestehenbleiben und bedarf wohl noch eines „Adhaesivum“ in Form von Protein- bzw. Fibrinausschwitzungen, um zur Verklebung zu führen.

Im späten Stadium ist besonders die starke Schwellung der Endothelzellen und die stellenweise Verödung von Glomerulumschlingen zu erwähnen, die mit einer Neubildung unregelmäßiger membranartiger Strukturen einhergeht (Abb. 4). Diese Strukturen schließen Zellen ein, bei denen es sich teils um Epithelzellen, teils auch um Endothelzellen handelt. Dabei ist allerdings zu beachten, daß im Bereich der Gefäßpole der Glomeruli auch normalerweise ein dichtes, basalmembranartiges Material um zahlreiche cytoplasmaarme Zellen auftritt (BOHLE). Dieses Material könnte mit den unter unseren pathologischen Bedingungen auftretenden Proteid- oder Hyalinabscheidungen leicht verwechselt werden. Es zeigt jedoch im allgemeinen eine Schichtung wie die normale Basalmembran und liegt in unmittelbarer Nachbarschaft der sog. „epitheloiden Zellen“, die sich durch dichtgelagerte osmiophile Granula auszeichnen (BOHLE). Diese

Kriterien sind zu beachten, wenn man nicht irrtümlich osmiophiles basalmembranartiges Material des Gefäßpoles für den Ausdruck einer „membranösen Glomerulonephritis“ halten will. Im Stadium der Regeneration, nach etwa 60 Tagen, lösen sich die gewucherten und geschwollenen Epithelien oft ab und liegen frei im Kapselraum. Von hier aus werden sie wohl als zelliger Detritus durch die Tubuli ausgeschieden.

Versucht man nun, die hier beobachteten, mit den bisher in der Literatur beschriebenen Veränderungen der Glomerula zu vergleichen und sie einzuordnen, so fällt eine gewisse Ähnlichkeit mit der membranösen Glomerulonephritis (SPIRO) auf.

In beiden Fällen findet man elektronenoptisch dichte membranartige Strukturen, die sich von normalen Basalmembranen in einigen Punkten unterscheiden: einmal dadurch, daß sie sehr viel zahlreicher sind als Basalmembranen, 2. durch die starken Schwankungen ihrer Dicke und Dichte sowie 3. durch eine Lückenbildung und eine sehr deutliche fädige oder körnige Struktur. Schließlich fehlt diesen membranartigen Gebilden außer der Homogenität auch die typische Dreischichtung. Da diese Gebilde erst nach länger dauernder Permeabilitätsstörung auftreten, liegt der Gedanke nahe, daß es sich hier um Ausscheidungen von Proteiden und Lipoiden aus dem Blutplasma handelt. Außer diesen Membranstrukturen sind auch die starke Proliferation und Schwellung der Endothelien, die manchmal die Capillarlumina zu verschließen scheinen, beiden Krankheitsbildern gemeinsam. Zum Unterschied von SPIRO konnten wir aber die Neubildung von kollagenen Fasern im Glomerulum nicht beobachten. Dies mag seinen Grund darin haben, daß es sich bei den von SPIRO beschriebenen Krankheitsbildern um chronische Prozesse handelt, die über Monate, sogar Jahre gehen, so daß sich Kollagenstrukturen entwickeln könnten. Nach ROUILLER sollen die Endothel- und Epithelzellen auf die unterschiedlichsten Schädigungen, wie z. B. bei Diabetes mellitus (COSSEL u. Mitarb.) und Nephritis (FOLLI und ONIDA, THÖLEN) im allgemeinen einheitlich mit Schwellung und Vacuolisierung reagieren. Die Basalmembran besitzt geringe Variationsmöglichkeiten gegenüber den die Nierenerkrankungen begleitenden Ablagerungen (Fibrin, Amyloid und Hyalin). In unserem Fall liegen die Ablagerungen teils um Epithelzellen, teils um Endothelzellen. Dabei ist allerdings die Entscheidung einer intra- oder extracapillären Ablagerung nicht immer eindeutig fällbar, da es sich um unregelmäßige, verzweigte Membranstrukturen in durch Schlingen-Synechien und zum Teil auch Kapillarverschlüsse veränderten Glomerula handelt.

Von besonderem Interesse sind hier noch die von JAMES und ASHWORTH angestellten Versuche mit Dextran, bei welchem es sich, ähnlich wie im vorliegenden Fall bei der CM, um eine hochmolekulare Substanz handelt. Ihr durchschnittliches Molekulargewicht liegt um 75 000, also etwa im Bereich der Nierenschwelle. Daher wird das Dextran schneller als CM ausgeschieden. Vielleicht ist damit zu erklären, daß nach Dextran, im Gegensatz zu CM, lediglich eine Schwellung der Epithelzellen bei stärkeren Veränderungen des Interstitiums und der Tubuli contorti I beobachtet wird. Ähnlich reagieren die Nieren auf parenterale Albumingaben (MILLER und SITTE; SITTE, ASHWORTH und JAMES).

Auf eine starke Glomerulum-Schädigung durch CM wiesen in letzter Zeit HALL und HALL hin, welche nach subcutanen Gaben dieser Substanz bei Ratten eine schwere, meist tödliche, Glomerulonephritis lichtmikroskopisch feststellten.

Zusammenfassung

Nach parenteralen Gaben der hochmolekularen, wenig löslichen und nicht-spaltbaren Methylcellulose an zwei Gruppen von Mäusen belädt sich zunächst das reticuloendotheliale System mit der Substanz, während der im Blut verbleibende Anteil in die capilläre Strombahn von Lunge und Niere gelangt. Wegen ihrer Molekülgröße wird die Substanz zunächst nicht durch die Niere ausgeschieden. Nach wenigen Tagen kommt es aber zu einer Vacuolisierung des Endothels der Glomerulumcapillaren, zunächst noch ohne eine Erhöhung der Membran Durchlässigkeit. Nach wenigen Tagen hat aber die Basalmembran bei gleichzeitiger degenerativer Schwellung der Epithelien den Stoff in den Kapselraum durchtreten lassen. Ein Teil davon wird pinocytär in das Cytoplasma der Epithelzellen aufgenommen. Durch die Permeabilitätssteigerung wird ein großer Teil der Substanz aus dem Organismus eliminiert. Dann lösen sich mehrere der stark geschwollenen Epithelzellen ab und gelangen als zelliger Detritus in die Tubuli.

Electron Microscopy of Experimental Renal Injury Produced by a Cellulose Derivative

Summary

Each mouse of two groups was injected intraperitoneally with 125 mg of colloidal methyl cellulose (mol. wt. 90,000). Some of the methyl cellulose was taken up by the reticuloendothelial system; that remaining in the blood was found within the pulmonary and renal capillaries. Because of its molecular size the methyl cellulose initially was not eliminated by the kidneys. Although the endothelial cells of the glomeruli became vacuolated after a few days, there was no increase in the permeability of the glomerular membrane. A few days later, however, with degenerative swelling of the epithelial cells, the methyl cellulose passed through the basement membrane and was evident in Bowman's space. Some of the methyl cellulose was taken up in the cytoplasm of the epithelial cells by pinocytosis. With increased permeability most of the methyl cellulose was eliminated from the animal. Many of the greatly swollen epithelial cells desquamated and formed cellular detritus within the tubules.

Literatur

- ASHWORTH, C. T., and A. J. JAMES: Glomerular excretion of macromolecular substances. Amer. J. Path. **34**, 307—316 (1961).
- BOHLE, A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur des Gefäßpolys der Niere. Verh. dtsch. Ges. Path. **43**, 219—225 (1959).
- COSSEL, L., G. LISEWESKI u. G. MOHNKE: Elektronenmikroskopische und klinische Untersuchungen bei diabetischer Glomerulosklerose. Klin. Wschr. **37**, 1005—1019 (1959).
- FOLLI, G., u. L. ONIDA: Die Biopsie und die Befunde der Niere am Elektronenmikroskop. Sci. med. ital. **8**, 21—59 (1959/60).
- HALL, CH. E., and O. HALL: Glomerulonephritis and hypertension produced by parenteral administration of methylcellulose. Amer. J. Path. **40**, 167—184 (1962).
- HUEPER, W. C.: Thesaurosis and atheromatosis produced in dogs by the repeated intra-venous injection of solutions of sodium cellulose glycollate. Amer. J. Path. **21**, 1021—1030 (1954).
- JAMES, J. A., and C. T. ASHWORTH: Some features of glomerular filtration and permeability revealed by electron microscopy after intraperitoneal injection of dextran in rats. Amer. J. Path. **38**, 515—526 (1961).

- JUNG, H. P., u. G. BRIZIARELLI: Über das Verhalten eines Gemisches aus Methylcellulose und Carboxymethylcellulose im tierischen Organismus. Virchows Arch. path. Anat. **326**, 1—21 (1954).
- MILLER, F., u. H. SITTE: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mäusenieren nach intraperitonealen Eiweißgaben. Verh. dtsch. Ges. Path. **39**, 183—190 (1956).
- MOVAT, H. Z., and D. D. McGREGOR: The fine structure of the glomerulus in membranous glomerulonephritis (lipoid nephrosis) in adults. Amer. J. clin. Path. **32**, 109—127 (1959).
- PAPPAS, G. D., M. H. ROSS and L. THOMAS: Studies on the generalized Shwartzman-reaction. J. exp. Med. **107**, 333—341 (1958).
- ROUILLER, CH.: La contribution de la microscopie électronique à l'étude du rein normale et pathologique. Schweiz. med. Wschr. **91**, 65—88 (1961).
- SIADAT-POUR, A.: Die Ultrastruktur des Blutharnweges in verschiedenen Abschnitten des Nephrons bei der Maus. Beitr. path. Anat. **120**, 382—398 (1959).
- SITTE, H.: Veränderungen im Glomerulum der Rattenniere nach Fremdeiweißgaben und hypothetische Erklärung der glomerulären Ultrafiltration. Verh. dtsch. Ges. Path. **43**, 225—232 (1959).
- SPIRO, D.: Electron microscopic studies on human renal biopsies. IV. Internat. Kongr. Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, S. 339—404.
- THÖLEN, H.: Glomerulonephritis und Lipoidnephrose. Helv. med. Acta **26**, 79—108 (1959).

Dr. W. WESSEL,
Pathologisches Institut der Universität, 53 Bonn-Venusberg