(Aus dem physiologischen Institut zu Breslau.)

Ein Beitrag zur Physiologie der Niere.

Von

Manfred Bial, cand. med.

Mit 3 Holzschnitten.

Seitdem zuerst Meckel, dann besonders Leydig die Ablagerung von krystallinischen Bestandtheilen des Harnes in den Nierenepithelzellen mancher wirbellosen Thiere nachgewiesen, lag es für die Physiologie nahe zu prüfen, ob auch bei höheren Thieren ein ähnliches Verhältniss auffindbar sei. Es ist wohl verständlich, dass man zu diesem Zweck vorzüglich solche Thiere untersuchte, deren Harn die specifischen Bestandtheile nicht gelöst, sondern in fester Form enthält, das sind in der Wirbelthierreihe Vögel und Reptilien.

So veröffentlichte v. Wittich im X. Bande von Virchow's Archiv Beobachtungen an Nieren verschiedener Vögel: „Man sieht bei ihnen nun sowohl an längsverlaufenden als an querdurchschnittenen Kanälchen die Lagerung der harnsauren Salze in den das Lumen begrenzenden Drüsenzellen, bald nur als in den peripherischen Theilen der Zelle zerstreute, das Licht stärker brechende, unregelmässig rundliche, gelbliche Körnchen, bald als kompaktere, den Kern meist verdeckende Massen, die bei auffallendem Lichte silberglänzend, bei durchfallendem bräunlich erscheinen, bald endlich bilden dieselben eine ganz unregelmässig körnige, zusammenhängende Masse.“

An diese Beobachtungen, die seit so langer Zeit ungeprüft und unbestätigt dastanden, anzuknüpfen, veranlasste mich Herr Prof. Heidenhain; im folgenden gebe ich die Resultate meiner Arbeit.

v. Wittich hatte auf zweierlei Weise das obenerwähnte Ergebniss gewonnen: 1) durch Untersuchung frischer Nieren mittelst Zerzupfens und Abschabens, 2) durch Untersuchung von

erhärteten Organen. Schon auf dem ersten Wege glaubte er bestimmt, sich von dem Vorhandensein harnsaurer Salze in den Zellen überzeugt zu haben; doch giebt er selbst zu, dass Beobachtungen an frischen Nieren sehr wenig beweiskräftig sind „wegen der leichten Zerstörbarkeit der Nierenzellen und weil es äusserst selten glückt, solche isolirt zur Beobachtung zu bringen.“ Auch ich konnte beim Bearbeiten frischer Nieren nicht zu einem sicheren Entscheide über die vorliegende Frage kommen. Denn zerzupft man solche tubuli, die, wie schon v. W. beschreibt, durch ihren Silberglanz die Anfüllung mit Harn verrathen, dann ergiesst sich der Inhalt derselben, aus einer ungeheuren Menge von Harnkügelchen bestehend, über das ganze Gesichtsfeld, bedeckt die Zellen fast vollständig und es ist unmöglich, die ursprünglichen Lagerungsverhältnisse zu erkennen. Jedenfalls habe ich an frischen Nieren nie eine zweifellose Anfüllung einzelner Zellen mit Uraten beobachten können.

Um zu bestimmteren Anschauungen zu kommen, wandte ich mich daher, wie v. W., an die Untersuchung von in Alcohol erhärteten Nieren. Dabei habe ich an dünnen Schnitten von Nieren, die in absolutem Alcohol gehärtet und in Paraffin eingebettet waren, im Gegensatz zu v. W., niemals die Lagerung von harnsauren Salzen in den Epithelzellen gesehen, sondern immer waren Harnkügelchen, wo solche vorhanden waren, nur im Lumen der Kanäle sichtbar.

Um den Widerspruch zwischen den Beobachtungen von v. Wittichs und den meinigen zu erklären, suchte ich die Bedingungen der Versuche zu verändern; obzwar v. W. selber seine Thiere nicht in besondere, dem Untersuchungszwecke angepasste Verhältnisse gebracht hat. Es konnten an meinen negativen Ergebnissen vielleicht Schuld sein: 1) eine zu geringe Harnsecretion; 2) eine zu schnelle Fortschaffung des Harnes aus den secernirenden Zellen.

Die Harnsecretion steigerte ich bei Tauben durch mehrtägige Verfütterung von je 1 gr Harnstoff täglich oder durch Fütterung mit Harnsäure. Die Thiere bekamen augenscheinlich starke Polyurie, schieden im Verhältniss zum Normalzustande weit erheblichere Mengen Harn aus, dennoch waren in den Zellen nie Harnbestandtheile zu sehen. Bei Hühnern war ebendasselbe nach mehrtägiger, starker Fleischfütterung der Fall. Man könnte nun

einwenden, dass Hühner, die nicht an Fleischnahrung gewöhnt sind, in ihrem Stoffwechsel wegen der plötzlichen Kostveränderung nicht in der beabsichtigten und erforderlichen Weise beeinflusst worden seien; deshalb untersuchte ich auch die Nieren fleischfressender Vögel auf unsere Frage hin. Es wurden 2 Dohlen und 1 Bussard einige Tage lang nur mit Fleisch gefüttert, worauf auch sie grosse Mengen Harn liessen. Aber die Untersuchung der Nieren ergab wieder negative Resultate.

Schliesslich ist zu erwähnen, dass auch die Aenderung des Stoffwechsels, die durch die Jahreszeit hervorgerufen wird, keine Wandlung in meinen Bildern brachte: sowohl bei Thieren, die im Sommer, als auch bei solchen, die im Winter geschlachtet waren, zeigten sich die Harnkügelchen nur im Lumen der Kanälchen.

Der zweiten Möglichkeit, die meine Resultate erklären konnte, dass die Urate zu schnell aus den Zellen hinweggeschafft würden, suchte ich durch Ureteren-Unterbindung zu begegnen, da ja dadurch eine Harnstauung in der Niere hervorgerufen werden musste. Trotzdem fand ich die Zellen stets frei von harnsauren Salzen.

Besonders schlagend waren die Ergebnisse eines Versuches, in welchem das betreffende Thier die Unterbindung 12 Stunden überlebte. Es waren die Nieren durch die Menge der in ihnen aufgespeicherten Harnsäure makroskopisch weisslich, mikroskopisch fand ich in Uebereinstimmung mit Zalesky, Meissner u. a. in den Malpighi'schen Knäueln niemals Harnsäure ausgeschieden, dagegen lagen grosse Haufen von Harnkügelchen in den tubulis, aber nur in deren Lumen.

Da ich auf diese mannigfachen Arten meine Versuchsthiere in Bedingungen brachte, die für das Auftreten der fraglichen Erscheinung die denkbar günstigsten gewesen wären, und trotz dessen v. W.'s Behauptung unbestätigt fand, so muss ich wohl an einen Irrthum v. W.'s glauben; es bleibt mir noch übrig, nachzuweisen, wie ihm infolge seiner Untersuchungs-Methoden ein solcher begegnen konnte.

Erstlich nämlich hat v. W. an dem, was er für Urate hielt, nie eine beweiskräftige Reaktion vorgenommen, er beschreibt zerstreute, das Licht stärker brechende, unregelmässig rundliche, gelbliche Körnchen. Und, wenn auch harnsaure Salze die beschriebenen Eigenschaften nicht vermissen lassen, so sind dieselben doch noch nicht zwingend genug, um umgekehrt derartige Dinge

für Urate zu erklären. Die sicher beweisende Reaktion, die Darstellung von Harnsäurekrystallen durch Säurezusatz hat v. W. nicht gemacht oder erwähnt sie jedenfalls nicht, obgleich er Nierenschnitte in verdünnter Essigsäure untersucht. Ich selber habe an Nierenschnitten von Kaninchen, die Harnsäure nur in minimalen Mengen, vielleicht gar nicht ausscheiden, durch Behandlung nach v. W.'s Methode ähnliche, gelblich-bräunliche, glänzende Körnchen und Kügelchen als Artefakte hervorrufen können.

Aber selbst wenn v. W. sich nicht hat durch Kunstprodukte täuschen lassen, ist doch seine Untersuchungsmethode nicht gerade geeignet gewesen, derartig feine Verhältnisse aufzudecken. Denn er liess Vogelnieren, die er in Alkohol und Aether gehärtet hatte, an der Luft trocknen und legte dann Schnitte von solchen theils in Glycerin, theils in verdünnte Essigsäure. Bedenkt man, dass seine Präparate erst getrocknet, also geschrumpft, dann gequollen waren, dass ferner Rasiermesserschnitte nicht sehr dünn sind, dann erscheint ein Beobachtungsfehler sehr verzeihlich; es konnte ihm wohl begegnen, dass er infolge der damaligen, ungeeigneten Methode sich über den Ort der Harnkügelchen täuschte.

Meine weiteren Studien an Wirbelthieren mit breiigem Harn, Reptilien, von denen ich Eidechsen untersuchte, haben ebenfalls dieselben Verhältnisse wie bei den Vögeln ergeben: nirgends war in den Nierenzellen selbst eine Spur des Sekretes erkennbar.

Was Wirbelthiere mit flüssigem Harn anlangt, so konnte Heidenhain, wie er in Hermann's Handbuch, Band V, angiebt, ebenfalls nicht Harnstoff oder Harnsäure in den Epithelien durch Einlegen der Nieren in Salpetersäure nachweisen. Nachdem sich so gezeigt hatte, dass bei den Wirbelthieren eine nachweisbare Ansammlung spezifischer Harnbestandtheile innerhalb der Zellen nicht stattfindet, wandte ich mich an die Untersuchung der Wirbellosen; denn bei diesen hatten Leydig u. A., wo immer sie untersucht hatten, die Nierenzellen angefüllt mit Sekret gesehen. Näher studirte ich die Ausscheidung bei den Landschnecken, hauptsächlich bei der Gattung *Helix pomatia*. Bei derselben besteht die Niere, wie schon Meckel beschrieb, „aus einem Sack, der innen mit hervorspringenden Falten dicht besetzt ist.“ Auf diesen Falten sitzen dicht an einander gedrängt cylinderförmige Epithelzellen, deren dem Lumen zugewandte Hälfte gewöhnlich von Concrementen ausgefüllt ist. Es ist also der eigentliche Zell-

leib der Basis zugekehrt; er zeigt eine feine Granulation, öfters sind in ihm, wie sich aus Osmiumsäure-Präparaten ergibt, grössere und kleinere Fetttröpfchen anzutreffen. Der rundliche Kern, welcher reichlich Chromatin-Substanz enthält, liegt fast immer an der Grenze zwischen Protoplasma und Harn-Concretionen.

Was diese anlangt, so sind die Concremente alle von gelblich-grauem, glänzendem Farbenton, grosse, geschlossene, scharf abgegrenzte Kugeln mit strahliger Struktur des Randes, oder unregelmässig, bucklichte Drusen, bei welchen noch theilweise erkennbar ist, dass sie aus sehr kleinen, an einander gelagerten Kügelchen bestehen; oft auch finden sich bei gut gefütterten Schnecken eine ziemliche Menge solcher kleinen Harnkügelchen einzeln in den Zellen verstreut vor.

Bezüglich der chemischen Natur der Concretionen konnte ich zweifelhaft sein zwischen Harnsäure und Guanin, da Ewald und Krukenberg in der „Zeitschrift für Biologie“ Band 19, Seite 154 angeben, dass *Helix pomatia* bald den ersten, bald den zweiten Stoff ausscheidet. Es wurden also zur Entscheidung eine Anzahl Schneckenkieren fein zerhackt und in destillirtem Wasser ausgekocht. Dann zeigte sich, wie Herr Dr. Röhm ann zu constatiren die Güte hatte, dass das Decoct alle die Reaktionen des Guanins ergab, welche Kühne und Sewall in Band 3 der „Untersuch. aus dem physiol. Institut zu Heidelberg“ Seite 225 als charakteristisch für diesen Körper angeben. Es secernirten also meine Exemplare eine Guanin-Verbindung.

Wenn ich nun das Secret vorsichtig löse — dies geschieht bei einem Theil der Zellen schon durch Fixation der Nieren in wässerigen Flüssigkeiten, z. B. Pierinsäure, Müller'sche Flüssigkeit, — so bemerke ich, dass an Stelle des gelösten Guanins nicht ein mit Flüssigkeit erfüllter Raum sich befindet, sondern dass eine Substanz zurückgeblieben ist, welche durch Annahme der gewöhnlichen Färbemittel sich als organisch erweist. Zur Darstellung derselben führe ich als Lösungsmittel des Secretes auf: Wasser, Pierinsäure, Sublimatlösungen, Müller'sche Flüssigkeit, Osmiumsäure; jedoch darf man die auf Objektträger geklebten dünnen Schnitte nicht zu lange in den Flüssigkeiten verweilen lassen; denn dann verschwindet nach Lösung des Guanins auch die organische Substanz, weil sie wohl aus den angeschnittenen Zellen ausgespült wird.

Die besonderen Farbenreactionen dieses Guaninträgers sind: 1) Er giebt mit Böhmer'schem und Delafield'schem Hämatoxylin einen anderen Farbenton als das umgebende Protoplasma. 2) Er giebt mit Ehrlich-Biondi'scher Lösung eine violette, grünliche bis bräunliche Färbung, deutlich unterschieden von den Färbungen des Zelleibes und Kernes. 3) Lässt man erst Jod, dann nach Absaugung desselben durch Filtrirpapier verdünnte Schwefelsäure einwirken, dann färbt sich der organische Rückstand dunkel rothbraun, während das Protoplasma heller bleibt.

Durch diese Reactionen halte ich die organische Grundsubstanz des Guanins für wohl charakterisirt gegenüber dem Zellleib; es waltet hier wohl eine ähnliche Beziehung ob, wie bei dem Glycogenträger in den Leberzellen.

Diesen Träger habe ich auch bei den kleinsten Guaninkügelchen gefunden (Fig. I); die grösseren Exemplare zeigen nach Lösung des Guanins eine concentrische Schichtung der Grundsubstanz, möglicherweise, weil das Guanin sich schichtweise löst.

Fig. I.

Die Anhäufung des Guanins in den Zellen kann man sich auf zweierlei Art denken: Entweder schlägt die secernirende Zelle durch irgend welche Mittel mehr und mehr Concremente in ihrem Leibe nieder, dabei wird auch immer mehr und mehr die protoplasmatische Umgebung derselben in den fremden Stoff, dessen Reactionen ich gegeben habe, umgewandelt, bis so viel Secret abgeschieden ist, als die einzelne Zelle aufzunehmen vermag. Oder die Nierenzelle erfährt zuerst die Umwandlung eines Theiles ihres Leibes in die organische Grundsubstanz und darauf werden dann die Guaninconcremente abgelagert.

Ich muss hier eingehen auf die Art, wie Meckel die Anfüllung der Zellen mit Secret zu Stande kommen lässt; nach ihm sollen im Zellleib sich zuerst einige Körnchen ausscheiden, dann ein Secretbläschen sich bilden, in welchem zahlreichere Concremente liegen; dasselbe wachse immer mehr und mehr und fülle sich theilweise mit Harnbestandtheilen. Auf diese Vacuole legt er einen grossen Werth, ohne dieselbe lässt er die Secretion gar nicht vor sich gehen, weil er in allen Zellen, die schon erheblichere Mengen Harn enthalten, dieselbe sähe.

Dieser Anschauung kann ich mich nach meinen Befunden nur bedingungsweise zuneigen, denn ich habe lange Zeit hindurch bei frischer Zerzupfung, wie nach sorgfältiger Erhärtung in Alcohol oder Sublimat nie Zellen mit Vacuolen gesehen, sondern es lagen die grösseren, kleineren und kleinsten Guaninkugeln direkt im Protoplasma eingebettet (Fig. II). Bei einer andern Anzahl Schnecken wiederum fand ich in allen Zellen mit Flüssigkeit erfüllte Vacuolen, die die Harnbestandtheile einschlossen (Fig. III).

Fig. II.

Fig. III.

Schliesslich hatte ich auch Schnecken, deren Nierenzellen bei der gleichen Grösse der Concretionen zum Theil mit Vacuolen ausgestattet waren, zum Theil dieselben vermissen liessen. Doch bin ich im Stande, diese scheinbare Unregelmässigkeit im Secretionsvorgang zu erklären. Diejenigen Schnecken, deren Nierenzellen keine Vacuolen zeigten, waren während der ersten sehr trockenen Monate des Sommers gefangen worden. Als später häufiger Regen eintrat, waren in den Zellen der frisch eingefangenen Thiere überall Vacuolen zu finden. Es geht schon daraus hervor, dass die Vacuole nicht gebildet wird, damit die festen Harnbestandtheile hineinsecernirt werden, sondern dass sie durch Wasserabscheidung im Innern der Zelle entsteht und unabhängig von der Ablagerung fester Bestandtheile ist. Noch beweiskräftiger dafür sind die folgenden Versuche: 1) Ich liess eine Schnecke von der Anzahl, welche nach dem langdauernden Regen gefangen war, mehrere Tage lang in einem trockenen Glasgefäss leben und setzte sie dabei möglichst viel der Sonne aus; darnach fand ich in den Nierenzellen fast gar keine Vacuolen mehr, da das Thier viel Wasser in der trockenen Luft verloren hatte. 2) Ich spritzte einer

Trockenschnecke 10 cem Wasser per os in den Darmkanal, nach 24 Stunden fand ich in einer Anzahl Zellen die sehr grossen Guanin-Kugeln umgeben von hellen Vacuolen.

Oft sieht man beim Zerzupfen nicht nur Zellen mit Wasservacuolen, in denen Harnkügelchen sich befinden, im Gesichtsfelde, sondern es schwimmen auch isolirte Bläschen, mit Concrementen innen, umher. Danach scheint also bei der Wassersecretion sich das Protoplasma der Zelle in irgend einer Weise um das in den Zelleib secernirte Wasser zu verdichten, eine Art Membran auszuschcheiden, welche sich beim Zerzupfen mit ihrem flüssigen Inhalte lösen kann.

Um nicht blos die Secretion des Wassers, sondern auch die wässeriger Lösungen anderer Stoffe, z. B. Farbstoffe, zu untersuchen, injicirte ich durch den Mund in den Darm concentrirte Lösungen von Säurefuchsin. Ich fand dann in den Zellen an Stelle der reinen Wasservacuole eine solche, die mit rothgebliebenem Fuchsin gefüllt war. Setzte ich 5 % Kochsalzlösung zu dem Präparate, dann schrumpfte die Farbstoffvacuole zusammen, weil ihr Wasser, aber nicht der Farbstoff entzogen wurde; tödtete ich die Zelle durch Zusatz von verdünnten Säuren oder wartete ich ihr spontanes Absterben ab, dann diffundirte das Fuchsin über die ganze Zelle. In beiden Versuchen verräth sich eine Aehnlichkeit mit den Verhältnissen, wie sie der gefärbte Zellsaft innerhalb des Plasmasclauches vieler Pflanzenzellen bietet (z. B. in den Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescenia virginica*).

Für das indigschwefelsaure Natron fand ich das gleiche Verhältniss, entgegen dem Befunde Kowalewsky's, das Indigocarmin werde in Form von Krystallen in die Secretbläschen ausgeschieden. Es ist dieser Autor wohl auf solche Bilder gestossen, weil er in Alcohol erhärtete Nieren injicirter Thiere untersuchte. Denn bei solchen musste der Alcohol den blauen Farbstoff in der Vacuole ausfällen.

Nachdem ich bis jetzt die Aufspeicherung in den Nierenzellen verfolgt habe, komme ich jetzt zu der Frage über die eigentliche Abscheidung. Meckel meint, dass die Harnconcrete aus den Zellen befreit werden durch Dehiscenz, Aufplatzen derselben, als Grund dafür führt er an, dass er im Ausführungsgang eben dieselben Secretkugeln wie in den Zellen gesehen habe. Dem gegenüber steht die Behauptung von Vogt und Young

im „Lehrbuch der vergleichenden Anatomie“, die Zellen selbst würden mit Füllung abgestossen. Denn man könne im ductus excretorius öfters solche sehen. Ich muss nun der Anschauung von Meckel beistimmen aus folgenden zwei Gründen:

1) Wenn die Zellen total abgestossen würden, dann müsste man sehr reichliche Neubildungen von Zellen erwarten und infolgedessen viele Kerntheilungen antreffen; denn es wird bei guter Fütterung verhältnissmässig viel Harn entleert. Kerntheilungen jedoch habe ich durchgehends vermisst, auch wenn die Präparate mit aller Sorgfalt und mit den die Kerntheilungs-Figuren auf das beste darstellenden Mitteln vorbereitet waren, also z. B. mit Fixation in Pierinsäure oder Sublimat, darauf folgender Auswässerung und Erhärtung in steigender Alcoholreihe, sowie Färbung mit Hämatoxylin-Alaun oder Kalium bichrom. und Hämatoxylin.

2) Ich finde in dem secernirten Harn der Schnecken ausserhalb des Körpers keine Zellen, sondern Kugeln wie in den Nierenzellen. Zugleich kann ich auch in den Secretkügelchen des Harnes den organischen Träger constatiren. Es wird daher bei der Secretion derjenige Theil der Zelle, welchen das Guanin und dessen organische Grundsubstanz einnimmt, ausgestossen, die Zellen also eines nicht unerheblichen Theiles ihres Inhaltes beraubt werden. Dann werden natürlich hie und da auch einzelne Zellen zu Grunde gehen können, abgestossen und wieder ersetzt werden; aber auf keinen Fall ist eine solche Art der Secretion anzunehmen, wie sie Vogt und Young beschrieben haben.

Erklärung der Figuren.

Fig. I. Nierenzellen der *Helix pomatia* mit der organischen Grundsubstanz des Secretes.

Vorbehandlung: Pierinsäure, Wasser, steigende Alcoholreihe, Einbettung in Celloidin. Färbung mit Delafild'schem Hxματοxylin.

Fig. II. Nierenzellen von *H. p.* ohne Vacuolen.

Vorbehandlung: wie vorher.

Fig. III. Nierenzellen von *H. p.* mit Vacuolen.

Vorbehandlung: wie vorher.