

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 1680/1971

Tubuläre Resorption an der Nierenoberfläche der Ratte (Split drop)

Mit 2 Abbildungen
und 1 Tabelle

GÖTTINGEN 1972

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Tubuläre Resorption an der Nierenoberfläche der Ratte (Split drop)¹

M. STEINHAUSEN, Heidelberg

Allgemeine Vorbemerkungen

In den letzten 20 Jahren hat die Nephrologie ein expansives — ja fast explosives — Wachstum gezeigt. Mit eigenen nationalen und internationalen Nephrologischen Gesellschaften ist dieses Fachgebiet hervorgetreten. Dies ist nicht nur auf die besseren therapeutischen Möglichkeiten der Nephrologie (insbesondere durch die Hämö-Dialyse) zu beziehen, sondern ist auch auf das wachsende Interesse an Mikropunktions-Untersuchungen an der Oberfläche der Warmblüterniere zurückzuführen.

Nachdem WALKER und OLIVER [10] 1941 die ersten Angaben über die Zusammensetzung des tubulären Harnstroms am Warmblüternephron vorlegten, war in den 50er Jahren, speziell stimuliert durch WIRZ [12], [13], insbesondere der intratubuläre hydrostatische und osmotische Druck untersucht worden, wobei Fragen der Harnkonzentrierung (Haarnadelgegenstromsystem) im Vordergrund des Interesses standen.

Neben Fragen des aktiven Substanztransportes standen im letzten Jahrzehnt insbesondere Fragen der quantitativen Reabsorption unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen im Mittelpunkt der Mikropunktionsforschung (zur Literaturübersicht vgl. WINDHAGER [11]). Hierbei wurde das Thema: „Glomerulär-tubuläre Balance“ unter dem besonderen Gesichtspunkt der quantitativen Anpassung der tubulären Reabsorption an veränderte Filtratvolumina besonders intensiv bearbeitet. Zur Bestimmung der tubulären Reabsorption wurden dabei im wesentlichen 3 Methoden benutzt:

1. Mikropunktionsanalyse der tubulären Inulinkonzentration in den verschiedensten (definierten) Nephronabschnitten und deren Vergleich mit dem Plasma-Inulinspiegel.

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 14 u. 15. Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 90 - Kardiovaskuläres System).

2. Beobachtung des proximalen Tubuluskollaps und Bestimmung der Kollapszeit nach Unterbrechung der glomerulären Filtration.
3. Spaltung eines intratubulär injizierten Öltropfens durch eine Testlösung und Bestimmung der Resorptionszeit der Testlösung (Split drop).

Es ist anzumerken, daß bisher — trotz einer Fülle von Untersuchungen — der Mechanismus der glomerulär-tubulären Balance kontrovers geblieben ist. Zunächst schien eine Hypothese von GERTZ [2] attraktiv. Hier wurde postuliert, daß der Tubulusquerschnitt die Resorptionsgröße bestimmt, so daß mit zunehmender Lumenweite proximaler Tubuli auch die Menge der proximalen Reabsorption vergrößert sein müßte. Es ließ sich aber zeigen (STEINHAUSEN [6]), daß gerade im Gegensatz zur Voraussage bei erweiterten Tubuluslumina, hervorgerufen durch Ureterdrucksteigerung, die Resorption stark eingeschränkt ist. Gegenwärtig neigt man daher mehr zu der Vorstellung, daß der kolloidosmotische Druck in den peritubulären Kapillaren für die Nettoabsorption in gleicher Weise Bedeutung hat wie der aktive Transport und damit die glomerulär-tubuläre Balance über den kolloidosmotischen Druck in den peritubulären Kapillaren gesteuert wird. Ob dabei der aktive tubuläre Transport direkt gehemmt wird, wenn der intracapillare kolloidosmotische Druck absinkt (wie wir zuerst 1965 vermuteten, STEINHAUSEN u. a. [8]) oder ob es bei gleichbleibendem aktivem Transport aus den Harnkanälchen zu einem Rückstrom des Reabsorbates in die Harnkanälchen kommt, wie LEWY und WINDHAGER [3] im Anschluß an ihre ersten Ergebnisse zur Drosselung der Reabsorption bei erhöhtem kolloidosmotischem Druck diskutieren, ist für die Netto-Resorption ohne Bedeutung. Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen, um diese Frage zu klären.

Während wir früher ausführlich über Beobachtungen des proximalen Tubuluskollapses berichtet haben (STEINHAUSEN u. a. [7]) und auch in der vorliegenden Filmreihe mikrokinematographische Dokumentationen hierzu vorgelegt haben (STEINHAUSEN [14]), soll jetzt eine Darstellung der von GERTZ [2] angegebenen, unter 3. genannten Methode der Spaltung eines Öltropfens (split drop) erfolgen.

Das Prinzip dieser sog. Split-drop-Methode besteht darin, mit Hilfe einer doppelläufigen Glaskapillare sowohl ein — den tubulären Harnstrom blockierendes — Öl, als auch eine — tubulär resorbierte — Testlösung in ein und dasselbe Nephron zu injizieren. Hierbei läßt man nach Punktion des glomerulumfernen Abschnittes einer proximalen Tubulusschlinge zuerst das blockierende Öl (mit Sudan-schwarz gefärbtes Rizinusöl) vom tubulären Harnstrom stromabwärts tragen. Sobald der Nephronabschnitt zwischen Punktionsstelle und dünner HENLEScher Schleife gefüllt ist (das blockierende Öl bleibt in der Regel vor dem engen Segment der dünnen HENLESchen Schleife liegen), führt weitere Ölinjektion auch zur Füllung eines proximalen Nephron-

abschnittes entgegen der tubulären Harnstromrichtung. In diesem Moment wird über den anderen Schenkel der Punktionskapillare Testlösung und nachfolgend gleich wieder etwas Öl injiziert. Die Testflüssigkeit ist jetzt vom tubulären Harnstrom beiderseits durch Öl getrennt — die Ölsäule ist damit gespalten (daher: Methode des gespaltenen (Öl)-Tropfens, engl. split droplet). Die Länge des — mit Testflüssigkeit gefüllten — Harnkanälchenabschnittes (Testtropfen- bzw. Testsäulänge) wird als Entfernung der beiden Ölsäulen voneinander fortlaufend mikrophotographisch gemessen. Durch tubuläre Resorption der Testlösung und durch das gleichzeitige Nachrücken der näher am Glomerulum liegenden Ölsäule (treibende Kraft hierfür ist der Filtrationsdruck) nimmt die Länge der Testsäule ab. Angegeben wird die Halbwertszeit der Resorption oder diejenige Zeit, welche verstreicht, bis die Länge der Testsäule um die Hälfte kürzer geworden ist (vgl. Abb. 1)¹.

Tabelle 1

Halbwertszeit des Split-drop bei Standardtestlänge 90 μ	11,0 \pm 1,56 s ($n = 10$)
Halbwertszeit des Tubuluskollaps	5,0 \pm 0,42 s ($n = 8$)
Proximale Passagezeit (Lissamingrün-Methode)	8,4 \pm 0,43 s ($n = 14$)
Proximaler Tubulusradius (Kontrollen)	9,9 \pm 0,31 μ ($n = 14$)
Proximaler Tubulusradius (im Split-drop-Versuch)	18,7 \pm 0,30 μ ($n = 18$)
Mittlere proximale tubuläre Stromstärke $\cdot 10^{-5} \cdot$ Tubuluslänge	3,7 \pm 0,34 mm ³ \cdot s ⁻¹ ($n = 14$)*
Proximale tubuläre Resorption $\cdot 10^{-5} \cdot$ Tubuluslänge bestimmt durch Split-drop-Methode	5,0 \pm 1,95 mm ³ \cdot s ⁻¹ ($n = 10$)*
bestimmt durch Halbwertszeit des Tubuluskollapses	3,1 \pm 0,46 mm ³ \cdot s ⁻¹ ($n = 8$)*

Daten zum tubulären Harnstrom und zur tubulären Reabsorption an der Nierenoberfläche von Kontrollratten unter Paraffinspülung (vgl. [6]).* (Die Differenz dieser Zahlen zu [6] ergibt sich dadurch, daß hier von den vorstehenden Mittelwerten ausgegangen wurde, während bei [6] jeweils die gemessenen Einzelergebnisse zur Berechnung von Stromstärke und Reabsorption benutzt wurden.)

¹ Die Split-drop-Methode kann auch als spezielle Variante der Mikroperfusionstechnik einzelner Tubulusschlingen aufgefaßt werden, welche von SHIPP et al. [4] 1958 entwickelt wurde und bei welcher ebenfalls ein Ölblock durch eine Testlösung gespalten wird. Allerdings wird bei dieser sog. Stationary Microperfusion Technique, welche mit mehreren einläufigen Punktionskapillaren arbeitet, nicht die Halbwertszeit der Resorption gemessen, sondern

In Tabelle 1 sind einige Daten zusammengestellt, in welchen aus der Halbwertszeit des Split-drop-Versuches (und im Vergleich hierzu auch aus der Halbwertszeit des Tubuluskollapses) die Größe der proximalen tubulären Reabsorption bestimmt wurde (vgl. [6]). Im einzelnen wurde hierbei mit Hilfe des auflichtmikroskopisch ermittelten Tubulusradius das Volumen berechnet, welches in der Beobachtungszeit aus dem Tubuluslumen verschwindet. Gleichzeitig wurde der mittlere tubuläre Harnstrom berechnet. Dieser ergibt sich als Produkt aus Tubulusquerschnitt und Strömungsgeschwindigkeit. Die Strömungsgeschwindigkeit (Quotient aus Tubuluslänge und Passagezeit) ist wie die tubuläre Resorption nur in relativen Einheiten angegeben, da in diesen Versuchen die Tubuluslänge nicht bestimmt wurde. Bei der Anwendung der Split-drop-Methode ist zu beachten, daß die Blockade des tubulären Harnstroms durch das injizierte Öl zu einer starken Dilatation der untersuchten proximalen Tubulusschlingen führt. In Abb. 1 ist zu erkennen, daß bereits nach der intratubulären stromabwärts gerichteten Ölfüllung die stromaufwärtigen, also näher am Glomerulum gelegenen Tubulusschlingen deutlich erweitert sind. Eine Nichtbeachtung dieser Dilatation hat zu dem Fehlschluß auf eine vermehrte Reabsorption bei Tubuluslumenerweiterungen (z.B. durch Ureterdrucksteigerung) geführt [6]. Es ist ferner darauf zu achten, daß die Länge der Testsäule genügend groß gehalten wird, da speziell bei zu kurzen Längen (unter 90μ) zu kurze Halbwertszeiten gefunden werden [6]. Offen gelassen muß die Frage bleiben, inwieweit die Ölblocks zu einer vollständigen Abdichtung der Testsäulen gegenüber der mit Öl bedeckten Tubuluswand führen. Unvollständige Abdichtungen fallen besonders bei kurzen Testsäulen ins Gewicht, so daß hier eine Erklärungsmöglichkeit für die kürzeren Halbwertszeiten bei kürzeren Testtropfenlängen zu suchen ist.

Durch eine Modifikation der Split-drop-Methode, welche im zweiten Teil des Films gezeigt wird, gelang es uns neben der Halbwertszeit der Resorption auch Konzentrationsänderungen im Testtropfen selbst während der Resorption zu bestimmen, vgl. auch Abb. 2 [9]. Hierbei wurde der Testtropfen mit einer 0,1—1,5 g prozentigen Lissamingrünlösung angefärbt, während die Ölsäule zur besseren Kontrastierung mit Sudan-rot markiert wurde. Änderungen der Farbintensität des Testtropfens konnten an Hand von farbigen Mikrophotogrammen mikrophotometrisch verfolgt werden. Die Verwendung von Lissamingrün zur Anfärbung des Testtropfens bot sich deshalb an, weil wir aus früheren Untersuchungen zur Messung der tubulären Passage-

die Testlösung selbst wird wieder zum Zwecke der Mikro-Analyse aspiriert. Diese Technik hat sich besonders am Kaltblüter (*Necturus*) bewährt (vgl. WINDHAGER [11]).

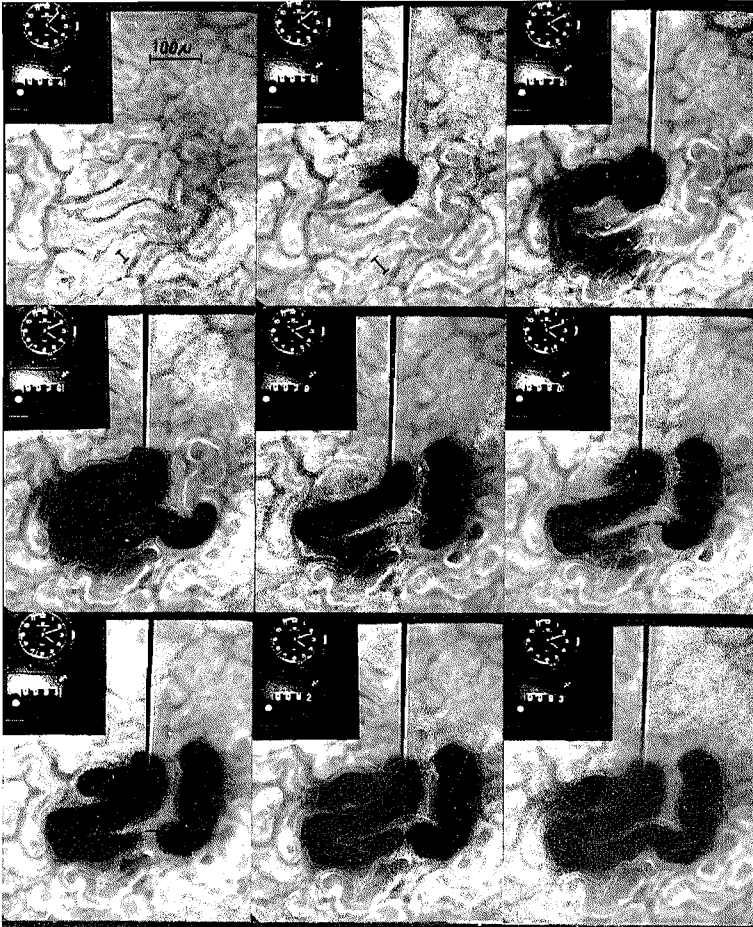


Abb. 1. Mikrophotogramme von der Nierenoberfläche einer Ratte beim Splitdrop-Versuch. Mit einer Einspiegelungskamera wurden Bildnummer und Uhrzeit gleichzeitig registriert. Bild 0064: Zustand vor Einstich der Punktionskapillare. Bild 0066: Nach Einstich der Kapillare wurde etwas Öl injiziert. Bild 0072: Nach weiterer Ölinjektion sind gefüllte Tubuluschlingen von der Tiefe her durchscheinend sichtbar. Man vergleiche die weißen lumenbegrenzenden Säume (Bürstensäume) der nicht mit Öl gefüllten Tubuluschlingen mit dem Zustand vor der Punktion. Die dilatierten Schlingen sind die proximalen Abschnitte des punktierten Nephrons. Bild 0076: Weitere Ölinjektion führt auch zur Füllung eines weiter proximal gelegenen Tubulusabschnittes. Bild 0079: Jetzt ist die Ölsäule gespalten (Strichelung markiert die Länge der Teststrecke). Bild 0080, 0081 und 0082: Resorption der Testflüssigkeit durch Abnahme der Länge der Teststrecke erkennbar. Bild 0083: Die Ölsäule ist wieder geschlossen

zeiten wissen, daß dieser Farbstoff — zumindest in sichtbaren Mengen — tubulär weder resorbiert noch sezerniert wird [5], er verhält sich daher praktisch wie Inulin.

Mit dieser Modifikation konnte gezeigt werden, daß bei langen Testtropfen (über $100\ \mu$) im Verlauf des Split-drop-Versuches eine Konzentrationszunahme von Lissamingrün erfolgt, welche der Resorption des Lösungsmittelsvolumens (berechnet aus intratubulärem Durchmesser und Testtropfenlänge) entspricht [9]. Im Gegensatz hierzu wurde aber eine Zunahme der Lissamingrün-Konzentration bei Schädigungen der Tubuluswand vermißt. Insbesondere wurde nach Sublimatvergiftung

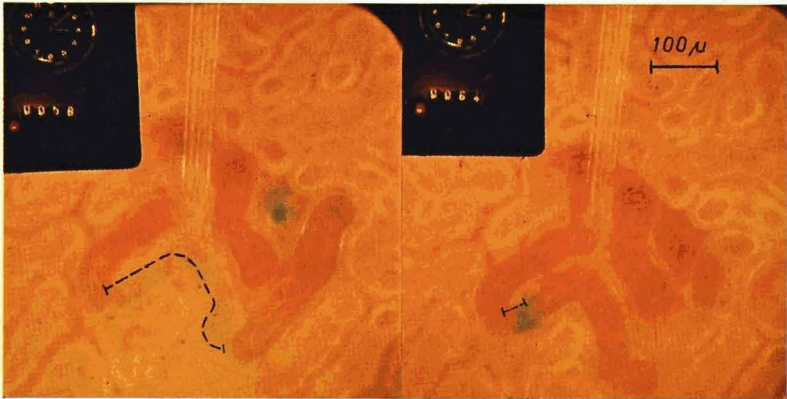


Abb. 2. Farbige Mikrophotogramme der Nierenoberfläche einer Ratte beim modifizierten Split-drop-Versuch. Bild 0058: Die Ölsäule ist mit gefärbter Lissamingrünlösung als Testlösung gespalten. Etwas Testflüssigkeit ist außerdem stromabwärts geflossen. Bild 0064: Durch Resorption des Lösungsmittels ist es zu einer deutlichen Zunahme der Farbstoffkonzentration im Bereich der Teststrecke gekommen. Der stromabwärts injizierte Farbstoff ist durch weitere Ölinjektion nicht mehr sichtbar

zwar eine Abnahme der Testtropfenlänge aber gleichzeitig auch eine Abnahme der Farbstoffkonzentration beobachtet. Da bereits BANK et al. [1] unter Sublimatvergiftung atypische Lissamingrün-Passagen gesehen hatte, war dies ein weiterer Hinweis auf eine Permeabilitätszunahme der proximalen Tubuluswand unter Sublimat-Vergiftung. Mit Hilfe von C_{14} -Inulin konnten wir diese Permeabilitätssteigerungen bestätigen [9].

Darüber hinaus gelang es uns inzwischen, nicht nur für Sublimatvergiftungen, sondern allgemein für akute hypoxische Schädigungen eine — unter Kontrollbedingungen nicht vorhandene — Durchlässigkeit der Tubuluswand für Inulin nachzuweisen. Dies hat für die Erklärung der

Mechanismen, welche beim akuten Nierenversagen beteiligt sind, besondere Bedeutung. Während bisher praktisch allein vasale Mechanismen zur Erklärung anhaltender Senkungen des glomerulären Filtrates bzw. als Ursache von Oligo-Anurie die Diskussion beherrscht haben, muß jetzt auch mit einer Rückdiffusion des Filtrates gerechnet werden. Clearance-Bestimmungen von Inulin oder Kreatinin etc. können unter solchen — pathologischen — Bedingungen nicht mehr als Maß des glomerulären Filtrates gelten.

Zur Entstehung des Films

Die Versuche wurden an ca. 300 g schweren Albinoratten beiderlei Geschlechtes durchgeführt. In Inactin-Narkose wurde nach Anlegen von Tracheal-, V. jugularis und A. carotis-Kathetern die linke Niere durch Flankenschnitt freigelegt und — wie in der Mikropunktionstechnik üblich — mit Hilfe eines nierenförmigen Löffels, welcher fest mit dem Operationstisch verankert war, fixiert. Die nicht dekapsulierte Niere wurde fortlaufend mit körperwarmem Paraffin gespült. In der A. carotis wurde kontinuierlich der arterielle Druck registriert. Über die V. jugularis wurde während der Präparation 4–5 ml einer physiologischen Kochsalzlösung injiziert, sowie zur Bestimmung der Clearance von C_{14} -Inulin eine Dauerinfusion mit einem Volumen von 0,1 ml/min, kg angelegt. Eine Messung der Passagezeit von Lissamingrün erfolgte mit 0,06 ml/Tier einer 10%igen Farbstofflösung. Die verwendeten doppelläufigen Punktionskapillaren wurden in üblicher Weise angeschliffen, der Spitzendurchmesser betrug außen 12 μ .

Die mikroskopische Beobachtung erfolgte mit einem Ultropak-Objektiv 11 (Leitz Wetzlar). Als Beleuchtungsquelle diente eine Xenonlampe (Wild-Universallampe, XBO-150) mit Wärmeschutzfiltern, als Filmeinrichtung eine Bolex-H-16-Kamera, kombiniert mit einem Wild-Kinoaufsatz. Die Aufnahmefrequenz betrug 24 B/s. Als Filmmaterial wurde Kodak-Ektachrome-ER-Tageslicht-Film verwendet.

Erläuterungen zum Film¹

Es wird zunächst die 12 μ breite Spitze einer doppelläufigen Glaskapillare gezeigt, welche durch einen Mikromanipulator geführt ist und welche an ihren nicht sichtbaren Enden jeweils mit einem eigenen Luftdrucksystem verbunden ist.

Mit einer doppelläufigen Kapillare lassen sich verschiedene Flüssigkeiten getrennt injizieren.

¹ Die kleingedruckten Abschnitte geben den Wortlaut des im Film gesprochenen Kommentars wieder. Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Wegen der hohen Viskosität des Öles ist der ölführende Schenkel der Kapillare mit einer Stickstoffdruckflasche mit entsprechenden Reduzierventilen verbunden; zur Ölinjektion wird ein Überdruck von 1 bis 5 Atm verwendet. Für die Injektion einer wässrigen Lösung wurde der mit der Hand dosierte Stempeldruck einer Rekordspritze oder kontrollierter Druck (Druckeichgerät nach GAUER) benutzt.

Bestimmung der tubulären Strömungsrichtung mit Lissamingrün (proximale Passage)

Für die Split-drop-Methode sind nur länger an der Nierenoberfläche verlaufende Tubulusschlingen geeignet. Es ist zweckmäßig, die intratubuläre Strömungsrichtung der zu verwendenden Schlingen zu kennen, da man den glomerulumferneren Abschnitt dieser Schlinge punktieren sollte (vgl. S. 4).

Es wird ein Ausschnitt der Nierenoberfläche einer lebenden Ratte unter Kontrollbedingungen gezeigt. Nach intravenöser Lissamingrün-Injektion (V. jugularis, s. oben) ist etwa 2 s nach der Injektion eine Farbstoffpassage durch die peritubulären Kapillaren der Nierenrinde zu sehen. Durch gleichzeitige glomeruläre Farbstoff-Filtration erfolgt einige Sekunden später auch eine Lissamingrün-Passage durch das Tubulussystem, wobei zu charakteristischen Zeiten proximale und distale Harnkanälchen vom Farbstoff passiert werden. Bei längeren Tubulusschlingen erlaubt die Lissamingrün-Methode die direkte Beobachtung sowie (mikrokinematographisch) die Messung der Strömungsgeschwindigkeit in diesen Schlingen.

Rechts in Bildmitte liegt eine für die Punktion geeignete kreisförmige Tubulusschlinge, die entgegen dem Uhrzeigersinn durchflossen wird. Der Farbstoff passiert weitere proximale Tubulusschlingen.

30 Sekunden später distale Farbstoffpassage

Nur 6% aller an der Nierenoberfläche der Ratte liegenden Tubulusschlingen gehören zum distalen Konvolut. Nach Passage des Farbstoffes durch die HENLEschen Schleifen sind diese distalen Schlingen angefärbt. Durch tubuläre Flüssigkeitsresorption und damit Resorption des Lösungsmittels für Lissamingrün erscheint der Farbstoff distal konzentrierter.

Die jetzt vom Farbstoff erreichten distalen Tubuli sind für die Split-drop-Methode, welche anschließend gezeigt wird, weniger geeignet als die proximalen.

Split-drop-Methode nach GERTZ

Durch die eingestochene doppelläufige Kapillare wird Sudanschwarz gefärbtes Rizinusöl injiziert und vom tubulären Harnstrom in Richtung HENLEScher Schleife fortgespült. Bei der Injektion wird auch der zum Glomerulum hin gelegene Tubulusabschnitt gefüllt.

Über den anderen Schenkel der Kapillare wird nunmehr physiologische Kochsalzlösung injiziert und damit der Öltropfen gespalten.

Das Prinzip dieser Methode besteht darin, die Halbwertzeit zu bestimmen, innerhalb welcher die physiologische Kochsalzlösung zwischen den beiden Ölblöcken resorbiert wird. Das Volumen der Testflüssigkeit wird aus der Distanz zwischen den beiden Ölsäulen und dem Durchmesser des Tubuluslumens berechnet. Eine Dilatation der Tubuli durch die Ölfüllung ist dabei zu berücksichtigen. Gestreckt verlaufende Tubulusabschnitte sind für solche Messungen besonders geeignet. Unter Berücksichtigung der proximalen Passagezeit von Lissamingrün und der Halbwertzeit im Split-drop-Versuch läßt sich die Flüssigkeitsresorption für das proximale Konvolut abschätzen.

Die Testflüssigkeit wird nach und nach resorbiert, bis die Ölblocks wieder vollständig vereinigt sind.

Modifikation der Split-drop-Methode

Die Methode wird nunmehr modifiziert, indem als Testflüssigkeit eine mit Lissamingrün gefärbte Kochsalzlösung Verwendung findet, deren zunehmende Farbkonzentration während der tubulären Flüssigkeitsresorption bestimmt wird. Um den Kontrast zu verbessern, wird sudanrotgefärbtes Rizinusöl verwendet.

Das Tubulussystem ist bereits mit dem Öl gefüllt. Jetzt wird die Ölsäule mit Lissamingrünlösung gespalten. Unter Normalbedingungen wie hier nimmt die Konzentration des Farbstoffes während der langsamen Resorption des Lösungsmittels zu.

Im Gegensatz dazu kommt es nach Schädigung des Tubulussystems (z. B. Sublimatvergiftung) zu einer Abnahme der Farbstoffkonzentration als Folge einer tubulären Permeabilitätssteigerung.

Das Lösungsmittel ist jetzt praktisch resorbiert, zurück bleibt nicht mehr in Lösung befindlicher Farbstoff.

English Version of the Spoken Commentary¹

In a double-barrelled micropipette a drop of black-dyed oil and a drop of water may be injected separately.

¹ The headlines in *italics* correspond with the subtitles in the film.

Bestimmung der tubulären Strömungsrichtung mit Lissamingrün (proximale Passage)

(Determination of the direction of tubular flow with Lissamine-green [proximal passage].) In the right central field, a circular tubular loop is lying, which is suited for micropuncture, its flow runs counter-clock-wise. Subsequently, passage of the dye into further, proximal tubular loops.

30 Sekunden später distale Farbstoffpassage

(30 seconds later distal passage of dye.) The distal tubuli just passed by the dye are less suited to the split-drop method shown from now on.

Split-drop-Methode nach GERTZ

(Split oil drop method according to GERTZ.) With the puncturing double-barelled micropipette castor oil is injected, which has been dyed with Sudan-black. It is transported by the tubular urinary flow in the direction of HENLE's loop. With a further injection that tubular segment is also filled which is located towards the glomerulus. Saline solution is injected through the other branch of the micropipette and thus the oil drop is split.

The principle of GERTZ's method consists in the determination of the half time in which the saline solution is absorbed between the two oil blocks. The volume of this test fluid is calculated from the length of the split oil column and the diameter of the tubular lumen. Dilatation of the tubules by the oil filling must be taken into consideration. Straight-running tubular segments are particularly well suited for such measurements. If the time of the proximal passage of the Lissamine-green and the half-time in the split-drop-test are considered, the net reabsorption of fluid may be estimated for the proximal convolution.

The test fluid is gradually absorbed until the oil-blocks re-unite again completely.

Modifikation der Split-drop-Methode

(Modification of the split drop method.) The principle of this modification is that a saline solution is used as test solution which is stained with Lissamine-green. The change in its concentration is determined during the absorption of tubular fluid. In order to obtain better contrasts, castor oil is used, which is dyed with Sudan-red.

As in the first part of the film, the tubular system has already been filled with oil. Now the oil is split with a Lissamine-green solution. Under normal conditions—as shown here—the concentration of the dye increases during the slow reabsorption of the solvent.

Contrarily, if the tubular system has been damaged (for example e.g. by intoxication with sublimate) a decrease in the dye-concentration occurs, due to an increase in tubular permeability.

The solvent is now practically reabsorbed. The residue is dye material that is not in solution.

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] BANK, N., B. F. MUTZ and H. S. AYNEDJIAN: The Role of "Leakage" in Anuria Due to Mercury Poisoning. *J. Clin. Invest.* **46** (1967), 695—704.
 - [2] GERTZ, K. H.: Transtubuläre Natriumchloridflüsse und Permeabilität für Nichteletrolyte im proximalen und distalen Konvolut der Ratteniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **276** (1963), 336—356.
 - [3] LEWY, J. E., and E. E. WINDHAGER: Peritubular Control of Proximal Tubular Fluid Reabsorption in the Rat Kidney. *Amer. J. Physiol.* **214** (1968), 943—954.
 - [4] SHIPP, J. C., I. B. HANANSON, E. E. WINDHAGER, H. J. SCHATZMANN, G. WHITTEMBURY, H. YOSHIMURA and A. K. SOLOMON: Single Proximal Tubules of the Necturus Kidney. Methods for Micropuncture and Microperfusion. *Amer. J. Physiol.* **195** (1958), 563—569.
 - [5] STEINHAUSEN, M.: Eine Methode zur Differenzierung proximaler und distaler Tubuli der Nierenrinde von Ratten in vivo und ihre Anwendung zur Bestimmung tubulärer Strömungsgeschwindigkeiten. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **277** (1963), 23—35.
 - [6] STEINHAUSEN, M.: Messungen des tubulären Harnstromes und der tubulären Reabsorption unter erhöhtem Ureterdruck. Intravitalmikroskopische Untersuchungen an der Nierenrinde von Ratten. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **298** (1967), 105—130.
 - [7] STEINHAUSEN, M., I. IRAVANI, G. E. SCHUBERT und R. TAUGNER unter Mitarbeit von A. BRAUN, H. v. EGIDY, F. P. ROHMANN und G. TAUGNER: Auflichtmikroskopie und Histologie der Tubulusdimensionen bei verschiedenen Diuresezuständen. *Virchows Arch. path. Anat.* **336** (1963), 503—527.
 - [8] STEINHAUSEN, M., A. LORETH und S. OLSON: Messungen des tubulären Harnstromes, seine Beziehungen zum Blutdruck und zur Inulin-Clearance (Intravitalmikroskopische Untersuchungen an der Nierenrinde von Ratten und Katzen). *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **286** (1965), 118—141.
 - [9] STEINHAUSEN, M., G. M. EISENBACH and V. HELMSTÄDTER: Concentration of Lissamine Green in Proximal Tubules of Antidiuretic and Mercury Poisoned Rats and the Permeability of these Tubules. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **311** (1969), 1—15.
 - [10] WALKER, A. M., and J. OLIVER: Methods for the Collection of Fluid from Single Glomeruli and Tubules of the Mammalian Kidney. *Amer. J. Physiol.* **134** (1941), 562—579.
 - [11] WINDHAGER, E. E.: *Micropuncture Techniques and Nephron Function.* Butterworths, London 1968.
 - [12] WIRZ, H.: Der osmotische Druck des Blutes in der Nierenpapille. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **11** (1953), 20—29.
 - [13] WIRZ, H.: Druckmessung in Kapillaren und Tubuli der Nieren durch Mikropunktion. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **13** (1956), 42—49.
-
- [14] STEINHAUSEN, M.: Mikrozirkulation von Lissamingrün in der Warmblüterniere. Film D 886 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1965.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1971 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Tonfilm, 16 mm, farbig, 48 m, 4½ min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen erfolgten in den Jahren 1965/66 während eines Studienaufenthaltes des Verfassers am Department of Physiology, Cornell University Medical College, New York, N. Y./USA. Veröffentlichung aus dem I. Physiologischen Institut der Universität Heidelberg, Priv.-Doz. Dr. M. STEINHAUSEN, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HÖFLING.

Inhalt des Films

Es wird zunächst an der normalen Nierenoberfläche einer narkotisierten Ratte die Passage von Lissamingrün zur Bestimmung der Strömungsrichtung in einer längeren proximalen Tubulusschlinge gezeigt. Diese Schlinge wird mit einer doppelläufigen Punktionskapillare angestochen und mit Sudanschwarz gefärbtem Rizinusöl gefüllt. Über den anderen Schenkel der Punktionskapillare wird dieses Öl dadurch gespalten, daß eine farblose Testflüssigkeit intratubulär injiziert wird. Die Resorption dieser Testflüssigkeit wird durch das Aneinanderrücken der gespaltenen Ölsäulen erkennbar. Es wird ferner eine Modifikation dieser sogenannten Split-drop-Methode gezeigt, welche Lissamingrün gefärbte Testflüssigkeit und zum besseren Kontrast hierzu Sudanrot gefärbtes Öl benutzt. Die Messung von Konzentrationsänderungen des Farbstoffes während des Aneinanderrückens der gespaltenen Ölsäulen erlaubt direkte Schlüsse auf die Art der Resorption des Lösungsmittels.

Summary of the Film

In the beginning the film shows Lissamine green passing through the kidney on the surface area of a normal anaesthetized rat in order to determine the direction of flow in a particular long tubular loop. This loop is punctured with a double-barrelled micropipette and filled with castor oil, stained with Sudan-black. This oil column then is split by intratubular injection of unstained saline through the other barrel of the pipette. The reabsorption of this testing fluid can be seen as the distance between the oil columns decreases.

After this a modification of this so-called split oil drop method is shown using a test solution stained with Lissamine green, and for getting a better contrast, castor oil stained with Sudan red. By measuring the changes in concentration of the dye as the split oil columns close up on each other direct conclusions can be drawn as to the type of reabsorption of the solvent.

Résumé du Film

On voit tout d'abord, à la surface normale du rein d'un rat narcotisé, le passage de vert de Lissamine destiné à déterminer le sens de circulation dans un tube recourbé proximal, assez long. Cette boucle est percée à l'aide d'un tube capillaire de ponction à deux canaux et remplie d'huile de ricin colorée avec du noir du Soudan. On sépare cette huile par en injectant intratubulairement un liquide témoin incolore l'autre branche du capillaire de ponction. La résorption de ce liquide témoin est reconnaissable au fait que les colonnes d'huile séparées se rapprochent les unes des autres. Il est montré en outre une modification de la méthode dite "split drop", pour laquelle on utilise un liquide témoin coloré au vert de Lissamine et de l'huile colorée au rouge du Soudan pour que le contraste soit plus manifeste. La mesure des changements de concentration du colorant au cours du rapprochement des colonnes d'huile permet de tirer des conclusions directes sur la manière dont la solution est résorbée.