

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film D 886/1965

Mikrozirkulation von Lissamingrün in der Warmblüterniere

Begleitveröffentlichung

von

Priv.-Doz. Dr. M. STEINHAUSEN

GÖTTINGEN 1966

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht
bestimmt

Länge der Kopie (16-mm-Tonfilm, deutsch od. engl., farbig): 120 m
Vorfühdauer: 11 min — Vorführgeschwindigkeit: 24 B/s

Inhalt des Films

Im ersten Teil des Films wird nach Darstellung der normalen, dekapsulierten Nierenoberfläche einer narkotisierten Albinoratte die Passage von intravenös injiziertem Lissamingrün an der Nierenoberfläche gezeigt. Der Farbstoff passiert die Vasa efferentia, die proximalen und die distalen Tubuluslumina zu charakteristischen Zeiten und ermöglicht dadurch — neben der Differenzierung proximaler und distaler Tubuli — die Bestimmung tubulärer Stromstärken. Es folgt die Darstellung des Verhaltens der proximalen und distalen Tubuluslumina bei Unterbrechung sowie bei erneutem Einsetzen der glomerulären Filtration.

Im zweiten Teil des Films wird die Passage von Lissamingrün an der Nierenpapille des Goldhamsters dargestellt (Farbstoff-Passage in Vasa recta, HENLE'schen Schleifen und Sammelrohren). Auf einen rhythmischen Farbstofftransport im Sammelrohrsystem wird besonders hingewiesen. Abschließend wird die Passage von Eiweißzyklern im Sammelrohrsystem gezeigt und hierbei die Wirkung osmotischer Diuretica demonstriert.

Die Aufnahme des Films erfolgte in den Jahren 1963/64 im
Physiologischen Institut der Universität Heidelberg

(Direktor: Prof. Dr. H. SCHAEFER)

Priv.-Doz. Dr. M. STEINHAUSEN

Bearbeitet und veröffentlicht durch

das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen

(Direktor: Prof. Dr.-Ing. G. WOLF)

Sachbearbeitung: Dr. K.-H. HÖFLING

Mikrozirkulation von Lissamingrün in der Warmblüterniere

M. STEINHAUSEN, Heidelberg^{1, 2)}

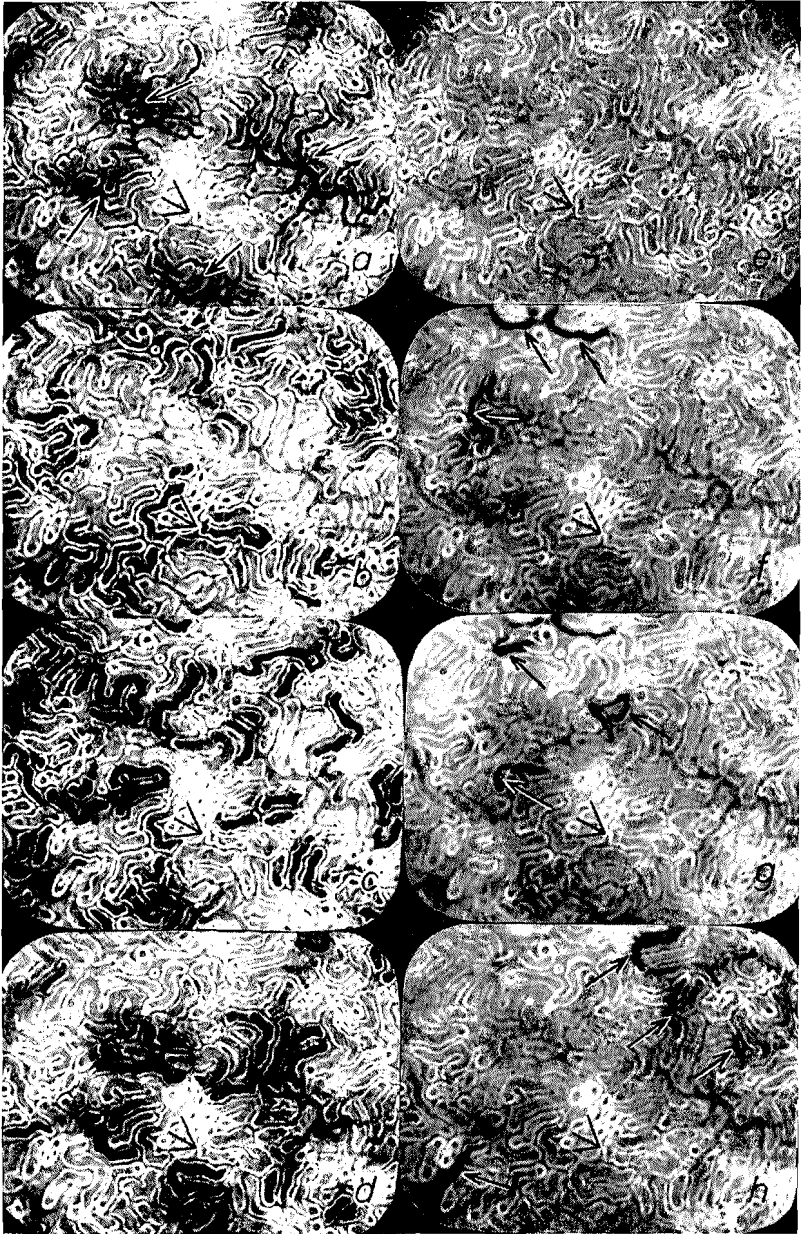
Allgemeine Vorbemerkungen

Seit den grundlegenden Untersuchungen von WALKER und OLIVER [17] ist die Nierenrinde von Albinoratten in zunehmendem Maße Studienobjekt der Nierenphysiologie geworden, welche mit Hilfe der Mikropunktion von Harnkanälchen Aufschlüsse über die normale und pathologische Funktion der Niere zu erlangen sucht. Zur Lokalisation der Punktionsstelle sind intratubuläre Kunststoffinjektionen mit nachfolgender Mazeration des Gewebes erforderlich, während zur Differenzierung proximaler und distaler Harnkanälchen (diese bestimmen neben Blutkapillaren das Bild der Nierenoberfläche) *in vivo* vielfach die von WIRZ [19] beschriebene Methode der intratubulären Indigokarmin-Injektion benutzt wurde, da eine Differenzierung proximaler und distaler Tubuli *in vivo* ohne Mikropunktion und Färbung auch dem Geübten keinesfalls immer möglich ist [18], [19]. Mit der Verwendung von Lissamingrün, einem Triphenylmethanderivat (MG 792,00), welches früher insbesondere in der Elektrophoresetechnik benutzt wurde, gelang uns eine wesentliche Vereinfachung der Differenzierung proximaler und distaler Harnkanälchen *in vivo* [5], außerdem wurden tubuläre Passagezeiten und Stromstärken direkt bestimmbar. Im folgenden soll das Prinzip der Lissamingrün-Methode erläutert werden, während Einzelheiten unseren vorausgegangenen Veröffentlichungen entnommen werden müssen [5], [7], [9], [12].

Lissamingrün hat im Gegensatz zu den meisten anderen von uns geprüften Farbstoffen die Eigenschaft, neben geringster Toxizität auflichtmikroskopisch auch bei der geringen Schichtdicke, wie sie bei Kapillaren auftritt, noch farbintensiv sichtbar zu sein. Dies verdankt der Farbstoff im wesentlichen seiner Wasserlöslichkeit. Intravenös im Stoß in die Blutbahn gebracht, ist der Farbstoff als Testsubstanz zur auflichtmikroskopischen Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutstromes z. B. auch am Auge brauchbar [6], [11]. An der Nierenoberfläche von Ratten erscheint der Farbstoff bei intravenöser Stoßinjektion in die Vena jugularis (0,25 ml/kg einer 10%igen Lissamingrün-Lösung) nach 2 bis 3 s in den Vasa efferentia, hat also zu dieser Zeit bereits die — auflicht-

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

²⁾ Herrn Prof. Dr. H. SCHAEFER zum 60. Geburtstag gewidmet.



mikroskopisch an der Nierenoberfläche nicht sichtbaren — Glomeruli passiert (Abb. 1). Die Besonderheit von Lissamingrün besteht nun darin, daß der Farbstoff bei Abklingen der Färbung der Vasa efferentia rund 6 s nach der Injektion in einzelnen Tubulusschlingen sichtbar wird und daß nach und nach immer wieder neue Tubulusschlingen vom Farbstoff passiert werden. Etwa eine halbe Minute nach der Injektion ist die Nierenoberfläche wieder entfärbt. Bis zu dieser Zeit waren im Mittel 94% aller oberflächlich sichtbaren Tubulusschlingen — die proximalen Tubulusschlingen (oder Harnkanälchen I. Ordnung) — einmal gefärbt. Eine zweite Farbstoffpassage in Tubulusschlingen der Nierenrinde beginnt im Mittel 48 s nach der Stoßinjektion. Jetzt werden die vorher nicht gefärbten distalen Tubulusschlingen sichtbar; sie entsprechen den restlichen 6%, wie wir [5] mit gleichzeitigen Mikropunktionsversuchen und Lissamingrün-Passagen in Anwendung der Differenzierungstechnik von WIRZ [19] nachweisen konnten. Wegen der stärkeren Harnkonzentration erscheinen die distalen Tubuli intensiver gefärbt; die Dauer der Färbung einzelner Tubulusschlingen ist gegenüber der Färbung der proximalen Tubuli verlängert. Im Mittel nach 140 s hat der Farbstoff alle distalen Tubuli passiert, und die Nierenrinde ist nun endgültig entfärbt.

Es liegen keine Gründe vor, daran zu zweifeln, daß die Lumenfärbung der Harnkanälchen nach intravenöser Lissamingrün-Stoßinjektion durch eine glomeruläre Filtration des Farbstoffes bei seiner ersten Passage in den Glomeruli zustande kommt [5]. Bei dieser ersten Farbstoffpassage werden alle Glomeruli praktisch gleichzeitig erreicht, so daß die Farbstoff-Filtration praktisch in allen Nephren gleichzeitig beginnt und dadurch entsprechende Harnkanälchenabschnitte eines jeden Nephrons etwa gleichzeitig passiert werden. Dies gilt insbesondere für die proximalen Konvolute, bei welchen die glomerulumnahen und die glomerulumfernen Abschnitte aller Nephren zu charakteristischen Zeiten vom Farbstoff durchströmt werden, wie wir mit Mikropunktionsversuchen zeigen konnten [5]. Dieser Befund ist für die Bestimmung mittlerer Passagezeiten und die mit Hilfe morphologischer Daten daraus abzuleitenden

Abb. 1. Auflicht-Mikrophotogramme der Nierenoberfläche einer 300 g schweren Ratte nach i. v. Stoßinjektion von 0,25 ml/kg einer 10%igen Lissamingrün-Lösung

Drei Hinweisstriche markieren die gleiche proximale Tubulusschlinge in den Bildern a—h. Die Niere wurde dekapsuliert, Niere und Bauchhöhle wurden mit körperwarmer Tyrodelösung gespült a: 3 s nach der Injektion Farbstoffpassage in den Gefäßen (Beginn der Passage von den Zentren her, auf welche die Pfeile gerichtet sind); b bis d: 9,5, 14 und 21,5 s nach der Injektion Farbstoffpassage durch proximale Tubuli; e: Entfärbung der Nierenoberfläche; f bis h: 85, 95 und 123 s nach der Injektion Farbstoffpassage durch distale Tubuli (durch Pfeile markiert)

Abbildungsmaßstab 35 : 1

(Nach M. STEINHAUSEN [5]; Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1963)

Stromstärken von besonderer Wichtigkeit. Die Passagezeit für den an der Nierenoberfläche liegenden Anteil des proximalen Konvolutes erhält man, wenn man die Zeit zwischen dem Beginn der Farbstoffpassage in einzelnen proximalen Tubuli und dem Beginn der Farbstoffpassage in denjenigen Tubuli bestimmt, welche im Verlauf der Lissamingrün-Passage zuletzt an der Nierenoberfläche gefärbt erscheinen [12]. Diese Passagezeit ist dann länger, wenn die dekapulierte Niere mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung bzw. Tyrodelösung gespült wird

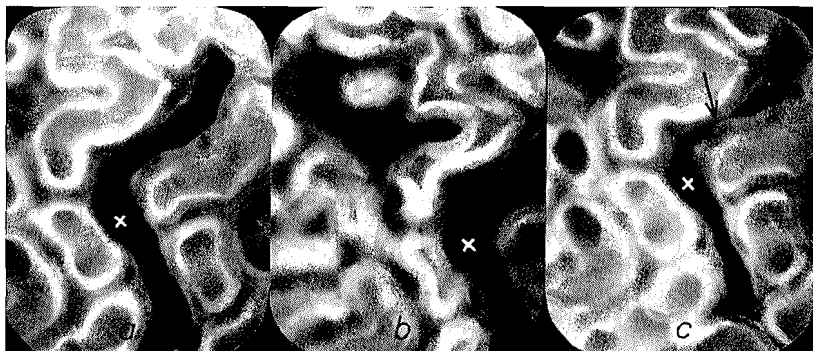


Abb. 2. Aufricht-Mikrophotogramme der Nierenoberfläche einer 320 g schweren Ratte

a: Lissamingrünpassage durch einen distalen Tubulus; welcher in den Bildern a—c durch ein Kreuz an gleicher Stelle markiert ist; b: Zustand nach Aortenabklemmung. Die proximalen Tubuli sind weitgehend kollabiert, die weißen Säume (Bürstensäume) liegen z.T. direkt aufeinander; c: 2,5 min nach Wiederöffnung der insgesamt 4 min geschlossenen Aortenklamme erscheint der distale Tubulus partiell komprimiert (Pfeil)
Abbildungsmaßstab 195 : 1

(Nach M. STEINHAUSEN, I. IRAVANI, G. E. SCHUBERT u. R. TAUGNER [10])

(wie im vorliegenden Film) — im Gegensatz zu den Versuchen, bei welchen die nicht dekapulierte Niere mit körperwarmem Paraffin¹⁾ gespült wurde. Gleichzeitig sind bei Paraffinspülung die Tubuluslumina enger. Unter Kontrollbedingungen fanden wir jetzt [13] eine proximale Passagezeit für den sichtbaren Anteil des proximalen Konvolutes unter Tyrodelösung von $13,1 \pm 1,2$ s und unter Paraffin von nur $8,4 \pm 0,43$ s. Messungen der proximalen Tubulusradien ergaben dabei unter Tyrodelösung $13,8 \mu$ und unter Paraffin $9,9 \mu$.

Es bestand lange eine Diskrepanz zwischen histologischen und intravitalmikroskopischen Befunden über die Frage der Weite der proximalen Tubuluslumina, welche normalerweise vom Histologen eng und vom Mikropunkteur weit gefunden wurden. Wir fanden nun in unabhängiger

¹⁾ Paraffinum liquidum.

Übereinstimmung mit THURAU und DEETJEN [15], HANSEN [3] und SWANN [14], daß beim Sistieren der glomerulären Filtration (Tötung des Versuchstieres, Exzision der Niere oder Drosselung der Blutzufuhr) innerhalb von 20 s ein Kollaps der proximalen Harnkanälchen auftritt (Abb. 2), wobei wir insbesondere zeigen konnten, daß nicht nur die Lumina der proximalen Tubuli unter den Bedingungen des Filtrationsstopps weitgehend verlegt werden, sondern daß es auch zu einer ent-



Abb. 3. Auflicht-Mikrophotogramm der Papillenoberfläche eines 60 g schweren Goldhamsters. Lissamingrünpassage durch absteigende Vasa recta, 7 s nach der Farbstoffinjektion (Tyrodespülung)

Abbildungsmaßstab 55 : 1
(Nach M. STEINHAUSEN [7])

sprechenden Abnahme der Außendurchmesser der proximalen Tubuli kommt. Ferner wurde die Vermutung von HANSEN [3] und ULLRICH [16] bestätigt, daß normalerweise die Rückresorptionsprozesse den Filtrationsstop überdauern [10]. Bei Paraffinspülung (s. oben) ist auch die Kollapszeit proximaler Tubuli kürzer und beträgt im Mittel 8 s ([13], vgl. auch [4]). Gleichzeitig sahen wir, daß die distalen Tubuli zwar während des Sistierens der glomerulären Filtration offen bleiben, aber bei Wiederentfaltung der proximalen Tubuli ebenfalls einen Tubuluskollaps zeigen können. Dies deuten wir als Folge einer Kompression distaler Tubuli durch proximale während des Auftretens übernormaler intratubulärer Druckdifferenzen in beiden Tubulusabschnitten, welche sich während des Wiedereintritts der glomerulären Filtration einstellen.

Beim Goldhamster ragt die Spitze der Nierenpapille etwa 2 mm ins Nierenbecken hinein — eine anatomische Besonderheit von Wüstennagern, welche erstmals von WIRZ [18] zu Mikropunktionsversuchen an den Vasa recta und den HENLESchen Schleifen nach chirurgischer Freilegung der Papillen genutzt wurde. Bei auflichtmikroskopischer Beobachtung dieser — vom Ureter her freipräparierten — Papillenspitze sind



Abb. 4. Mikrophotogramm der Nierenoberfläche eines 50 g schweren Goldhamsters. Lissamingrünpassage durch HENLESche Schleifen

(Der Pfeil weist auf den Übergang vom engeren zum weiteren Abschnitt der absteigenden ‚dünnen‘ HENLESchen Schleife; sogenannte ‚dicke‘ HENLESche Schleifenanteile sind an der Papille nicht sichtbar)

Abbildungsmaßstab 95 : 1
(Nach M. STEINHAUSEN [7])

ausschließlich Vasa recta zu erkennen, während nach intravenöser Lissamingrün-Stoßinjektion zunächst eine Farbstoff-Passage in den absteigenden Vasa recta sichtbar ist (Abb. 3), später aber auch vom Farbstoff passierte HENLESche Schleifen (Abb. 4) und Sammelrohre (Abb. 5 u. 6a) zu beobachten sind [7]. Hierbei fällt insbesondere ein rhythmischer Farbstofftransport im Sammelrohrsystem auf. Im Mittel passiert alle 6 s ein intensiv angefärbter Harnstrom von der Papillenbasis zur Pa-

pillenspitze das Sammelrohrsystem. Bei unserer Präparation der Nierenpapille werden nur diejenigen Nierenbeckenanteile gespalten, welche außerhalb der Niere gelegen sind, nicht jedoch Anteile, welche bis zur Basis der Papille ziehen und damit der Präparation *in vivo* entzogen sind. Peristaltische Kontraktionen dieser Anteile scheinen uns für den rhythmischen Harnstrom im Sammelrohrsystem verantwortlich zu sein.

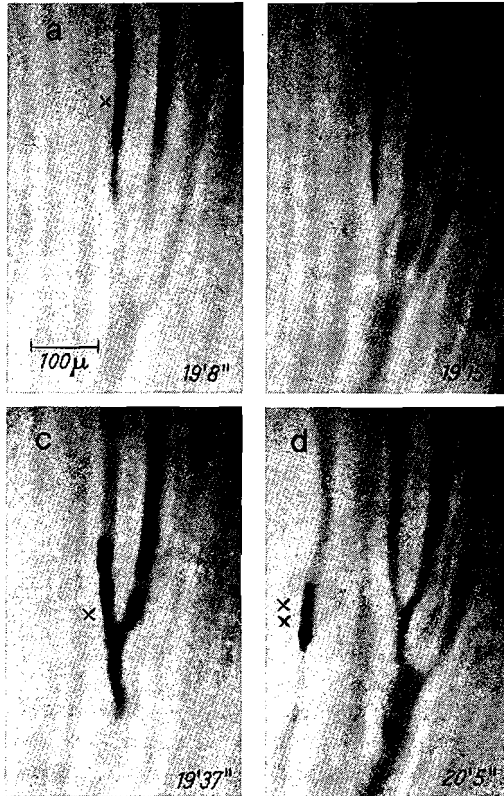


Abb. 5. Auflichtmikro-photogramme der Papillenoberfläche eines 50 g schweren Goldhamsters nach i. v. Injektion von 200 mg/kg einer 5%igen Myoglobinlösung und gleichzeitiger Lissamingrünpassage durch die Sammelrohre

Bei a und b ist ein Eiweißzylinder in einer Sammelrohre festgeklemmt (bei x); bei c langsamer Vorschub des festgeklemmten Zylinders und Kollision mit einem anderen Zylinder; bei d Harnpassage wieder frei, ein Zylinder in einem anderen Sammelrohr (bei xx)

Abbildungsmaßstab 90 : 1
(Nach M. STEINHAUSEN [7])

Im letzten Teil des Filmes wird die Ausscheidung von Eiweißzylindern durch das Sammelrohrsystem des Goldhamsters gezeigt. Hierbei wurde die Eigenschaft von Lissamingrün ausgenutzt, besonders intensiv das Eiweiß abgetöteter Zellen anzufärben — eine Eigenschaft, auf welche auch GOLDACRE und SYLVEN [1] bei Untersuchungen zur Tumordiagnostik hingewiesen haben. Werden im Sammelrohrsystem des Goldhamsters gleichzeitig mit Lissamingrün Eiweißzylinder ausge-

schieden — wir untersuchten Myoglobin-Zylinder¹⁾ —, so erscheinen diese Zylinder intensiv grünblau gefärbt und sind auflichtmikroskopisch während ihrer Passage durch das Sammelrohrsystem gut zu verfolgen. Im allgemeinen passieren die Myoglobin-Zylinder zusammen mit dem Harnstrom rasch das Sammelrohrsystem²⁾, z. T. bleiben die Zylinder aber auch vorübergehend an Sammelrohrverengungen, wie sie insbesondere

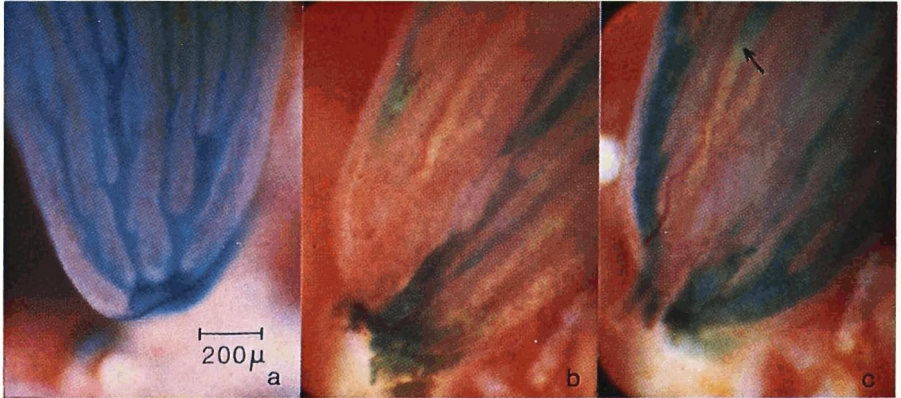


Abb. 6. Auflichtmikrophotogramme der Nierenpapillen von 40 g schweren Goldhamstern

a: Lissamingrünpassage durch das Sammelrohrsystem eines Kontrolltieres; b und c: Zustand nach i.v. Injektion von 200 mg/kg Myoglobin und Ausweitung des Sammelrohrsystems durch Myoglobin-zylinder. Die Zylinder scheinen z.T. goldgelb durch das Papillengewebe hindurch, z. T. sind sie durch Lissamingrün angefärbt; c zeigt den Zustand unmittelbar nach Gabe eines osmotischen Diuretikums, durch welches eine Druckerhöhung im Harnkanälchensystem eintritt und die Zylinder ausgestoßen werden

Abbildungsmaßstab 45 : 1

an den Verzweigungsstellen der Sammelrohre zu finden sind, hängen (Abb. 5). Eine vollständige Verstopfung des Sammelrohrsystems kann bei hohen Myoglobin-Dosen und gleichzeitiger starker Harnkonzentrierung (24 Stunden und längerer Trockenkost) beobachtet werden. Senkung des arteriellen Druckes begünstigt eine Sammelrohrverstopfung, bei welcher die Zylinder dicht nebeneinandergelagert die Sammelrohre der Papille erheblich dilatieren (Abb. 6). Im akuten Experiment kommt es bei einer Sammelrohrverstopfung durch die Gabe osmotischer Diuretica (z.B. Mannitol) zu einer weitgehenden Ausstoßung der Myoglobin-Zylinder. Im chronischen Experiment wird eine Verstopfung des Sammelrohr-

¹⁾ Das verwendete Myoglobin wurde freundlicherweise durch Herrn Dr. A. BLOEMER aus Pferdemuskulatur extrahiert.

²⁾ Geschwindigkeitsmessungen nach Einzelbildauswertung vgl. S. 14.

systems durch die Gabe feuchten Futters (Karotten) ebenfalls überwunden, wie wir kürzlich in Überlebensversuchen am Goldhamster zeigen konnten [8].

Zur Entstehung des Films

In Nembutal-Narkose wurde, nach Anlegen von Tracheal- und Jugulariskathedern, die linke Niere — wie in der Mikropunktionstechnik üblich — mit Hilfe eines nierenförmigen Löffels immobilisiert. Bei Ratten (Tiergewicht 300 g) wurde hierbei von einem Medianschnitt, bei Goldhamstern (Tiergewicht 40—60 g) von einem Paravertebralschnitt ausgegangen. Der Nierenlöffel erhielt für die Hilusgefäße einen genügend großen Ausschnitt und konnte mit dem Operationstisch fest verankert werden. So wurde die Übertragung von Atembewegungen auf die Niere weitgehend ausgeschaltet. Die in situ gelagerten — bei Ratten dekapulierten — Nieren wurden fortlaufend mit körperwarmer Tyrodelösung gespült. In die Spülflüssigkeit wurden die Tauchkappen der ULTROPAK-Objektive 6.5, 11 und 22 (LEITZ) gesenkt. Als Beleuchtungsquelle diente eine Xenonlampe (WILD-Universallampe) mit Wärmeschutzfiltern, als Filmkamera eine BOLEX-H-16 mit dem WILD-Kinosaufsatz. Die Aufnahme Frequenz betrug 24 B/s. Als Filmmaterial wurde Kodak-Ektachrome-ER-Tageslichtfilm verwendet.

Erläuterungen zum Film¹⁾

I.

Beobachtungen von Lissamingrün-Passagen an der Nierenrinde von Albinoratten (*Rattus norvegicus*):

Zunächst wird die normale Nierenoberfläche von Ratten in der Übersicht und bei stärkerer Vergrößerung gezeigt.

Auf der Nierenoberfläche sind Tubuluschlingen, von Blutkapillaren umgeben, sichtbar. Die helle Begrenzung ihrer Lumina entspricht wahrscheinlich dem Bürstensaum. 94% der Tubuluschlingen gehören zum proximalen Konvolut. Die distalen sind kleiner, ihre Begrenzung ist weniger hell. Eine sichere Unterscheidung zwischen proximalen und distalen Tubuli ist jedoch in vivo ohne Farbstoff-Injektion nicht möglich.

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

*Stoßinjektion von Lissamingrün 10% i. v.
0,25 ml/kg durch Jugulariskatheter*

Nach intravenöser Stoßinjektion von 0,25 ml/kg einer 10%igen Lissamingrünlösung über einen Jugular-Venen-Katheter wird bei schwacher Vergrößerung die Passage von Lissamingrün durch das proximale und distale Konvolut der Nierenrinde gezeigt.

Der Farbstoff erscheint in den Kapillaren — sodann stellen sich die Tubuli dar. Von der Vena cava cranialis gelangt der Farbstoff über den Lungenkreislauf bis zur Nierenrinde im Mittel in drei Sekunden; nach weiteren zwei Sekunden ist er in den glomerulurnahen Schlingen des proximalen Konvolutes sichtbar. Nach Passage aller proximalen Tubuli ist die Nierenoberfläche wieder entfärbt. Der Farbstoff durchläuft jetzt die HENLEschen Schleifen des Nierenmarkes und erscheint später im distalen Konvolut.

Aus den Passagezeiten für das proximale Konvolut lassen sich mit Hilfe morphologischer Daten Stromstärken berechnen, welche mit der Filtrationsgröße aus der Inulin-Clearance sowie mit Mikropunktionsergebnissen weitgehend übereinstimmen.

Es sei hier auf die gute Korrelation zwischen proximaler Stromstärke und Inulin-Clearance hingewiesen, wie wir sie kürzlich bei Katzen unter Drosselung der glomerulären Filtration durch Blutdrucksenkung (Blutentzug) fanden [12].

Ein bis zwei Minuten nach der Farbstoff-Injektion erreicht der gefärbte Harnstrom die distalen Tubuli und ermöglicht damit in vivo eine Unterscheidung von proximalen und distalen Tubuli. Die nacheinander eintretende Lumenfärbung distaler Tubuli wird auf der unterschiedlichen Länge der HENLEschen Schleifen beruhen, worauf auch die zunehmende Farbstoff-Konzentration in den später erscheinenden distalen Tubuli hinweist.

Wiederholung des gleichen Experimentes

Bei etwas stärkerer Vergrößerung (Auflicht-Immersionsobjektiv 11,0 ULTROPAK, LEITZ) wird das gleiche Experiment wiederholt:

Farbstoff-Passage durch proximale Tubuli. — Entfärbung der Nierenoberfläche.

Jetzt durchläuft der Farbstoff einen längeren, distalen Tubulus. Die Strömungsgeschwindigkeit ist distal langsamer, der Farbstoff konzentrierter. — Oben im Bild ein anderer distaler Tubulus.

Bei starker Vergrößerung (Auflicht-Immersionsobjektiv 22,0 ULTROPAK, LEITZ) wird eine einzelne, längere, proximale Tubulusschlinge nach intravenöser Stoßinjektion von Lissamingrün gezeigt. Die intratubuläre Passage des gefärbten Harnstromes kann hier direkt beobachtet werden.

Bei besonders günstigen Bedingungen zeichnet sich eine Farbfront auch in einzelnen proximalen Tubuli ab. Damit sind Strömungsgeschwindigkeiten direkt meßbar.

Verhalten der proximalen und distalen Tubuli bei Unterbrechung der glomerulären Filtration

Farbstoffpassage durch distale Tubuli und anschließende Aortenabklemmung

Unterbrechung der glomerulären Filtration durch Aortenabklemmung führt zum Kollaps der proximalen Harnkanälchen, da die tubuläre Reabsorption zunächst trotz des Zirkulationsstops weiterläuft. Dies gilt jedoch nur für die proximalen Harnkanälchen, während die Lumina der distalen unter den gleichen Bedingungen offen bleiben. Da die Lumina der distalen Tubuli im Gegensatz zu den proximalen jedoch ohne Farbstoff-Füllung schwer zu beurteilen sind, wurde die Aortenabklemmung während einer Farbstoffpassage durch die distalen Tubuli der Nierenrinde durchgeführt.

Die Aorta wird oberhalb der Nierenarterie abgeklemmt. Mit dem Absinken des Filtrationsdruckes kollabieren die proximalen Tubuli, während die farbstoffgefüllten distalen offen bleiben. — Aortenabklemmung — Zustand nach vier Sekunden.

Nach zwei Minuten sind nur die proximalen Tubuli kollabiert. Nach drei Minuten wird die Aortenabklemmung beendet und der Blutstrom zur Niere freigegeben. Die proximalen Tubuli entfalten sich wieder. Man beachte den immer noch offenen, hakenförmigen distalen Tubulus etwas unterhalb der Bildmitte, in welchem sich noch Farbstoff befindet.

Bei Wiederentfaltung aller proximalen Tubuli kollabieren die distalen. Dieser Zustand hält mehrere Minuten an. Hakenförmiger distaler Tubulus durch proximale Tubuli komprimiert. — Nach fast zehn Minuten fließt der Farbstoff ab; die distalen Tubuli entfalten sich wieder. — Ende der Farbstoff-Passage.¹⁾

II.

Lissamingrün-Passagen an der Nierenpapille

Syrischer Goldhamster

(Mesocricetus auratus)

Darstellung der normalen, ohne Verletzung der Niere zugänglichen Papillenspitze und ihr Verhalten nach Stoßinjektion von 1,2 ml/kg einer 10%igen Lissamingrün-Lösung in die Vena jugularis.

Nach der Präparation des Nierenbeckens vom Ureter her liegt die Papille frei. — Wiederum Stoßinjektion von Lissamingrün. Im Mittel erreicht der Farbstoff erst sechs Sekunden nach der Injektion die absteigenden Vasa recta. Die niedrigere Strömungsgeschwindigkeit weist auf die im Vergleich zur Nierenrinde geringere Markdurchblutung hin.

Nach einer Minute färben sich HENLEsche Schleifen und Sammelrohre. Es sind zwei Schleifen sichtbar.

¹⁾ Letzte Einstellung seitenverkehrt.

Die späte Darstellung der HENLESchen Schleifen wird auf eine durch die Narkose und die Operation herabgesetzte Filtrationsgröße zurückzuführen sein, wie wir aus entsprechenden Ratten- und Katzenversuchen unter erniedrigtem Blutdruck schließen können [12].

Der Transport des Farbstoffes durch die Sammelrohre ist rhythmisch, die Frequenz beträgt im Mittel zehn Farbstöße pro Minute. Der rhythmische Transport wird durch die peristaltischen Kontraktionen des in der Niere gelegenen, hier nicht freipräparierten Anteiles der Nierenbeckenskulatur hervorgerufen. Durch diese Kontraktionen wird die ganze Papille etwas verschoben.

Es folgt eine Wiederholung der wesentlichen Stufen des gleichen Experimentes:

Nochmals Farbstoff-Passage durch die absteigenden Vasa recta. — 43 Sekunden nach der Injektion: Farbstoff-Passage durch HENLESche Schleifen. — Wenige Sekunden später weitere Darstellung HENLEScher Schleifen. Eintritt des Farbstoffes in die Sammelrohre. — Hier nochmals rhythmischer Farbstoff-Transport in einzelnen Sammelrohren. — Auch an der Papillenspitze ist ein rhythmischer Farbstoffaustritt zu erkennen.

Durch die starke Tyrode-Spülung wird der an der Papillenspitze austretende Farbstoff schnell fortgespült. Hierdurch wird die Farbstoff-Ausscheidung zeitweise — allerdings nur scheinbar — vollständig unterbrochen.

Ausscheidung von Eiweiß-Zylindern im Sammelrohrsystem

Zunächst wird wiederum die Farbstoff-Passage durch Vasa recta und Sammelrohre gezeigt. Man beachte die Lumenverengungen der Sammelrohre an den Verzweigungsstellen. — Nach intravenöser Injektion von 120 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht Myoglobin ist die Ausscheidung von im Tubulussystem ausgefallenem Eiweiß als sogenannte Myoglobinzyylinder zu erkennen. Die Zylinder selbst sind durch Lissamin-grün angefärbt. An den Lumenverengungen wird die Passage der Zylinder behindert.

Die intratubuläre Strömungsgeschwindigkeit dieser Myoglobinzyylinder wurde durch Einzelbildprojektion bestimmt. Schätzungen der intratubulären Harnstromgeschwindigkeit nach diesen Messungen sind jedoch durch die Behinderung der freien Passage der Zylinder an den Sammelrohrwänden erschwert. Bei anscheinend freiem Fluß ergaben 26 Einzelmessungen eine mittlere Strömungsgeschwindigkeit für das Sammelrohrsystem von $5330 \pm 430 \mu/s$, während Spitzengeschwindigkeiten bis $11300 \mu/s$ gefunden wurden. Diese, gegenüber den Strömungsgeschwindigkeiten im proximalen und distalen Konvolut stark beschleunigten Harnstromgeschwindigkeiten weisen auf das Sammelrohrsystem als stärksten Strömungswiderstand im Verlauf des Harnkanälchen-Systemes hin [2], [9]. Der Einfluß der — durch die hohen Strömungsgeschwindig-

keiten bedingten — verminderten Verweilzeiten des Harnes auf die Harnkonzentrierung wird weiterhin zu prüfen sein (vgl. [12]).

Hier die Papille eines anderen Tieres eine Stunde nach Injektion einer gegenüber dem vorangehenden Experiment verdoppelten Myoglobinnmenge. — Nach Lissamingrün-Injektion ist eine Farbstoff-Passage in den Vasa recta erkennbar. Schon hierbei sind die mit rostbraunen Eiweißzylindern verstopften Sammelrohre angedeutet sichtbar. — Nach zwei Minuten ist die Blockade des gefärbten Harnstromes in den Sammelrohren der Papille deutlich. — 20 Minuten später erscheint das ganze Sammelrohrsystem durch Eiweißzylinder verstopft. — Nur geringste Harnmengen treten aus der verstopften Papillenspitze aus.

Es folgt eine Aufnahme der Nierenrinde des gleichen Versuchstieres. Auch die farbstoffgefüllten Tubulusschlingen der Nierenrinde weisen auf eine Abflußbehinderung des Harnes hin.

i. v.-Injektion von 10 ml/kg Mannit 15%

Es werden dem gleichen Versuchstier 10 ml/kg Körpergewicht einer 15%igen Mannitol-Lösung über den Jugularvenen-Katheter infundiert.

Nach Gabe eines osmotischen Diuretikums werden Eiweißbröckel aus dem Sammelrohrsystem ausgestoßen. Dies läßt auf einen intratubulären Druckanstieg schließen, welcher aus Mikropunktionsversuchen an der Nierenrinde bei osmotischer Diurese und Ureterabklemmung bekannt ist.

Es wird weiterer, umfangreicher Untersuchungen bedürfen, um die Bedeutung der tubulären Harnstromstärke, der Tubuluslumenweite (mit dem im Film gezeigten Sonderfall des Tubuskollapses) und der tubulären Strömungswiderstände (Sonderfall: Eiweißzylinder) für die Physiologie und Pathologie der Niere zu klären.

Die gezeigten Mechanismen mögen auch bei dem aus der menschlichen Pathologie bekannten, sogenannten „akuten Nierenversagen“ eine Rolle spielen. Die bisherigen Versuchsergebnisse weisen darauf hin, daß beim Goldhamster neben der Diurese die Blutdruckhöhe von entscheidender Bedeutung für eine Verstopfung des Sammelrohrsystems ist.

English Version of the Spoken Commentary

Tubular loops surrounded by blood-capillaries are visible on the kidney surface. The white delineation of the lumina probably corresponds to the brush border. Ninety-four per cent of the tubular loops *belong to the proximal convolution. The distal tubules¹⁾* are smaller and their delineation is not so bright. However, a clear distinction between proximal and distal tubules in vivo is impossible without dye-injection.

The dye appears first in the capillaries, and here we have the passage of dye through the proximal tubules. The dye reaches the renal cortex from the Vena cava cranialis via the lungs in three seconds on the

¹⁾ Passages of the text which are printed in italics have been, by mistake, omitted in the film.

average; two seconds later it is visible in the loops of the proximal convolution near the glomerula. After the dye has passed through all proximal tubules the surface of the kidney reassumes its normal colour. The dye now flows through the HENLE loops of the renal medulla and later appears in the distal convolution.

With the aid of morphological data, tubular volume-flows can be calculated from the time of passage through the proximal convolution. These flows accord to a large extent with the filtration volume as estimated by inulin-clearance and also with the results of micropuncture.

One to two minutes after the dye-injection the stained urine reaches the distal tubules allowing thus in vivo a distinction between the proximal and distal tubules. Successive staining of the distal tubules may be ascribed to the differing lengths of the HENLE loops; the higher concentration of dye in the delayed coloured distal tubules confirms this assumption.

Passage of dye through the proximal tubules. — Decolouration of the kidney surface.

The dye now flows through a longer distal tubule. The flow velocity is slower in distal tubules, the dye more concentrated. — At the top of the picture there is another distal tubule.

Under especially favourable conditions patches of dye appear in individual proximal tubules. Therefore the velocity of flow can be measured directly.

The aorta is clamped above the kidney artery. With decreasing filtration-pressure the proximal tubules collapse, whereas the distal tubules filled with dye remain intact. — Clamping of the aorta. — Condition after four seconds.

After two minutes, *only the proximal tubules have collapsed. After three minutes* the aorta clamp is released and the blood supply to the kidney is resumed. The proximal tubules open up again. Note just below the middle of the picture the stained hookshaped distal tubule which is still open. — While all the proximal tubules reopen the distal tubules collapse. This state lasts several minutes. Hookshaped distal tubule being compressed by proximal tubules. — Approximately 10 minutes later the dye flows away and the distal tubules reopen. — Passage of dye is completed.

After preparation of the renal pelvis from the ureter the papilla is exposed. — Further rapid injection of Lissamingreen. On the average the dye reaches the descending Vasa recta six seconds after the injection. The decreased flow velocity indicates a lower blood flow in the medulla than in the renal cortex.

One minute later the dye appears in the HENLE loops and collecting ducts. Two HENLE loops are visible.

The passage of dye through the collecting ducts occurs in rhythmical waves with a frequency of ten per minute. The rhythmical flow is caused by peristaltic contractions of the renal pelvic muscles which were not exposed in this preparation. These contractions cause slight movements of the papillae.

Again a passage of dye through the descending Vasa recta. — Forty-three seconds after the injection passage of dye through the HENLE loops. — A few seconds later further staining of HENLE loops. Dye enters the collecting ducts. — Here again the rhythmical passage of dye in individual collecting ducts. — Rhythmical outflow of dye can also be seen on the top of the papilla.

The passage of dye through the vasa recta and collecting ducts is again recognizable. Notice the narrowing of the lumina of the collecting ducts where they branch out. — After intravenous injection of myoglobin—120 milligramms per kilogramm body weight—the excretion of protein-cylinders can be seen. The myoglobin-cylinders are stained with Lissamin-green. At the narrow sections of the collecting ducts the passage of cylinders is impeded.

Here the papilla of another animal one hour after injection of twice the amount of myoglobin used in the previous experiment. — Following the injection of Lissamin-green the passage of dye is visible in the Vasa recta. Even now the collecting ducts obstructed with rust-coloured myoglobin-cylinders are just visible. — After two minutes the blockage of stained urine flow is clearly visible in the collecting ducts of the papilla. — Twenty minutes later the whole collecting duct-system is seen to be obstructed by protein-cylinders. — Only very small amounts of urine flow out of the blocked collecting ducts of the papilla.

Also, the stained tubule loops of the renal cortex of the same animal indicate that the urine flow is obstructed.

After the injection of an osmotic diuretic, protein particles are expelled from the collecting ducts. This would indicate an increase of the intratubular pressure, which is already known from experiments with micropuncture on the renal cortex after the application of osmotic diuretics and after clamping the ureter.

What is shown may also be of importance in what is known as “acute renal failure” in human pathology. It appears however that much more research has to be made in the future to clarify in detail the various pathogenetic factors contributing to acute renal failure.

Literatur

- [1] GOLDACRE, R. J., and B. SYLVEN: A rapid method for studying tumor blood supply using systemic dyes. *Nature* (Lond.) **184** (1959), 63—64.
- [2] GOYTSCHALK, C. W., and M. MYLLE: Micropuncture study of pressures in proximal and distal tubules and peritubular capillaries of the rat kidney during osmotic diuresis. *Amer. J. Physiol.* **189** (1957), 323—328.
- [3] HANSSSEN, O. E.: Early post mortem renal changes studied in mice with one kidney exteriorized.
2. The functional and the early post mortem morphology of the kidney. *Acta Path. Microbiol. Scand.* **49** (1960), 297—320.
- [4] LEYSSAC, P. P.: Some characteristics of the proximal tubular wall related to reabsorption during luminal occlusion following interruption of glomerular filtration. *Acta Physiol. Scand.* **63** (1965), 36—45.

- [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.: Lebendbeobachtungen von Farbstoff-Passagen in Netzhautgefäßen. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **166** (1963), 412—414.
- [7] STEINHAUSEN, M.: In-vivo-Beobachtungen an der Nierenpapille von Goldhamstern nach intravenöser Lissamingrüninjektion. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **279** (1964), 195—213.
- [8] STEINHAUSEN, M.: Ausscheidung von Eiweißzylindern durch das Sammelrohrsystem des Goldhamsters (Lebendbeobachtungen an der Nierenpapille). In: *Aktuelle Probleme der Nephrologie*. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966.
- [9] STEINHAUSEN, M.: Der tubuläre Harnstrom (dargestellt unter besonderer Berücksichtigung intravital-mikroskopischer Untersuchungen an Ratten-, Katzen- und Goldhamsternieren). *Habilitationsschrift*, Heidelberg 1965.
- [10] 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.
- [11] STEINHAUSEN, M., und A. LORETH: Lissamingrün als Kontrastmittel für mikrozirkulatorische Untersuchungen an Auge und Niere im Tierversuch. *Ber. dt. ophthal. Ges.* **67** (1965), 140—144.
- [12] 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.
- [13] STEINHAUSEN, M.: Measurements of flow rate and reabsorption of tubular urine during elevation of ureteral pressure in the rat. III. *Internat. Congr. Nephrol.*, Washington 1966.
- [14] SWANN, H. G.: The functional distension of the kidney, a review. *Texas Rep. Biol. Med.* **18** (1960), 566—595.
- [15] THURAU, K., und P. DEETJEN: Kinematographische Untersuchungen am Warmblüternephron. *Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-Phys. Kl.*, H. 2 (1961), 27—37.
- [16] ULLRICH, K. J.: zit. nach THURAU und DEETJEN (1961), s. [15].
- [17] 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.
- [18] WIRZ, H.: Der osmotische Druck des Blutes in der Nierenpapille. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **11** (1953), 20—29.
- [19] WIRZ, H.: Druckmessung in Kapillaren und Tubuli der Nieren durch Mikropunktion. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **13** (1965), 42—49.