

Vergleichende Untersuchungen über die hämatogene und die ascendierende Pyelonephritis bei Ratten

CLAUS-PETER ADLER, HELMUT RITZMANN und HANS ULRICH ZOLLINGER
Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br. (Ludwig Aschoff-Haus)
(Ehem. Direktor: Prof. Dr. H. U. ZOLLINGER)

Eingegangen am 24. Januar 1969

Comparative Studies on Hematogenous and Ascending Pyelonephritis in Rats

Summary. Experimental pyelonephritis was produced in 104 rats with *E. coli* and proteus which were administered intravenously or into the urinary bladder. The development of pyelonephritis was favoured by preceeding transabdominal massage of the kidneys, by implantation of a pearl into the urinary bladder, or by temporary, unilateral ligation of the ureter. Histologic and bacteriologic examinations were made 24 hours to 8 weeks afterwards.

It was impossible to decide merely from the histologic lesion whether pyelonephritis was of hematogenous or ascending origin, because no morphologic differences developed. The experimental procedure chosen, the bacteriological examinations of blood and kidney tissue, and the theoretical considerations favour the theory of hematogenous genesis of pyelonephritis in all of our experiments.

Inflammation of the kidneys caused by proteus is more severe than that caused by *E. coli*. Ureteral ligation was the most effective of the co-factors. All of the experimental procedures used seem to be suitable for causing experimental pyelonephritis in rats.

Zusammenfassung. Bei insgesamt 104 Ratten wurde mit *E. coli* oder *Proteus* eine Pyelonephritis erzeugt. Die Keime wurden intravenös oder in die Harnblase appliziert. Durch vorangegangene transabdominelle Nierenmassage, Einlegen einer Perle in die Harnblase oder einseitige temporäre Ureterligatur konnte die Entstehung der Pyelonephritis begünstigt werden. Histologische und bakteriologische Untersuchungen der Nieren erfolgten nach 24 Std bis 8 Wochen.

Allein aufgrund der histologischen Veränderungen ließ sich nicht erkennen, ob die Pyelonephritis auf hämatogenem oder ascendierendem Weg entstanden ist, da keine morphologischen Unterschiede auftraten. Die hier gewählten Versuchsanordnungen, bakteriologische Untersuchungen von Blut und Nierengewebe und theoretische Überlegungen sprechen für die hämatogene Genese der Pyelonephritis in jedem unserer Versuchsmodelle.

Proteus ruft schwerere Entzündungen in den Nieren hervor als *E. coli*. Von den Co-Faktoren war die Ureterligatur am wirksamsten. Sämtliche hier angewandten Versuchsanordnungen scheinen geeignet, eine experimentelle Pyelonephritis bei Ratten mit Erfolg zu erzeugen.

Bei der Pyelonephritis handelt es sich um eine unspezifische Entzündung, wobei nephrotope Bakterien (sehr selten: Pilze; Virus nicht bewiesen) in der Niere abgesiedelt werden und dort zu einer mehr oder weniger ausgedehnten Parenchymzerstörung — oft mit Bildung von Abscessen oder Granulomen — führen. Über den Infektionsmodus dieser sehr häufigen Erkrankung sind verschiedene Theorien aufgestellt worden. Da in vielen Fällen eine chronische Harnstauung mit Pyelonephritis einhergeht und auch durch Harnstau im Tierexperiment ganz ähnliche

Veränderungen in der Niere erzeugt werden können, liegt die Annahme einer bakteriellen Ascension nahe (STAEMMLER und DOPHEIDE, 1930; BEESON, 1955; TALBOT, 1958; ANDERSEN und JACKSON, 1961). Dementsprechend erblicken zahlreiche Autoren in der kanalikulären, ascendierenden Infektion die wichtigste Ursache für die Entstehung einer Pyelonephritis (KELLAWAY et al., 1926; COTRAN et al., 1963; ROSENHEIM, 1963; Lit. bei ZOLLINGER, 1966).

Es hat sich jedoch gezeigt, daß während der Entstehung einer akuten Pyelonephritis oder dieser vorangehend eine vorübergehende Bakteriämie auftritt (BARRINGTON und WRIGHT, 1930; TALBOT, 1962), was auf eine hämatogene Niereninfektion hindeutet. Klinische Beobachtungen und tierexperimentelle Untersuchungen ließen die hämatogene Besiedelung der Niere mit Bakterien immer deutlicher als häufigen Infektionsweg erkennen (PUTSCHAR, 1934; BELL, 1946; BABICS und RENYI-VAMOS, 1955; SCHREINER, 1958; GORRILL, 1958). Vermutlich kommen beide Entstehungsarten beim Menschen vor (HEPTINSTALL, 1964; ZOLLINGER, 1966). Unwahrscheinlich scheint dagegen eine lymphogen-ureterale Ausbreitung der Bakterien zu sein, wie von einigen Autoren angenommen (BERNING, 1956; STAEMMLER, 1957), da histologische Untersuchungen am Ureter dagegen sprechen (Lit. bei ZOLLINGER, 1966).

Es ist in den meisten Fällen ganz unmöglich, bei der morphologischen Untersuchung pyelonephritischer Nieren zu klären, ob die Erkrankung auf ascendierendem oder hämatogenem Wege entstanden ist (BOHLE, 1968). Selbst bei Vorliegen einer Entzündung der ableitenden Harnwege (Harnblase, Ureter, Nierenbecken) bleibt eine hämatogene Pyelonephritis nicht ausgeschlossen, da die Urothelschleimhaut für Erreger leicht durchgängig ist (Lit. bei ZOLLINGER, 1964).

Es soll hier untersucht werden, ob sich durch beide Infektionsarten unterschiedliche histologische Bilder der Pyelonephritis ergeben, wodurch eine ascendierende von einer hämatogenen Bakterieninvasion in den Nieren abgegrenzt werden könnte. Darüberhinaus versuchten wir, eine brauchbare Methode zu finden, mit der sich beim Tier mit zuverlässigem Erfolg eine akute und chronische Pyelonephritis erzeugen läßt.

Material und Methode

Versuchsgruppe A: 58 männliche und weibliche Ratten; Versuchsgruppe B und C: 46 weibliche Ratten von 200—300 g.

Bakterien. Aus dem Nierenbecken pyelonephritiskranker Patienten wurde mittels Katheter ein pathogener Stamm von *E. coli* und *Proteus mirabilis* gewonnen; zweimalige Tierpassage: intravenöse Injektionen der jeweiligen Bakterienaufschwemmung bei Ratten führte nach ca. 5 Tagen zu einer Sepsis; Wiedergewinnung der Keime aus den Nieren und abermalige Inoculation bei Ratten; Züchtung der bei diesen Tieren aus den Nieren gewonnenen Keime auf Nährböden. Vor Verwendung: Bebrütung über Nacht in 0,5%iger Traubenzucker-Bouillon; dann 10 Min zentrifugieren (5000 U/min). Aufschwemmung des Bodensatzes in physiologischer NaCl-Lösung. Bestimmung der Keimzahl mit Spektralphotometer.

Versuchsanordnung

Gruppe A. Vor Versuchsbeginn haben alle Tiere 24 Std gedurstet. Doppelseitige Nierenmassage 5 min von außen durch die Bauchdecken hindurch in leichter Äthernarkose (BRAUDE et al., 1955). Injektion zwischen 4×10^8 und 8×10^8 Keime/ml von *E. coli* oder *Proteus* in 0,5—1 ml physiologischer NaCl-Lösung in die Schwanzvene. Bei Langzeitversuchen (8 Wochen) abermalige Injektion von 4×10^8 Keimen/ml nach 1 Woche. Tötung durch Decapitation

von je 3 Tieren der coli- und proteusinfizierten Gruppe nach 24 Std, 48 Std, 1 Woche, 2 Wochen, 4 Wochen bzw. 8 Wochen. — Sterile Entnahme der linken Niere; Einlegen einer Hälfte in sterile 0,5%ige Traubenzucker-Bouillon zur bakteriologischen Untersuchung; Fixation der anderen Hälfte in Formalin zur histologischen Aufarbeitung.

Gruppe B. Nach 24stündiger Durstzeit und bilateraler transabdomineller Nierenmassage wurde durch suprapubische Incision eine Glasperle (2 mm \varnothing) in die Harnblase eingelegt (COTRAN et al., 1963). 3—5 Tage später transurethrale Inoculation einer Bakteriensuspension (4×10^8 bis 6×10^8 Keime/ml) mittels Kunststoffkatheter. Anschließend sofortiges Abklemmen der Urethralöffnung und ca. 20malige Kompression der Harnblase durch die Bauchdecken. — 3 min danach Entnahme von 0,5 ml Blut durch Herzpunktion zur bakteriologischen Untersuchung. Tötung und Verarbeitung des Materials wie bei Gruppe A.

Gruppe C. Nach 24stündiger Durstzeit operative Freilegung der linken Niere in Äthernarkose; Anschlingen des Ureters mit einem Seidenfaden, der durch die Bauchdecken nach außen geführt wird, so daß der Ureter spitzwinklig abgelenkt wird (HEPTINSTALL und GORRILL, 1955). Dabei Abklemmung der äußeren Urethralöffnung. Danach Injektion von 0,25 bis 0,5 ml einer Bakteriensuspension (2×10^8 bis 4×10^8 Keime/ml) in die freigelegte Harnblase und mehrfache Kompression derselben. 3 min danach: Entnahme von Herzblut zur bakteriologischen Untersuchung. — 24 Std später: Lösung der Ureterschlinge durch Entfernung des Seidenfadens. Tötung und Verarbeitung des Materials wie in Gruppe A und B.

Aus dem Herzblut und der bei Versuchsende steril entnommenen Nierenhälfte wurde eine qualitative Bakterienbestimmung vorgenommen.

Befunde

Quantitative Untersuchungen

In einigen Fällen war bei der histologischen Untersuchung das Nierenparenchym unverändert. Als positiven Befund werteten wir pyelonephritische Herde im Parenchym und entzündliche Reaktionen im Nierenbecken (Pyelitis). Es ergaben sich dabei deutliche Unterschiede bei den einzelnen Versuchsmethoden und auch bei den Keimarten (Abb. 1): Die hämatogene Coliinfektion führte bei 54,2%, die Proteusinfektion bei 60,8% der Tiere zu entzündlichen Nierenveränderungen. Auch bei den Perlenversuchen waren die coliinfizierten Ratten mit 33,3% positiver Befunde gegenüber 61,4% der proteusinfizierten Gruppe vermindert. Ähnliche Ergebnisse hatte die temporäre einseitige Ureterligatur: eine Coli-Pyelonephritis trat bei 71,4%, eine Proteus-Pyelonephritis bei 78,6% der Ratten auf. Es konnte also mit Proteus sowohl auf direktem hämatogenen Weg als auch retrograd häufiger eine Pyelonephritis erzeugt werden als mit *E. coli*. Dieses Bild ändert sich nicht, wenn man die befallenen Nieren einzeln betrachtet und bleibt auch bei ausschließlicher Berücksichtigung der Pyelonephritis (ohne einfache Pyelitis) das gleiche (Abb. 2).

Histologie

Hämatogene Niereninfektion mit E. col. (Abb. 3). Nach 24 Std erkennt man einige keilförmige Rindenherde in einer oder beiden Nieren (Abb. 4), in denen die Parenchymstrukturen verwaschen sind. Lediglich die Glomerula sind hier gut erhalten; sie zeigen zarte Schlingen und Kapseln. Viele Tubuli sind innerhalb der Herde nekrotisch; andere sind erweitert und enthalten hyaline Cylinder. Die umgebenden Capillaren sind stark blutgefüllt. Das Interstitium ist ödematös aufgelockert, verbreitert und dicht infiltriert von gelapptkernigen Leukocyten; dazwischen auch einige lympho-histiocytäre Infiltrate. In den Gefäßen und im Interstitium werden Bakterien beobachtet. Derartige Herde werden zunächst

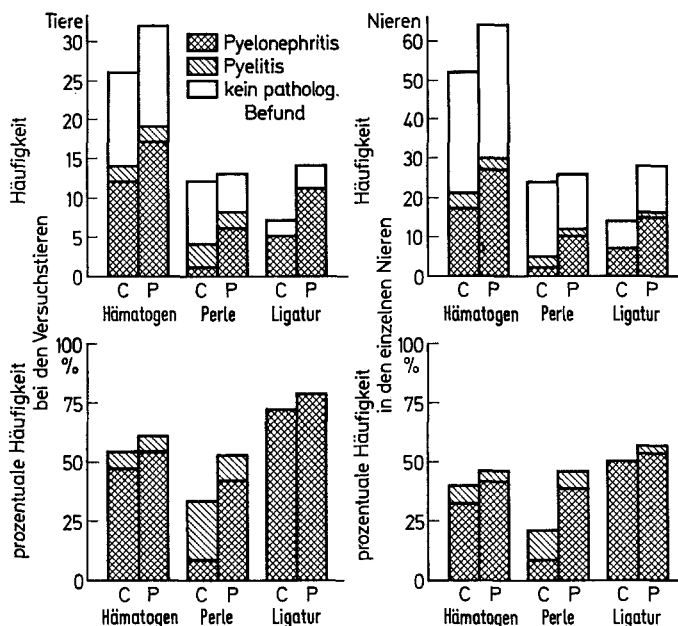


Abb. 1. Häufigkeit der experimentellen Pyelonephritis und Pyelitis unter verschiedenen Versuchsbedingungen bei 104 Tieren (*C. coli*; *P. proteus*). Die Versuchsergebnisse sind in absoluten Zahlen der erkrankten Tiere (links oben) und der erkrankten Nieren (rechts oben) angegeben; die beiden unteren Schemata stellen die Verhältnisse in Prozenten dar. Man erkennt, daß bei allen 3 Versuchsanordnungen (hämatogen, Perlen, Ureterligatur) mit *Proteus* häufiger eine Pyelonephritis erzeugt werden konnte als mit *E. coli*. Die temporäre Ureterligatur ist hierbei der wirksamste Co-Faktor

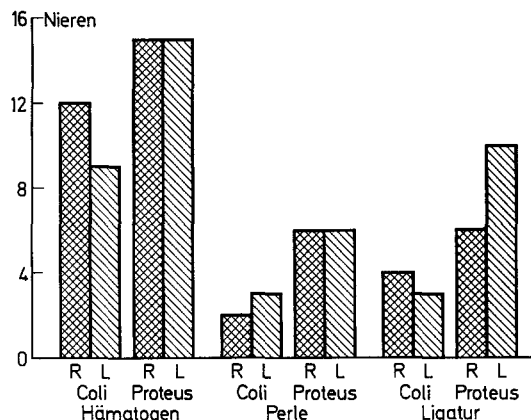


Abb. 2. Häufigkeit der Pyelonephritis in rechten und linken Nieren unter verschiedenen Versuchsbedingungen

nur in der Nierenrinde angetroffen; in weiterer Umgebung, vor allem um die erweiterten Gefäße der Mark-Rinden-Grenze herum, findet sich eine interstitielle Begleitnephritis (ZOLLINGER, 1945) aus lymphoplasmacellulären Infiltraten. Das Urothel des Nierenbeckens und das pelvine Fettgewebe sind von gelapptkernigen Leukozyten locker infiltriert.

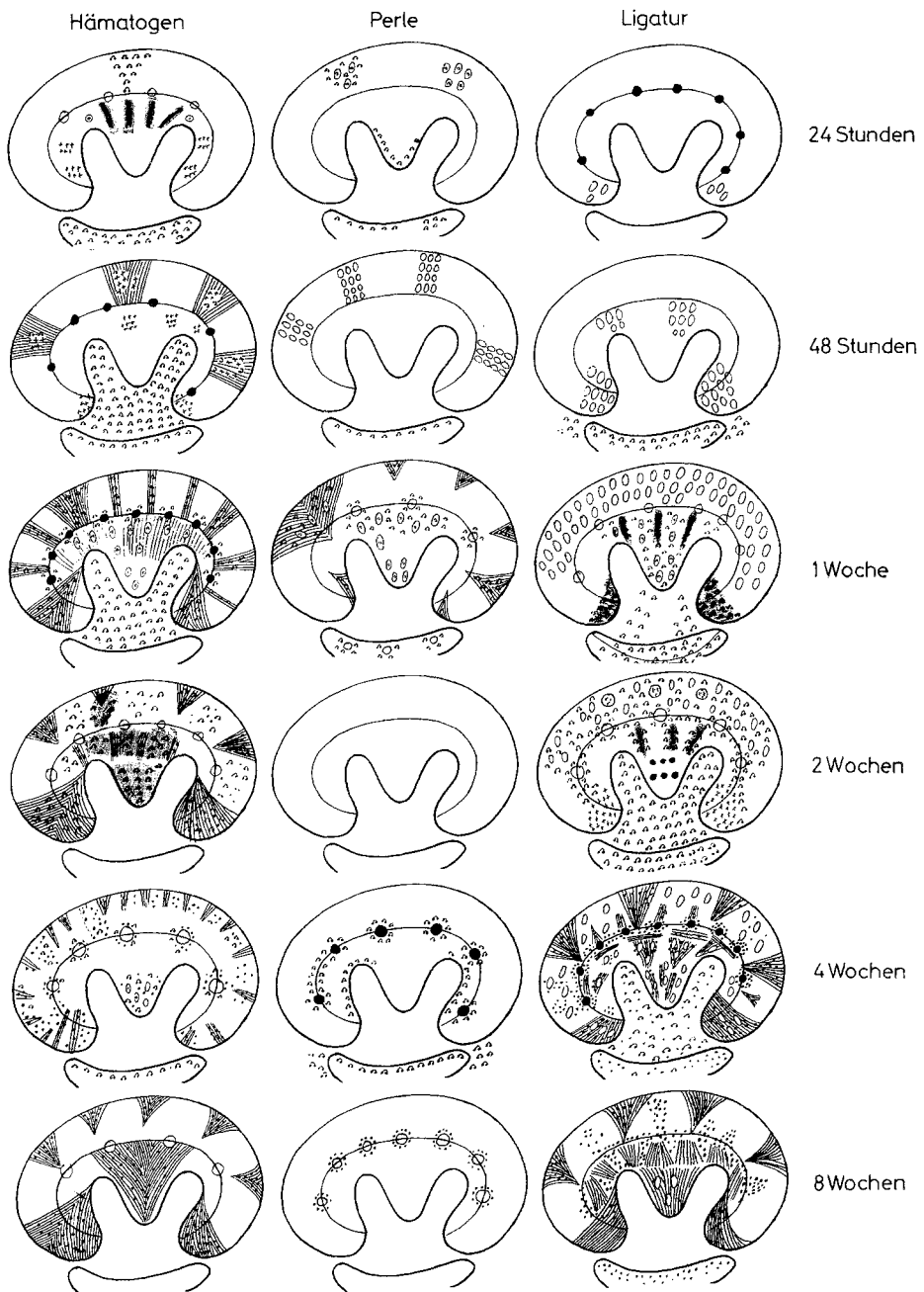


Abb. 3. Schematische Darstellung der Entwicklung der *Coli*-Pyelonephritis bei 3 Versuchsanordnungen nach verschiedenen Zeitintervallen (s. Text). (Zeichenerklärungen s. Legende zu Abb. 6)

Wie aus Abb. 3 hervorgeht, nehmen die entzündlichen Veränderungen bis zum Ablauf der ersten Woche stetig zu; die dicht leukocytär infiltrierte Rindenherde mit ausgedehnten Parenchymzerstörungen (Abb. 5) werden zahlreicher

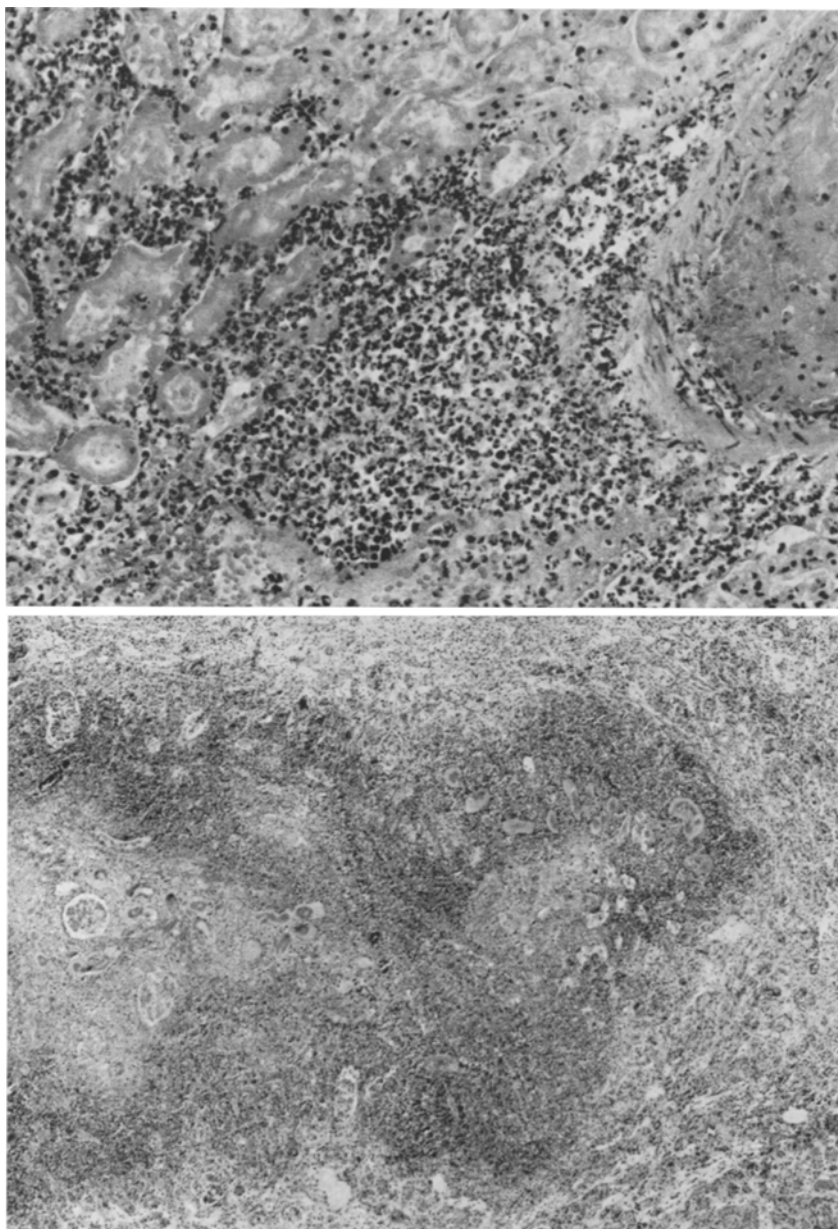


Abb. 4

Abb. 5

Abb. 4. Hämatogene Pyelonephritis mit *E. coli* nach 24 Std. Keilförmiger Rindenherd mit ausgedehnter Parenchymzerstörung und dichten Leukocyteninfiltraten; darin einige erhaltene Glomerula erkennbar (linke Niere). 25 ×

Abb. 5. Hämatogene Pyelonephritis mit *E. coli* bei einem nach 3 Tagen akut verstorbenen Tier. Ausgeprägte Parenchymzerstörung mit Tubulusnekrosen und dichten interstitiellen und perivaskulären Leukocyteninfiltraten (rechte Niere). 100 ×

und breiter. Nach 1 Woche ist in den Entzündungszonen der Rinde bereits eine deutliche Faservermehrung zu sehen; es treten jetzt auch leukocytaire Markherde auf. Die Sklerosierung hat nach 2 Wochen weiter zugenommen und nach 4 Wochen zu großen Narben in Rinde und Mark geführt. Es überwiegen jetzt dichte Infiltrate von Lymphocyten und Histiocyten; dazwischen noch einige gelapptkernige Leukocyten vorwiegend in erweiterten Tubuli des Markes. Nach 8 Wochen finden

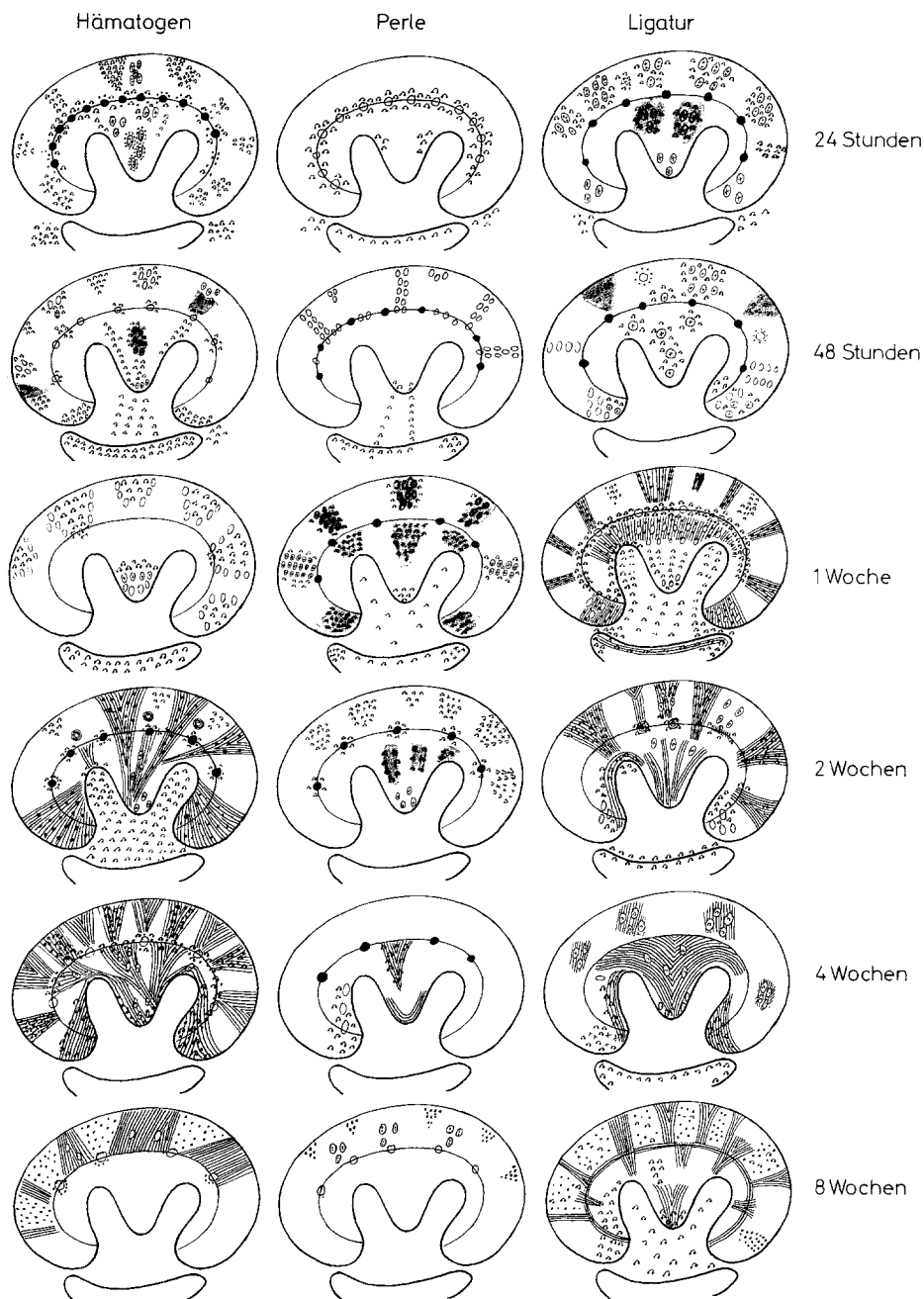


Abb. 6. Schematische Darstellung der Entwicklung der *Proteus*-Pylonephritis bei den 3 Versuchsanordnungen nach verschiedenen Zeitintervallen (s. Text)

Zeichenerklärung:

- Narbe; ▨ Parenchymzerstörung; ☒ Leukozyten; ☐ Lymphocyten; ✱ Bakterien;
 ○ Gefäß; • hyperämisches Gefäß; ☼ ausgeweitete Tubuli

wir eine hochgradige Schrumpfniere mit wenigen lympho-histiocytären Infiltraten in unregelmäßigen Narbenbezirken.

Hämatogene Niereninfektion mit Proteus (Abb. 6). 24 Std.: Große Rindenherde mit dichten Leukocyteninfiltraten und ausgedehnten Tubuluszerstörungen; mehrere Rindenabscesse mit Bakterienrasen. Streifenförmige Herde auch in Mark und Papille mit auffallend großen Bakteriencylindern in Markcapillaren (Abb. 7). Kleine Bakterienhaufen in den Hauptstücklumina und der perihilären Zone. Lockere Infiltrate von Lymphocyten, Histiocyten, Plasmazellen und Leukocyten im pelvinen Fettgewebe.

Diese Entzündungsherde breiten sich immer stärker aus (Abb. 6) und lassen nach 1 Woche eine beginnende Sklerosierung erkennen. Nach 2 Wochen durchziehen bereits breite sektorenförmige Narben das Nierenparenchym von der Rinde über die Rinden-Mark-Grenze hinweg bis zur Papillenspitze; darin vorwiegend lympho-histiocytäre Infiltrate und nur wenige gelapptkernige Leukocyten; im Nierenbecken massenhaft Leukocyten. Nach 4 Wochen beginnende narbige Schrumpfniere mit ausgeprägtem Parenchymschwund (Abb. 8). Die Narben sind nach 8 Wochen kleiner, dichter und zellärmer geworden und sind vorwiegend in der Rinde gelegen; darin nur spärliche Infiltrate von Lymphocyten und Histiocyten.

Retrograde Coli-Inoculation nach Einlegen einer Perle in die Harnblase (Abb. 3). Nach 24 und 48 Std nur spärliche Leukocytenansammlungen in Parenchym und Nierenbecken. Leukocytäre Rindenherde und kleine Abscesse im Mark treten erst nach 1 Woche auf (Abb. 3); hier bereits deutliche Faservermehrung des Interstitiums. Keine Pyelonephritis in späteren Versuchsgruppen (2—8 Wochen).

Retrograde Proteus-Inoculation nach Einlegen einer Perle in die Harnblase (Abb. 6). Die histologischen Veränderungen gleichen fast völlig denen der Coli-Tiere bei den Perlen-Versuchen: ausgeprägteste Entzündung mit keilförmigen Leukocytenherden und Tubuluszerstörung nach 1 Woche; danach Abklingen der Pyelonephritis.

Retrograde Coli-Inoculation nach einseitiger Ureterligatur (Abb. 3). Erste pyelonephritische Veränderungen nach 1 Woche mit Leukocyteninfiltraten und streifenförmiger Parenchymzerstörung im Mark, besonders perihilär. Nach 2 Wochen: in beiden Nieren große Entzündungsherde in Rinde und Mark (Abb. 9). Nach 4 Wochen: ausgedehnte Narbenbildung mit lockeren lympho-histiocytären Infiltraten und vereinzelten gelapptkernigen Leukocyten (Abb. 3); Ausbildung einer linksseitigen Hydronephrose (Abb. 10). Stärkste Narbenbildung und linksseitige Hydronephrose nach 8 Wochen; in der rechten Niere kleine entzündliche Rindenherdchen und Leukocytenhaufen in erweiterten Tubuli der Papille (Abb. 11).

Retrograde Proteus-Inoculation nach einseitiger Ureterligatur (Abb. 6). 24 Std.: Nekrotische Tubulusgruppen mit Bakteriencylinder und Leukocyten in Rinde und Mark. Ausbildung von Rindenabscessen nach 48 Std. In der Folgezeit starke Zunahme der interstitiellen Leukocyteninfiltrate vor allem in der Rinde mit vielen großen Bakterienhaufen in erweiterten Capillaren (Abb. 12). Nach 1 Woche neben den bestehenden frischen Entzündungsherden beginnende Narbenbildung in Rinde und Mark (Abb. 6), die sich nach 2 Wochen weiter ausgebreitet hat (Abb. 13); in den Narben vorwiegend Lymphocyten und Histiocyten, aber auch reichlich Leukocyten. 4 Wochen: Dichte Narbenfelder in Rinde und Mark mit lockeren

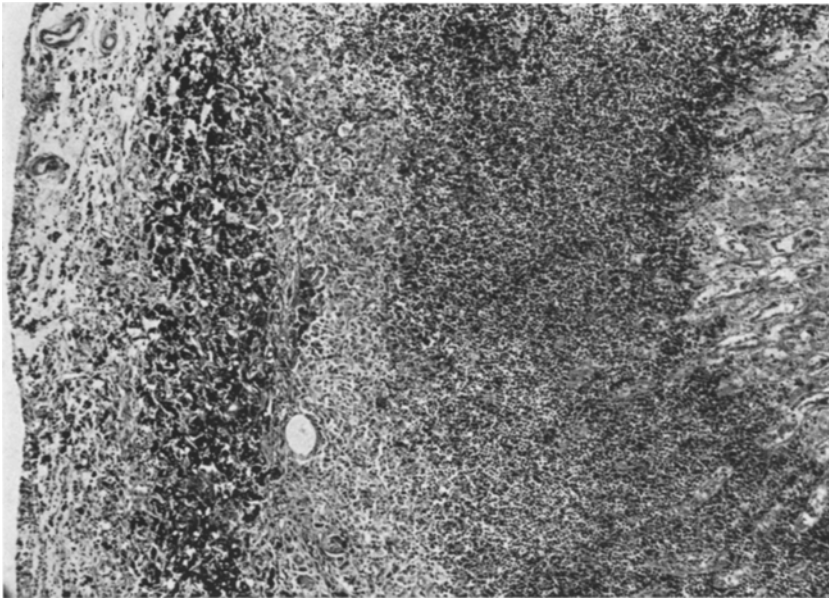


Abb. 8

Abb. 8. Hämatogene Pyelonephritis mit *Proteus* nach 24 Std (rechte Niere). Große Bakterienzylinder in Markcapillaren mit umgebenden Leukocyteninfiltraten. 250 ×

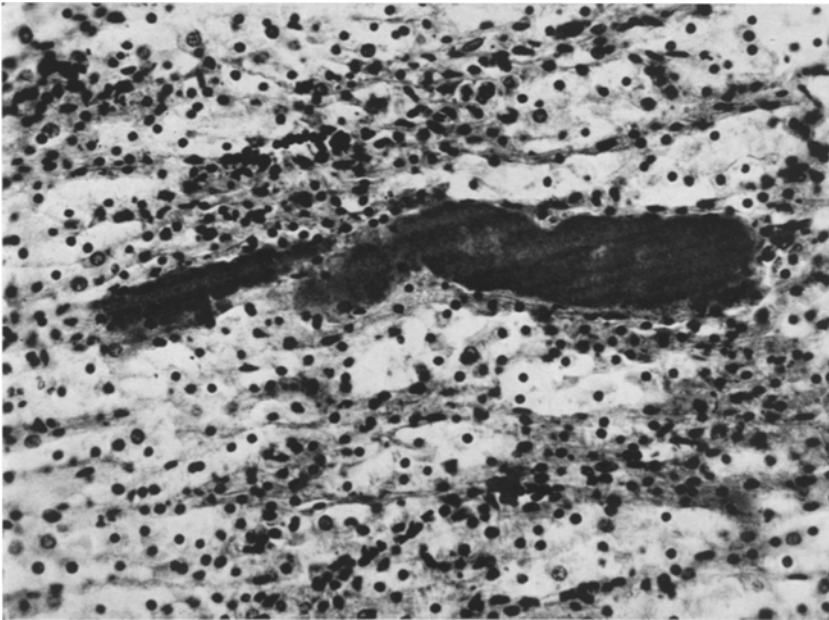


Abb. 7

Abb. 7. Hämatogene Pyelonephritis mit *Proteus* nach 4 Wochen (rechte Niere). Beginnende narbige Schrumpfung mit ausgeprägtem Parenchymschwund. 40 ×

entzündlichen Infiltraten; deutliche Hydronephrose links. 8 Wochen: Hochgradige linksseitige Hydronephrose; dichte Narben mit Lymphocyten und Histiocyten im schmalen Restparenchym; starke Einziehung der Nierenoberfläche.

Intensität der Veränderungen. Bei Vergleich des Schweregrades der Pyelonephritis unter unterschiedlichen Versuchsbedingungen ergibt sich, daß durch *Proteus* schwerere Schäden hervorgerufen werden als durch *E. coli* (Abb. 3 u. 6).

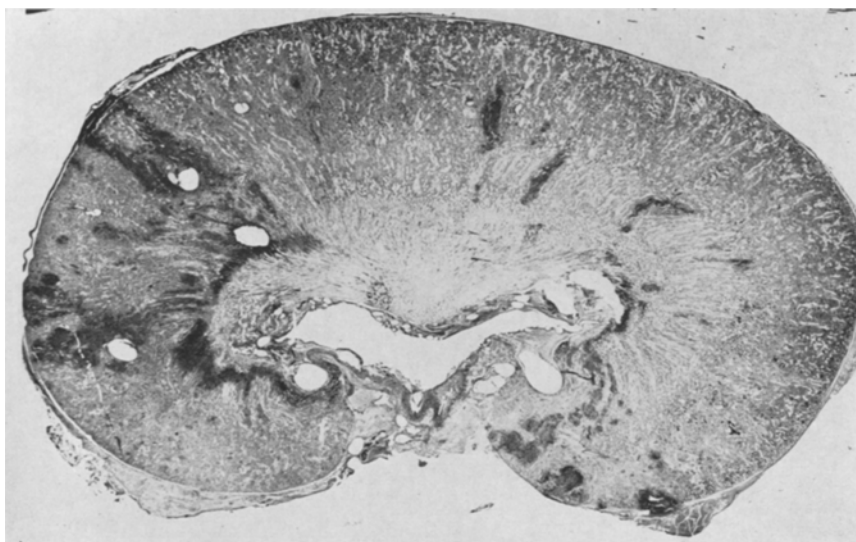


Abb. 9. Coli-Pyelonephritis nach temporärer Ureterligatur nach 2 Wochen (rechte Niere). Streifenförmige pyelonephritische Herde mit Parenchymzerstörung und Leukocyteninfiltraten in Rinde und Mark. 5×

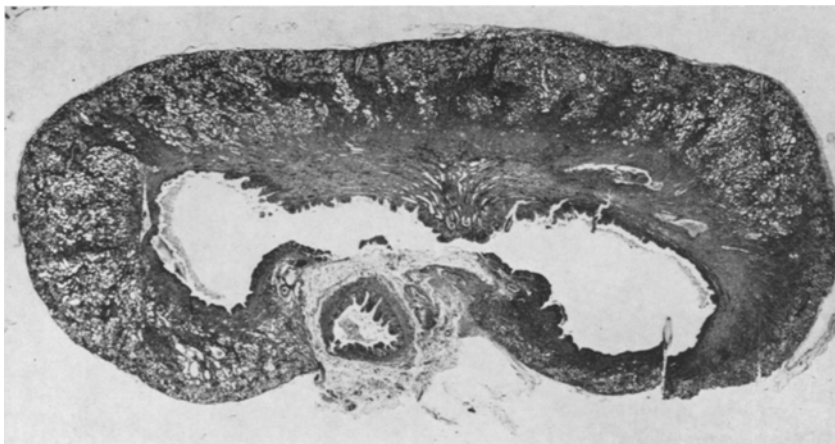


Abb. 10. Coli-Pyelonephritis nach temporärer Ureterligatur nach 4 Wochen (linke Niere). Deutliche Hydronephrose mit frischeren pyelonephritischen Narben in Rinde und Mark. 5×

Von den Co-Faktoren ist die einseitige temporäre Ureterligatur am wirksamsten sowohl in der Proteus- als auch in der Coli-Gruppe, wobei z.T. eine dabei entstandene Hydronephrose mitgewirkt hat. Die schwächsten Folgen zeigt die in die Harnblase eingelegte Perle.

Zeitlicher Ablauf. Bei hämatogener Coli-Infektion treten erste entzündliche Veränderungen nach 24 Std (Abb. 3) auf; nach 1 Woche Beginn der Narbenbildung. Schwerste Veränderungen nach 2 Wochen mit frischen Entzündungsherden und großen Narbenfeldern. Deutliche Abnahme der akuten Veränderungen nach

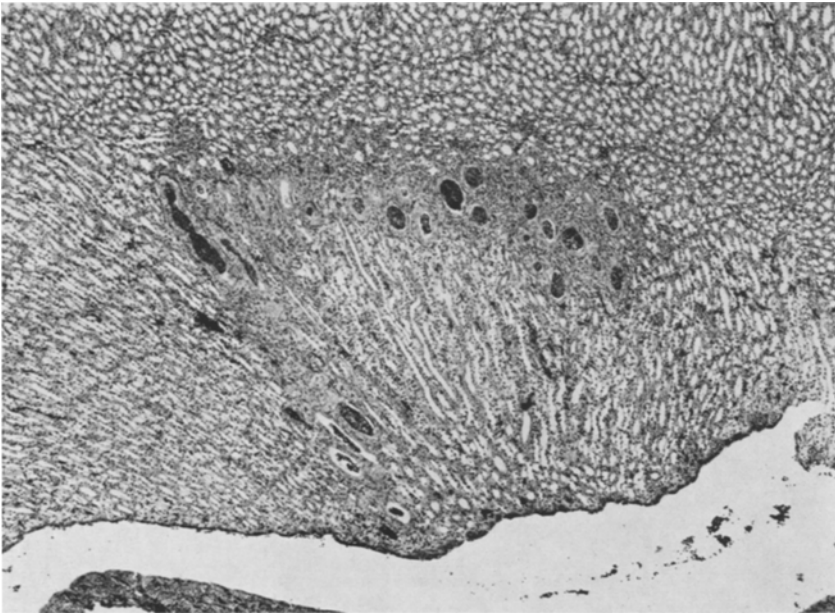


Abb. 11. Coli-Pyelonephritis nach temporärer Ureterligatur nach 8 Wochen (rechte Niere). Leukocytenhaufen in erweiterten Tubuli der Papille und interstitielle Leukocyteninfiltrate. 60 \times

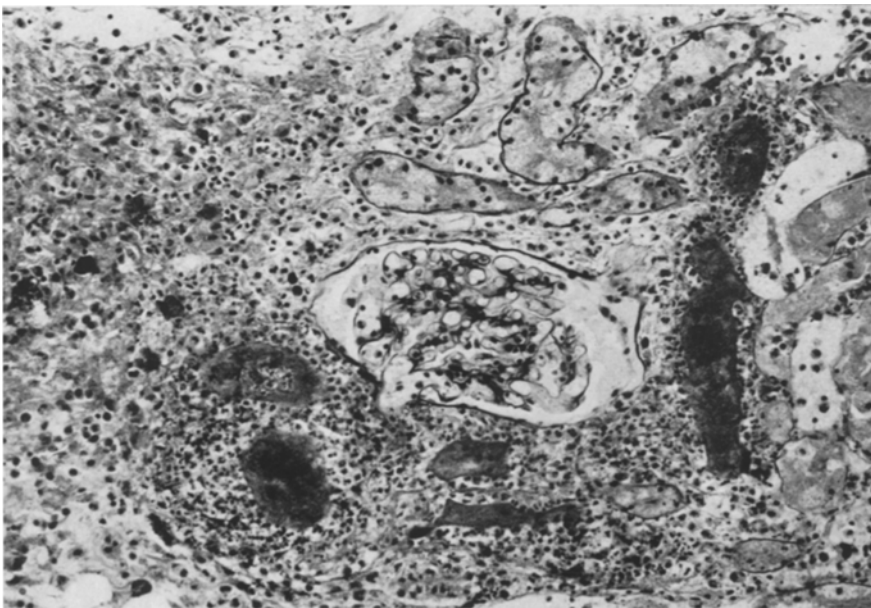


Abb. 12. Proteus-Pyelonephritis nach temporärer Ureterligatur bei einem nach 4 Tagen spontan gestorbenen Tier (rechte Niere). Ausgedehnte interstitielle Leukocyteninfiltrate mit Tubulusnekrosen und großen Bakterienhaufen in der Rinde. Das Glomerulum ist gut erhalten. 100 \times

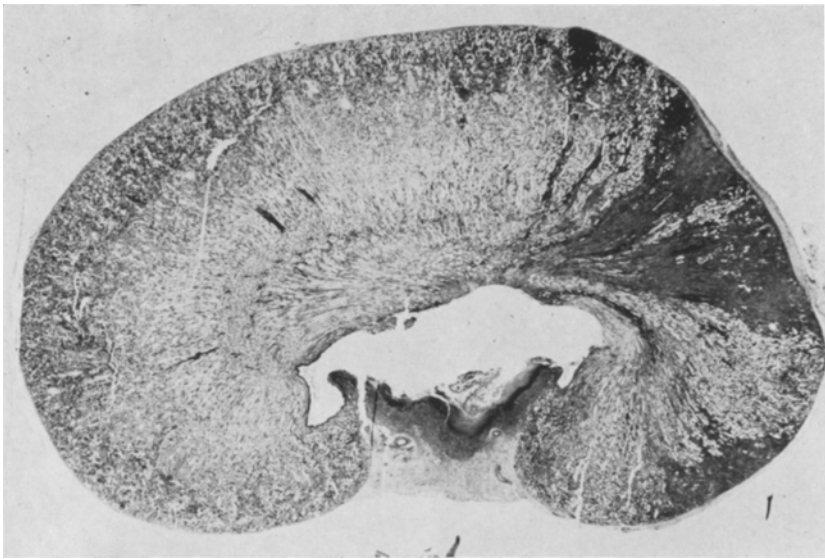


Abb. 13. *Proteus*-Pyelonephritis nach temporärer Ureterligatur nach 2 Wochen (rechte Niere). Breite keilförmige frische Narben, die sich von der Rinde bis zur Papille erstrecken. 5×

4 Wochen; nach 8 Wochen ist das chronische Stadium erreicht. Die *hämatogene Proteusinfektion* (Abb. 6) beginnt mit heftiger akuter Entzündungsreaktion (24 Std). Nach 2 Wochen werden erste Narben beobachtet. Schwerste Veränderungen nach 4 Wochen. Nach 8 Wochen Vorherrschen der chronischen Entzündung. Bei den *Perlen*-Versuchen setzt die Entzündung deutlich später ein. Nach *Coli*-Infektion (Abb. 3) finden sich erst nach 1 Woche pyelonephritische Herde mit geringer interstitieller Faservermehrung, die bald danach schon wieder verschwunden sind. Gleicher zeitlicher Ablauf nach *Proteusinfektion* (Abb. 6). Nach temporärer *Ureterligatur* und *Coli*-Gabe heftiges Aufflammen der Pyelonephritis erst nach 1 Woche (Abb. 3) mit Maximum nach 2 Wochen; nach der 4. Woche Übergang in das chronische Stadium. Fortbestehen der chronischen Entzündung nach 8 Wochen. *Proteus* ruft nach Ureterligatur sofort (24 Std) eine akute Pyelonephritis hervor (Abb. 6), die sich in der 1. Woche weiter ausbreitet. In der 2. Woche setzt Narbenbildung ein. Akute Entzündungsherde auch noch nach 8 Wochen nachweisbar.

Rechts-Links-Verteilung (Abb. 2). Kein bevorzugter Befall von rechter oder linker Niere in sämtlichen Versuchsgruppen. Gleichmäßiger Befall beider Nieren auch nach linksseitiger temporärer Ureterligatur bei den coliinfizierten Tieren (4:3); lediglich nach *Proteus*applikation ist die linke ligierte Niere etwas häufiger (6:10) erkrankt als die rechte.

Bakteriologie (Abb. 14). Es wurde lediglich eine Keimbestimmung vorgenommen, jedoch keine Bakterienzählung. Positiv ist der Befund, wenn der für die Pyelonephritis verwandte Keim im Nierengewebe oder im Blut wieder nachgewiesen wurde. *Hämatogene Infektion*: Bei Versuchsende Nachweis des zuvor applizierten Keimes in jeder pyelonephritischen Niere, außer bei einem 2 Wochen- und einem 8 Wochen-Tier mit Pyelonephritis. In der Frühphase (24—48 Std)

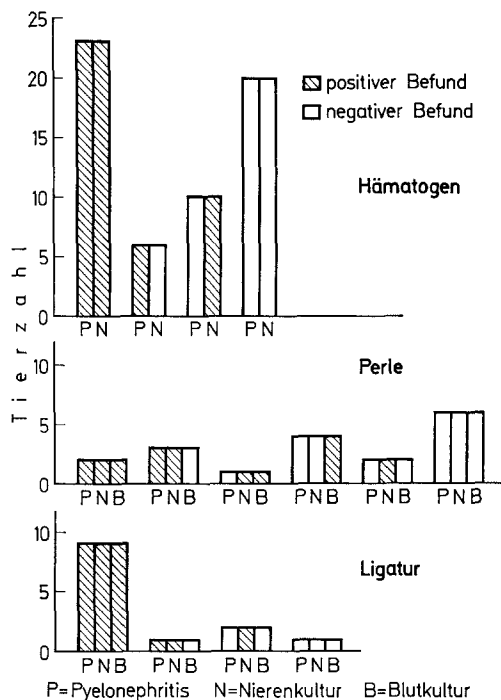


Abb. 14. Gegenüberstellung von Pyelonephritis und Bakterienkulturen aus Blut (B) und Nieren (N) bei insgesamt 90 Versuchstieren. Man erkennt, daß auch ohne histologisch erkennbare Pyelonephritis sich die im Versuch verwandten Bakterien in Nierenparenchym oder Blut nachweisen ließen

zeigten jedoch auch Nieren ohne Pyelonephritis einen positiven Bakterienbefund. *Perlenimplantation*: Positiver Bakterienbefund bei sämtlichen Nieren, ohne daß immer eine Pyelonephritis vorlag. Blutkulturen wechselnd positiv.

Ureterligatur. Positiver bakteriologischer Nierenbefund bei allen Pyelonephritiden. In der Proteusgruppe waren sämtliche Blutkulturen positiv.

Besprechung

Histologie

Allein von der Methodik her gesehen darf angenommen werden, daß mit der intravenösen Injektion einer Bakterienaufschwemmung eine hämatogene Pyelonephritis erzeugt wurde, während die Keiminoculation in die Harnblase — nach vorher eingelegter Perle oder Ureterligatur — theoretisch eine retrograde intra-ureterale Bakterienascension ermöglichen könnte. Grundsätzlich unterschiedliche Entzündungsformen sind in den Nieren unserer Versuchstiere nicht aufgetreten. Je nach Vorbehandlung der Nieren, verwendeter Keimart und Dauer der Infektion zeigten sich akute und chronische Entzündungsherde: meist keilförmige Infiltrate von gelapptkernigen Leukocyten, z.T. mit Bakterienhaufen im ödematös verbreiterten Interstitium, nektrotische Tubuli, Abscesse, Bakterienzylinder in Tubuli und Sammelröhren und Hyperämie in der akuten Phase der Entzündung.

Die chronische Pyelonephritis zeichnet sich durch interstitielle Faservermehrung, Narbenbildungen bis zur narbigen Schrumpfniere aus; es überwiegen jetzt lymphoplasmacelluläre Infiltrate; insgesamt nehmen die Entzündungszellen an Dichte ab; in nichtbefallenen Gebieten sind die Tubuli kompensatorisch erweitert. Das Nierenbecken ist in allen Versuchsreihen unregelmäßig von der akuten oder chronischen Entzündung mitbetroffen.

Andere Untersucher fanden bei der chronischen Pyelonephritis häufig sog. Strumaherde (STAEMMLER und DOPHEIDE, 1930; SHIMAMURA und HEPTINSTALL, 1963; u. a.), Lymphfollikel (ZOLLINGER, 1966), lymphogene Cysten (STAEMMLER, 1957) oder Mittelstücksprosse (ZOLLINGER, 1966) — Veränderungen, die in unseren Nieren fehlten.

Aufschlußreicher sollte das *Verteilungsmuster* der entzündlichen Veränderungen innerhalb der Niere bei ascendierender oder hämatogener Ausbreitung sein. HEPTINSTALL (1964) sah bei der ascendierenden Pyelonephritis häufiger Abszeßbildungen und eine besonders starke Entzündung in den Fornices; die Herde waren mehr in der perihilären Zone lokalisiert, wogegen bei hämatogener Infektion eine diffuse Verteilung über das ganze Nierenparenchym hinweg beobachtet wurde. Viele kleine Abscesse im Interstitium sollen im akuten Stadium der Erkrankung für hämatogene Genese sprechen, während bei der Ascension zuerst Kelche, Kelehnischen und -hälse entzündlich verändert sind (BERNING, 1956). Erste Entzündungszeichen im Nierenbecken und im hilären Fettgewebe halten BABICS und RENYI-VAMOS (1952) für Zeichen einer ascendierenden Infektion. KENNEDY (1932) glaubt, in den ersten Stunden eine hämatogene von einer ascendierenden Pyelonephritis unterscheiden zu können: bei ersterer liegen die Herde in Nähe des Nierenbeckens, bei letzterer in Rindennähe. HELMHOLZ und MILLIKIN (1925) sahen nach intravenöser Staphylokokkeninjektion bei Kaninchen nach 24 Std ausschließlich Markabscesse ohne Beteiligung der Rinde; erst später breitete sich die Entzündung in die Rinde aus. Hingegen beobachtete BELL (1942) bei der ganz akuten hämatogenen Pyelonephritis einen ausschließlichen Rindenbefall. Auch bei der frühkindlichen hämatogenen Pyelonephritis stehen Rindenläsionen im Vordergrund (GRIFFIN, 1934). Demgegenüber sahen andere Untersucher bei intravenöser Erregerinjektion zuerst einen auffallend starken Markbefall (HEIM, ISLER und ZOLLINGER, 1957; Lit. bei ZOLLINGER, 1966), was auf eine größere Infektionsempfindlichkeit dieser Zone zurückgeführt wird (BEESON et al., 1955, 1957; KLEEMAN et al., 1960). Diese Unterschiede können jedoch nur im sehr frühen Stadium der experimentellen Pyelonephritis gemacht werden; später gibt es histologisch keine Unterschiede mehr zwischen beiden Infektionsarten (HEPTINSTALL, 1964; BOHLE, 1968).

Das Frühstadium der Pyelonephritis konnten wir an Ratten genau studieren. Die Nieren der Versuchstiere zeigten bei den verschiedenen Methoden keinen bevorzugten Befall der einzelnen Regionen. Bei der hämatogenen Coliinfektion traten keilförmige Rindenherde auf; nach intravenöser Proteusgabe überdies Abscesse mit Bakterienrasen. In Mark und Papillen ließen sich aber ganz ähnliche Herde beobachten. Schon nach 24 Std waren Nierenbecken und pelvines Fettgewebe von Leukocyten infiltriert. Die retrograde Erregerinoculation ruft Veränderungen gleicher Lokalisation hervor wie die intravenöse. Auch hierbei wird das Nierenbecken innerhalb von 24 Std entzündlich infiltriert; die Entzündungs-

herde liegen in den weniger ausgeprägten Fällen (Perlenversuche mit *E. coli*) in der Papillenspitze und Markrindenzone; bei stärkerer Schädigung (*Ureterligatur* und *Proteus*) in Rinde und Mark, wobei dann die Rindenherde größer sind. Nach 48 Std liegen bezüglich des Verteilungsmusters der Entzündungsherde gleiche Verhältnisse vor, so daß wir selbst in diesen frühen Stadien histologisch eine hämatogene von einer ascendierenden Pyelonephritis nicht unterscheiden können.

Von vornherein unmöglich ist eine solche Unterscheidung in den chronischen Stadien der Erkrankung. Narbenbildungen in Rinde und Mark, in Kelchnischen und Nierenbecken mit lockeren lympho-plasmacellulären Infiltraten kennzeichnen in jedem Fall das histologische Bild. Wir haben allerdings den Eindruck, die Pyelonephritis schreite in der Rinde rascher fort (größere Herde, frühere Narbenbildung und -schrumpfung) als im Mark. Jedenfalls wurde eine besondere Empfindlichkeit des Markes gegenüber der Pyelonephritis nicht festgestellt. Das Auftreten von Mark- oder Rindenherden im akuten Stadium hängt wohl eher von der Virulenz der Erreger ab: bei schwacher Virulenz treten zuerst Mark- und Papillenherde auf (ZOLLINGER, 1966: sog. Ausscheidungsnephritis), bei starker Virulenz rufen die Bakterien bereits in den Glomerula entzündliche Reaktionen hervor.

Aus der Histologie der Nieren sämtlicher Versuchstiere gewinnen wir den Eindruck, daß die Mark-Rinden-Zone mit den dort verlaufenden großen Aa. arcuatae und den begleitenden Lymphgefäßen eine Sonderstellung einnimmt. Die Entzündung ist hier stets am wenigsten ausgeprägt. Im ganz akuten Stadium fanden wir hier lediglich eine interstitielle Begleitnephritis. Auch bei Fortschreiten der Erkrankung bleibt diese Zone lange verschont; sie wird erst bei stärkerer Parenchymzerstörung von der Pyelonephritis miterfaßt. Wir möchten deshalb annehmen, daß die auf hämatogenem Weg in die Niere gelangten Keime sofort in den Blut- und Lymphgefäßen der Mark-Rinden-Zone fortgeschwemmt werden und sich hier gar nicht erst absiedeln können. Erst wenn infolge ausgedehnter pyelonephritischer Zerstörungen in Rinde und Mark eine Blut- und Lymphstase in der Mark-Rinden-Zone eintritt, kann sich die Entzündung auch in diesem Gebiet entwickeln.

Schweregrad und Heilungstendenz

Große Abscesse mit schwersten Parenchymzerstörungen und später ausgedehnten Narben fanden SHAPIRO et al. (1959) bei *Proteus*infektion, wobei ausnahmslos ein Rindenbefall eintrat; *E. coli* verursachte bei 96% der Versuchstiere pyelonephritische Rindenherde; Markläsionen konnten bei *Proteus*applikation in 93% der Fälle, bei *E. coli* in 82% beobachtet werden. Auch unsere mit *Proteus* infizierten Tiere hatten deutlich schwerere Nierenschäden als die der *Coli*-Gruppe. Trotzdem zeigen derartige Pyelonephritiden eine Heilungstendenz, die wir innerhalb von 8 Wochen Versuchsdauer verfolgen konnten. Irgendwelche zeitlichen oder histologischen Unterschiede im Heilungsprozeß zwischen einer sog. ascendierenden und der hämatogenen Form traten dabei nicht auf.

Die histologischen Veränderungen der verschiedenen Stadien der Pyelonephritis und Verlaufsbeobachtungen der Krankheit geben in unseren Versuchsserien keinen Hinweis für eine unterschiedliche Genese des Bakterienbefalls der Niere. Wir kennen das histologische Bild der fraglos hämatogenen Pyelonephritis nach intravenöser Erregerinoculation; die retrograd erzeugte Pyelonephritis zeigt ganz gleiche Schäden. Folglich kann angenommen werden, daß es sich auch hierbei um

eine hämatogene Infektion handelt. Für diese Vermutung sprechen zwei weitere Beobachtungen:

1. Bei einseitiger Ureterligatur und nachfolgender Bakterieninoculation in die Harnblase kann eine kanalikuläre Bakterieninvasion der Niere nur auf der nichtligierten Seite durch den Ureter erfolgen. Unsere Tiere wiesen jedoch bei Coli-inoculation einen beidseitig fast gleich starken Nierenbefall von 4:3 (Abb. 2) auf; nach Proteusgabe waren die ligierten Nieren sogar mit 6:10 häufiger betroffen als die nichtligierten. Die Keime müssen also auf einem anderen Weg als intraureteral in die Niere gelangt sein.

2. Erfolgt eine Bakterienbesiedelung der Nieren in jedem unserer Modellfälle auf dem Blutweg, dann müßte dabei eine Bakteriämie auftreten. Diese konnten wir tatsächlich oft nachweisen: Bei 34,7% der Tiere der Perlenversuche fanden wir den in die Harnblase gebrachten Keim nach 3 min im Blut und später auch oft in der Niere wieder. Bei der temporären einseitigen Ureterligatur waren 83,3% der Blutkulturen positiv, in der Proteusgruppe sogar 100% aller Untersuchungen.

Diese Beobachtungen, zusammen mit den histologischen Befunden, lassen den Schluß zu, daß wir mit den drei Versuchsanordnungen stets eine hämatogene Pyelonephritis erzeugt haben. Auch McCRAE und JACKSON (1960) stellten nach intravesikaler Coligabe in den ersten Stunden eine Bakteriämie fest; diese Keime ließen sich später im Nierenmark wiederfinden. KLEEMAN et al. (1960) betonten, daß jede Bakteriämie eine Erhöhung der Bakterienzahl in der Niere verursacht; dies gilt besonders für nephrotope Keime wie *Proteus* und *E. coli*.

Ausbreitungsweg

Die in die Harnblase eingespritzten Bakterien unserer Versuchstiere müssen durch die Schleimhaut in das Blut gelangt sein. BELL (1946) sieht auch für die menschliche Pyelonephritis die Urethrschleimhaut als häufigste Eintrittspforte an (ebenso ZOLLINGER, 1966). THIELE und EMBLETON (1914) konnten in die Urethra eingebrachte Keime schon nach kürzester Zeit im Blut nachweisen. Es ist verständlich, daß nach Reizung der Schleimhaut der ableitenden Harnwege durch Operationen (TALBOT, 1962; u. a.), Katheterismus (SALVISBERG und SCHLEGEL, 1962) oder in der Windelperiode (BEESON, 1955) eine Bakteriämie und die damit verbundene Gefahr der Pyelonephritis besonders häufig ist. Sämtliche bisherigen Versuche, die ascendierende Natur der Pyelonephritis nachzuweisen (KENNEDY, 1932; THELEN et al., 1956), sind wenig überzeugend (negative Resultate bei BRAINERD und CECIL, 1956; FREEDMAN und BEESON, 1958). Der Nachweis der ursächlichen Krankheitserreger in der Harnblase (VIVALDI et al., 1959) beweist noch keine transureterale Ascension. Auch PRAT et al. (1968) konnten kürzlich durch Kontrastmittelinjektionen lediglich die Möglichkeit eines vesico-renalen Refluxes zeigen; hingegen sprechen auch ihre Versuche eher für hämatogene Infektion, da selbst nach völliger Durchtrennung beider Ureteren die intravesical applizierten Keime in beiden Nieren nachgewiesen wurden.

Häufigkeit der experimentellen Pyelonephritis

Für das Angehen einer experimentellen Pyelonephritis sind drei Faktoren bedeutsam: 1. Art der Keime und ihre Dosierung; 2. Applikationsweise; 3. Zusatzfaktoren. Wie Abb. 1 zeigt, konnte bei allen drei Versuchsanordnungen mit *Proteus*

häufiger eine Pyelonephritis erzeugt werden als mit *E. coli*: bei hämatogener Applikation wiesen 60,8% der Tiere einen Nierenbefund auf; im Perlenversuch waren es 61,4% und bei Ureterligatur 78,6%. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen VIVALDI et al. (1959) mit 60—95% bei intravesicaler Keiminoculation. Intravenöse *Coli*-Injektion verursachte bei 54,2% unserer Tiere eine Pyelonephritis; sie ist somit erfolgreicher als bei den Versuchen von McCRAE und JACKSON (1960:30%). Auch in dieser Gruppe erwies sich die Ureterligatur als besonders wirkungsvoll: 71,4% der Tiere erkrankten.

Ohne Zusatzfaktoren läßt sich die Pyelonephritis im Tierversuch nur mit unbefriedigendem Erfolg erzeugen. Der *Harnstau* spielt eine besonders fördernde Rolle und ist sicherlich auch bei der menschlichen Pyelonephritis von großer Bedeutung. 55,8% aller Pyelonephritiden geht ein Harnstau voraus (ZOLLINGER, 1964; GLOOR, 1961; 60%); KLEEMAN und FREEDMAN (1960) konnten allein dadurch eine Pyelonephritis hervorrufen. Rezidive können durch Harnstau leicht entfacht werden (HEPTINSTALL und BRUMFITT, 1960). Je stärker und andauernder der Harnstau, desto intensiver sind die Nierenschäden. Bei mehreren unserer Tiere mit temporärer Ureterligatur entwickelte sich eine Pyelonephritis. Offensichtlich wird das Nierengewebe durch den hydrostatischen Druck stark in der Resistenz vermindert (BEESON et al., 1957) oder die hämatogene Besiedelung durch intrarenale Harnstauung bei totaler Rückresorption gefördert. Die temporäre Ureterligatur ist — vorsichtig angewandt — also eine gute Methode zur Erzeugung einer Pyelonephritis.

Wirksam ist aber auch die *Nierenmassage*, welche die Pyelonephritis deutlich fördert. Wahrscheinlich wird dadurch ein Kreislaufschaden (reaktive Hyperämie) in der Niere gesetzt, der die Coli-Empfindlichkeit steigert (MORARD und HALPERN, 1961). Unsere Versuchsmodelle erscheinen uns geeignet zu sein, mit ausreichendem Erfolg eine Pyelonephritis zu erzeugen, die mit dieser Erkrankung beim Menschen weitgehend übereinstimmt.

Literatur

- ANDERSEN, B. R., and G. G. JACKSON: Pyelitis, an important factor in the pathogenesis of retrograde pyelonephritis. *J. exp. Med.* **114**, 375—384, (1961).
- BABICS, A., u. F. RENYI-VAMOS: Die ascendierende Pyelonephritis. *Acta med. Akad. Sci. hung.* **3**, 15—34 (1952).
- Über den Lymphkreislauf der Niere und dessen Bedeutung für einzelne pathologische Prozesse der Niere. *Z. Urol.* **48**, 618—643, (1955).
- BARRINGTON, F. J., and H. D. WRIGHT: Bacteriemia following operations on the urethra. *J. Path. Bact.* **33**, 871—888, (1930).
- BEESON, P. B.: Factors in the pathogenesis of pyelonephritis. *Yale J. Biol. Med.* **28**, 81—104, (1955).
- H. ROCHA, and L. B. GUZE: Experimental pyelonephritis. Influence of localized injury in different parts of the kidney on susceptibility to hematogenous infection. *Trans. Ass. Amer. Phycns* **70**, 120—126, (1957).
- BELL, E. T.: Exsudative interstitial nephritis (pyelonephritis). *Surgery* **11**, 261—280 (1942).
- Renal diseases. Philadelphia: Lea & Febiger 1946.
- BERNING, H.: Über herdförmige Nierenentzündungen. *Münch. med. Wschr.* **98**, 181—183, 234—238 (1956).
- BOHLE, A.: Morphologischer Beitrag zur Differentialdiagnose chronischer Nierenkrankheiten. *Therapiewoche H.* **13**, 528—535 (1968).
- BRAINERD, H. D., and L. M. CECIL: Observation on the pathogenesis, course and treatment of nonobstructive pyelonephritis. *Ann. intern. Med.* **45**, 232—241 (1956).

- BRAUDE, A.I., A.P. SHAPIRO, and J. SIEMIENSKI: Hematogenous pyelonephritis in rats. I. Its pathogenesis when produced by a single new method. *J. clin. Invest.* **34**, 1489—1497 (1955).
- COTRAN, R.S., E. VIVALDI, D.P. ZANGWILL, and E.H. KASS: Retrograde proteus pyelonephritis in rats. *Amer. J. Path.* **43**, 1—31 (1963).
- FREEDMAN, L.R., and P.B. BEESON: Experimental pyelonephritis. 4. Observations on infections resulting from direct inoculation of bacteria in different zones of the kidney. *Yale J. Biol. Med.* **30**, 406—414 (1958).
- GLOOR, F.: Die doppelseitige chronische nicht obstruktive interstitielle Nephritis. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **41**, 63—207 (1961).
- GORBILL, R.H.: Bacteriological conditions leading to destruction of the kidney. *Guy's Hosp. Rep.* **107**, 405—415 (1958).
- GRIFFIN, M.A.: Pyelonephritis in infancy and childhood: its bacteriology and pathology. *Arch. Dis. Childh.* **9**, 105—114 (1934).
- HEIM, U., U. ISLER u. H. U. ZOLLINGER: Experimentelle einseitige Hydronephrose und Pyelographie bei der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **129**, 145—148 (1957).
- HELMHOLZ, H.F., and F. MILLIKIN: Kidney: Filter of bacteria; presence of bacteria in blood kidney and urine after varying intervals following intravenous injection. *Amer. J. Dis. Child.* **29**, 497—505 (1925).
- HEPTINSTALL, R.H.: Experimental pyelonephritis: Ascending infection of the rat kidney by organisms residing in the urethra. *Brit. J. exp. Path.* **45**, 436—441 (1964).
- , and R.H. GORBILL: Experimental pyelonephritis and its effect on the blood pressure. *J. Path. Bact.* **69**, 191—198 (1955).
- KELLAWAY, C.H., C.I.D. BROWN, and F.E. WILLIAMS: Paths of renal infection. *Brit. J. exp. Path.* **7**, 337—346 (1926).
- KENNEDY, R.L.: The pathologic changes in pyelitis in children interpreted on the basis of experimental lesions. *J. Urol. (Baltimore)* **27**, 371—398 (1932).
- KLEEMAN, Ch.R., W.L. HEWITT, and L.B. GUZE: Pyelonephritis. *Medicine (Baltimore)* **39**, 3—116 (1960).
- KLEEMAN, S.E., and L.R. FREEDMAN: The findings of chronic pyelonephritis in males and females at autopsy. *New Engl. J. Med.* **263**, 988—992 (1960).
- MCCRABE, W.R., and G.G. JACKSON: The natural course of retrograde infection of the urinary tract of rats with different serotypes of *Escherichia coli* or enterococcus. *Henry Ford Hosp. Internat. Symp. Biology of pyelonephritis*. Boston: Little & Brown 1960.
- MORARD, J.Cl., et B.N. HALPERN: Pyélonéphrite colibacillaire expérimentale provoqué par l'injection massive d'endotoxine et de colibacilles chez le lapin. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **155**, 2130—2136 (1961).
- PRAT, V., L. KONICKOVA, W. RITZERFELD u. H. LOSSE: Die Bedeutung einer vorübergehenden Harnleiterobstruktion für die Entstehung von ascendierenden Niereninfektionen bei Ratten. *Z. ges. exp. Med.* **146**, 115—124 (1968).
- PUTSCHAR, W.: Pyelitis, Pyelonephritis und Pyonephrose. In: Henke-Lubarsch, *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, Bd. VI 2, S. 396. Berlin: Springer 1934.
- ROSENHEIM, M.L.: Problems of chronic pyelonephritis. *Brit. med. J.* **1963 I**, 1433—1440.
- SAVISBERG, H., u. G. SCHLEGEL: Bakteriologische Probleme zur Ätiologie der interstitiellen destruierenden Nephritis. *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 1667—1673 (1962).
- SCHREINER, G.E.: The clinical and histologic spectrum of pyelonephritis. *Arch. intern. Med.* **102**, 32—40 (1958).
- SHAPIRO, A.P., A.I. BRAUDE, and J. SIEMIENSKI: Hematogenous pyelonephritis in rats. IV. Relationship of bacterial species to the pathogenesis and sequelae of chronic pyelonephritis. *J. clin. Invest.* **38**, 1228—1240 (1959).
- SHIMAMURA, F., and R.H. HEPTINSTALL: Experimental pyelonephritis: Nephron dissection of the kidney of experimental chronic pyelonephritis in the rabbit. *J. Path. Bact.* **85**, 421—423 (1963).
- STAENMLER, M.: Die Harnorgane. In: KAUFMANN-STAENMLER, *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, 11. u. 12. Aufl., Bd. 2, S. 405. Berlin: De Gruyter 1957.
- , u. W. DOPHEIDE: Die pyelonephritische Schrumpfnier. *Virchows Arch. path. Anat.* **277**, 713—756 (1930).

- TALBOT, C. H.: Septicaemia due to gram-negative bacilli. *Lancet* **1962 I**, 668—670.
- TALBOT, H. S.: Role of ureter in pathogenesis of ascending pyelonephritis. *J. Amer. med. Ass.* **168**, 1595—1603 (1958).
- THELEN, A., K. ROTHER u. H. SARRE: Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der pyelonephritischen Schrumpfnieren. *Urol. int. (Basel)* **3**, 359—393 (1956).
- THIELE, F. H., and D. EMBLETON: Infection: Pathways of spread in bacterial infection. *Proc. roy. Soc. med.* **7**, 69—96 (1914).
- VIVALDI, E., R. COTRAN, D. P. ZANGWILL, and E. H. KASS: Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non-obstructive pyelonephritis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **102**, 242—244 (1959).
- ZOLLINGER, H. U.: Die interstitielle Nephritis. Basel: S. Karger 1945.
- Pathologische Anatomie und Pathogenese der Pyelonephritis (Destruktive, bakterielle interstitielle Nephritis). In: *Handbuch der Urologie*, Bd. IX/1, S. 22—85 (C. E. ALKEN, V. W. DIX, H. M. WEYRAUCH u. E. WILDBOLZ). Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964.
- Die Pyelonephritis. In: *DOERR-UEHLINGER, Spezielle pathologische Anatomie*, Bd. 3, S. 433. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

Prof. HANS ULRICH ZOLLINGER
Pathologisches Institut der Universität
CH-4000 Basel
Hebelstr. 24

Dr. CLAUS-PETER ADLER
Pathologisches Institut der Universität
D 78 Freiburg i. Br.
Albertstr. 19