

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.)

## Farbstoffausscheidung durch die Nieren.

Von

**Rudolf Höber** und cand. med. **A. Königsberg.**

---

Die folgenden Darstellungen knüpfen an die vor drei Jahren publizierten Untersuchungen von Gurwitsch über die „Physiologie und Morphologie der Nierentätigkeit“<sup>1)</sup> an. Diese Untersuchungen sind in dreifacher Beziehung von besonderem Interesse. Erstens ist durch sie wenigstens für die Froschniere endlich bewiesen worden, dass Heidenhain recht hat, dass der Farbstoff, welcher in den Zellen der Tubuli contorti resp. des zweiten Abschnittes der Harnkanälchen der Froschniere zu sehen ist, dorthin direkt aus den Blut- oder Lymphbahnen gelangt, welche die Kanälchen umspinnen, und dass Sobieranski's Ansicht von der Rückresorption des Farbstoffes von den Kanälen aus in die Zellen hinein falsch ist. Zweitens ist Gurwitsch der erste, der sich davon Rechenschaft gibt, dass die Ansammlung von „nicht vitalen“, d. h. von nicht lipoidlöslichen Farben in den lebenden Nierenepithelien, die vor ihm schon mehrfach gesehen worden war, vom Standpunkt der allgemeinen Physiologie des Protoplasmas problematisch ist und auf ganz besondere Eigenschaften der sezernierenden Protoplasten hinweist. Und drittens macht Gurwitsch einen bemerkenswerten Versuch, die verschiedenen histologischen Bilder der farbstoffsezernierenden Nierenepithelien als zeitlich aufeinander folgende Sekretionsstadien auszudeuten, indem er die Hypothese aufstellt, dass der Farbstoff an der Basis der Epithelien durch dort gelegene Vakuolen aus den Lymphbahnen heraus aufgenommen und gestapelt wird, und dass dann die Vakuolen, mit ihm beladen, lumenwärts wandern, um ihn am freien Rande der Zellen als ungelöste Massen in das Harnkanälchen auszuschütten.

---

1) Pflüger's Arch. Bd. 91 S. 71. 1902.

In den drei Richtungen, die weiteren Untersuchungen durch diese Ergebnisse gewiesen sind, bewegen sich die von uns ausgeführten Experimente. Ihre Hauptaufgabe war es zunächst, erstens festzustellen, ob die Nierenepithelien des Frosches beliebige lipoidunlösliche Farben zu stapeln vermögen, zweitens, ob das Vermögen, lipoidunlösliche Stoffe aufzunehmen, auf einer veränderten Permeabilität der Epithelien, wie Gurwitsch meint, oder auf anderen Eigenschaften beruht und drittens, ob das Verhalten der Säugerniere gegenüber den verschiedenen Farbstoffen dem Verhalten der Froschniere entspricht. Bei der Bearbeitung dieser Fragen ergab sich aber auch ein neuer Beweis dafür, dass die Farbstoffe in der Froschniere wirklich von den Zellen ins Kanallumen und nicht vom Lumen in die Zellen gelangen.

### **I. Die Ausscheidung vitaler und nicht vitaler Farbstoffe durch die Froschniere.**

Temporarien wurden verschiedene Farbstoffe in Substanz in den Rückenlymphsack gebracht, und nach 20—24 Stunden, während deren die Tiere trocken gehalten waren, wurden die Nieren frisch untersucht. Dünne Scheiben, die quer aus ihnen herausgeschnitten waren, wurden auf dem Objektträger etwas zerzupft und entweder ohne Zusatz oder nach Betupfung mit Ringer'scher Lösung, deren Kochsalzgehalt 0,65 % betrug, unters Deckglas gebracht. In selteneren Fällen wurden Dauerpräparate hergestellt.

1. Vitale Farben. Zur Untersuchung gelangten Toluidinblau und Methylenblau rectif. der Firma Grübler, Neutralrot und Bismarekbraun der Firma Bender und Hobein (München, Zürich). In allen vier Fällen zeigten sich die Glomeruli leicht gefärbt, aber die Kapseln von Farbstoff frei. Die Epithelien sämtlicher Abschnitte enthielten gefärbte Vakuolen; am reichlichsten lagen sie aber stets im zweiten Abschnitt. Die Vakuolen wiesen bei den verschiedenen Farbstoffsekretionen bemerkenswerte charakteristische Unterschiede auf. Toluidinblau und Neutralrot zeigten sich in kleinen, runden, intensiv und homogen gefärbten Tröpfchen, die den farblosen Kern umstellten und gegen das Lumen der Kanäle etwas

grösser zu sein pflegten. Das Methylenblau erfüllte meist als äusserst feiner, dunkelblauer Staub die Zellen. Bismarckbraun bildete, besonders im zweiten Abschnitt, schwarzbraune Tropfen in allen Dimensionen; besonders grosse aber, die an manchen Stellen offenbar aus kleinen konfluirt waren, lagen am freien Zellrande. Neutralrot und Bismarckbraun lagen ausserdem ausgeschieden in den Kanälen des zweiten Abschnittes, aber nicht als amorphe Massen, sondern entweder in genau den gleichen, gleichmässig gefärbten Tropfen, die in den Zelleibern zusehen waren, oder in grösseren, lumenfüllenden Klumpen, deren Konturen noch die Entstehung aus zusammengeklebten einzelnen Tropfen erkennen liessen.

2. Nicht vitale Farben. Zur Untersuchung gelangten Kongorot, wasserlösliches Anilinblau, Biebricher Scharlach, Ponceau B, wasserlösliches Indulin, wasserlösliches Nigrosin von der Firma Bender & Hobein, Bordeaux R und Indigkarmin von Grüber, Benzoazurin von Bayer, Benzopurpurin 4B von Sandot und indigschwefelsaures Natron von Kahlbaum. Sämtliche Farben wurden wieder vom Rückenlymphsack aus den Tieren beigebracht. Es zeigte sich danach: erstens, dass die Tiere sehr verschieden stark durchgefärbt wurden, dass z. B. nach der Einverleibung von Benzoazurin und Benzopurpurin sämtliche Organe so gut wie ungefärbt blieben, während z. B. Bordeaux und Ponceau alle Teile mehr oder weniger röteten; zweitens, dass die Ausscheidung durch die Nieren nach recht verschieden langer Zeit begann, nach 12 Stunden schon reichlich war bei wasserlöslichem Anilinblau, Ponceau, Kongorot, erst nach 40—48 Stunden bei Indulin, Nigrosin, Biebricher Scharlach, indigschwefelsaurem Natron, und dass sie bei Benzoazurin und Benzopurpurin überhaupt nicht merklich wurde. Worauf diese Unterschiede zurückzuführen sind, ist schwer zu sagen. Benzoazurin und Benzopurpurin verdanken ihre Ausnahmestellung jedenfalls ihrer kolloidalen Beschaffenheit, die schon ihre Resorption vom Rückenlymphsack aus verhindert, in dem man noch viele Tage nach der Eingabe Farbstoffmassen vorfindet. In welchem Masse die übrigen Farben Kolloidcharakter besitzen, ist uns nicht bekannt. Wenn übrigens manche der genannten Farbstoffe die ganzen Tiere stark durchfärben, so lehrt doch die mikroskopische Untersuchung z. B. der Muskeln alsbald, dass die Färbung keineswegs Vitalfärbung, d. h. Protoplasmafärbung ist, sondern dass sie nur auf der intensiven Färbung des Blutes und der Binde-substanzen beruht.

Was nun die Hauptsache, die Ausscheidung durch die Nieren, anlangt, so konnten wir uns überzeugen, dass mit Ausnahme von Benzoazurin, Benzopurpurin und Indigkarmin alle Farben in den Epithelien des zweiten, weniger des dritten Abschnittes in den schon vorher genannten Vakuolen aufzufinden sind. Die Nierenepithelien dokumentieren also ihre besonderen sekretorischen Leistungen, die in der Eliminierung jedes abnormen oder in abnormer Konzentration vorhandenen Blutbestandteils bestehen, in der Tat zunächst schon in der Art und Weise, auf die Gurwitsch, gestützt auf seine Versuche mit indigschwefelsaurem Natron, Kongorot und wasserlöslichem Anilinblau, aufmerksam machte: dass sie viele (vielleicht alle nicht kolloidalen) nicht lipoidlöslichen Substanzen in sich aufzunehmen und in den Vakuolen anzusammeln vermögen<sup>1)</sup>.

Bezüglich der Vakuolengrösse finden sich auch bei der Ausscheidung der nicht vitalen Farben ebenso charakteristische Unterschiede, wie sie sich für die Vitalfarben ergaben. Während z. B. die Aufstapelung des wasserlöslichen Anilinblaus stets aus relativ kleinen, an die Toluidinblauansammlung erinnernden Vakuolen besteht, sammeln sich nach der Einführung von Bordeaux grössere leuchtend rote Tropfen an, und, was besonders bemerkenswert ist, dieselben Tropfen finden sich wiederum in grossen Mengen in den Lumina der Kanäle angehäuft und zum Teil zu grossen Massen zusammengeklebt. Nicht vakuolär, sondern in amorphem Zustand liegt das indigschwefelsaure Natron in den Lumina.

Die Kapseln waren stets von Farbstoff frei, die Glomeruli manchmal, z. B. bei Jndulin- und Bordeauxeingabe, leicht gefärbt.

3. Diskussion der Befunde. — Das interessanteste Ergebnis scheint uns die Ausscheidung einiger Farbstoffe in den geformten vakuolären Gebilden zu sein. Es kann sich dabei kaum um ein Kunstprodukt handeln, entstanden dadurch, dass bei der

---

1) Von Dreser (Zeitschr. f. Biol. Bd. 21 S. 41. 1885) ist schon 1885 gezeigt worden, dass auch Säurefuchsin und, wenn schon nicht sehr deutlich, auch Säuregrün und Säureviolett als „Sekretkörnchen“ in den Epithelien der Froschniere zu sehen sind. — Ferner ist Dreser auch die Farblosigkeit der Niere bei Indigkarminfröschen aufgefallen; eine plausible Erklärung für dieses Verhalten ist momentan wohl noch nicht zu geben. Die Gallenkapillaren zeigten sich in unseren Indigkarminversuchen prachtvoll gefärbt.

Zerzupfung die randständigen grossen Vakuolen aus den Epithelien herausgepresst und ins Lumen verlagert werden; denn an vielen Stellen sahen wir die zusammengeballten Vakuolen auf ganze Strecken Ausgüsse der Kanallumina bilden. Noch weniger berechtigen die folgenden Versuche zur Bezeichnung „Kunstprodukt“: eine feine Glaskanüle wird in den Ureter einer Niere eingebunden und erst danach Bismarckbraun in den Rückenlymphsack gebracht; am folgenden Tage findet sich die Kanüle entweder mit Farbstoffmassen verstopft, oder der Harn in ihr enthält ungelöste Massen; mikroskopisch untersucht, zeigt sich der Farbstoff von genau dem gleichen Aussehen wie die zusammengepressten Vakuolenmassen in den Kanälen. Auch der Harn, der aus der Blase gesogen wird, enthält Vakuolen von Bismarckbraun oder von Bordeaux (nach Bordeauxfütterung) neben freiem gelöstem Farbstoff.

Es kann also wohl kein Zweifel darüber bestehen, dass der Farbstoff ungelöst, in besonderen, festen Sekretkörnern eingeschlossen, bis nach aussen gelangen kann. Nur darüber könnte man zweifelhaft sein, ob die normale Nierensekretion so oder ähnlich aussieht. Denn dem widerspricht ja sofort die allgemeine Angabe, dass der Harn des Frosches eine klare Flüssigkeit darstellt, und man könnte es recht wohl für möglich halten, dass hier durch einen abnormen Blutbestandteil, der in grossen Mengen zirkuliert, die Niere zu einer Art der Tätigkeit angeregt wird, wie sie normalerweise nicht vorkommt. Indessen ist hier vor allem an die Versuche von A. Schmidt<sup>1)</sup> zu erinnern, die uns erst nach Abschluss unserer Untersuchung bekannt wurden und eine willkommene Ergänzung derselben darstellen. Schmidt fand nämlich nach der Injektion von absolut klaren Lösungen verschiedener Karminpräparate in die Vene bei Kaninchen und Fröschen Abscheidung des Karmins in fester Form, aber nicht in amorphen, ungelösten Körnchen, die unter dem Mikroskop fast schwarz aussehen, sondern, offenbar in fester Lösung befindlich, in leuchtend roten, winzigen Tröpfchen. Diese feinen, roten Körner waren in grossen Mengen am Bürstensaum der Epithelien in der Kaninchenniere, nur äusserst selten in der Froschniere, in beiden Fällen niemals im Zelleib selbst zu sehen; vor allem lagen

---

1) Pflüger's Arch. Bd. 48 S. 34. 1891.

sie in den Lumina der Harnkanälchen, wo sie grössere kompakte Massen bildeten. Dass der Farbstoff nicht rein für sich, sondern in eine besondere, als Lösungsmittel fungierende Masse eingelagert und mit dieser abgeschieden war, liess sich beweisen; denn mit Ammoniak behandelt blassten die Körnchen allmählich ab, ohne Form und Grösse zu ändern, und „ist schliesslich die Farbe ganz verschwunden, so lassen sich auch die Konturen, wenigstens der feineren Körner, nicht mehr erkennen“ (l. c. S. 52). Es handelt sich also offenbar um ganz ähnliche Gebilde, wie wir sie beobachteten, nur, nach Beschreibung und Abbildungen zu urteilen, um Gebilde von sehr viel kleineren Dimensionen. Diese geringe Grösse würde es sicherlich schon einigermaßen schwierig machen, die Vakuolen in gefärbtem Zustand mit dem Mikroskop im Harn aufzufinden; in ungefärbtem könnten sie einem vollends leicht entgehen. Es wäre also wohl denkbar, dass auch die normalen, ungefärbten Harnbestandteile in kleinen Sekrettröpfchen eingeschlossen die Nierenepithelien verlassen und erst nachträglich entweder in den Kanälen oder sogar erst in der Blase aus ihnen ausgelaugt werden, und trotz der restierenden „Schatten“ könnte der Harn eine klare Flüssigkeit darstellen. Die von uns in den Kanälen und im Harn angetroffenen, mit Sicherheit aus dem Zellinnern stammenden gefärbten Tropfen würden dann nur besonders grosse Formen der regelmässig vorkommenden freien Sekretvakuolen darstellen. Es wäre allerdings auch möglich, dass die ausgestossenen Vakuolen sich gewöhnlich auf ihrem Wege bis in die Blase allmählich völlig auflösen, dass der Harn also nicht bloss scheinbar eine homogene Lösung darstellt, und dass nur so grosse Tropfen, wie wir sie bei der Ausscheidung des Neutralrots, des Bismarckbrauns und des Bordeaux sahen, unzerstört bis in die Blase gelangen.

Der Modus der Abscheidung in fester Form war bisher schon bekannt für das indigschwefelsaure Natron, aber da handelt es sich bekanntlich um amorphe Massen, die auch wir in den Kanälchen der Froschniere liegen sahen, nicht um die vakuoläre Ausscheidung. Diese Art Sekretion braucht nun durchaus nicht, wie es zuerst den Anschein hat, eine zweite, besondere Form der festen Sekretion darzustellen, sondern die amorphen Massen können sekundären Ursprungs sein. Wir haben uns davon überzeugt, dass die Löslichkeit von keiner der von uns verwendeten Farben durch eine 0,65 %ige Kochsalzlösung so stark beeinträchtigt wurde wie die des indigschwefelsauren

Natrons<sup>1)</sup>, und daher ist es wohl denkbar, dass auch das indigschwefelsaure Natron, ebenso wie vielleicht alle Farben, ursprünglich in kleinen oder kleinsten Vakuolen ausgeschieden, dann aus den Vakuolen ausgelaugt resp. mit diesen aufgelöst und nun erst durch die Salze des Harns ausgefällt wird<sup>2)</sup>.

Natürlich erhebt sich im Hinblick auf das Gesagte die Frage, worauf die verschiedene Grösse der Vakuolen bei den verschiedenen Farbstoffsekretionen zurückzuführen ist. Gurwitsch beschreibt als regelmässige Bestandteile der Epithelleiber Vakuolen von ganz verschiedenen Dimensionen und von ganz verschiedenen histochemischen Eigenschaften: grosse, mit Osmium sich schwärzende, seiner Meinung nach lezithinführende Vakuolen, kleinere, die einen koagulierbaren Inhalt haben, und mittelgrosse, besonders gegen das Lumen zu gelegene, deren Inhalt sich weder mit Osmium schwärzt noch gerinnt. Man könnte also meinen, dass verschiedene Vakuolen sich mit verschiedenen Farbstoffen imprägnieren, und dass darauf die verschiedenen Sekretionsbilder zurückzuführen sind. Das ist aber, wie später gezeigt werden wird, nicht der Fall; es sind nicht die präformierten grösseren Vakuolen, die bei Bismarckbraun und bei Bordeauxausscheidung durch ihre Färbung hervorgehoben werden. Dann bleibt aber wohl nichts anderes denkbar, als dass die Farbstoffe selbst einen Einfluss auf die Grösse der sich färbenden Vakuolen haben. In dieser Beziehung wäre vielleicht an die Experimente von Gürber und Heinz zu erinnern. Gürber<sup>3)</sup> entdeckte, dass, wenn Frösche mit den verschiedenen Lupetidinen vergiftet werden, im Protoplasma der Blutkörperchen Vakuolen auftreten, die den Blutkörperchen das Ansehen geben, „als wären Löcher mit einem Locheisen darin ausgestanzt worden“, und je nach der Art des eingespritzten Lupetidins variiert die Dimension der entstehenden Vakuolen. Heinz<sup>4)</sup> fand später, dass alle möglichen aliphatischen und aromatischen Amine solche Bilder erzeugen, dass Hydrazin und Aethylhydrazin kleine, Chlorammonium und Trimethylamin grosse Vakuolen bilden, und dass

---

1) Genauere Daten über die Löslichkeit des indigschwefelsauren Natrons siehe bei Grützner, Pflüger's Arch. Bd. 24 S. 447. 1881.

2) Dem indigschwefelsauren Natron analog verhält sich dann vielleicht von normalen Harnbestandteilen die Harnsäure.

3) Du Bois-Reymond's Arch. 1890 S. 401.

4) Handbuch der experim. Pathol. u. Pharmak. Bd. 1 S. 396 ff. 1904.

die Vakuolen sich schön mit Methylviolett färben lassen<sup>1)</sup>. Vielleicht nehmen in ähnlicher Weise die Farbstoffe Anteil an der Grössenbestimmung der Vakuolen in den Nierenepithelien, wenn auch daran festzuhalten ist, dass im allgemeinen die Vakuolen nicht erst durch die Farbe entstehen, sondern schon vorher vorhanden sind.

Schliesslich wollen wir noch betonen, dass, wenn unsere Versuche normale Verhältnisse zur Anschauung bringen, in den Bildern gleichzeitig ein neuer Beweis für Heidenhain's Lehre von der sekretorischen Funktion der Epithelien gelegen ist. Denn es kann wohl für ausgeschlossen gelten, dass die gefärbten Vakuolen, die innerhalb der Zellen und innerhalb der Kanäle das gleiche Aussehen haben, in den Kanälen sich bilden, um von da in die Zellen einzuwandern; vielmehr ist sicher die Ursprungsstätte die Zelle und der Weg von der Zelle ins Kanälchen.

4. Die gleichzeitige Ausscheidung zweier Farbstoffe durch die Froschniere. — Gurwitsch beschreibt, wie schon gesagt, als Zellinhalt Vakuolen von verschiedenen Dimensionen und von verschiedener chemischer Beschaffenheit, und der letzteren legt er eine wichtige physiologische Bedeutung bei.

Sache der sezernierenden Epithelien ist es ja, den nun bewiesenen Heidenhain'schen Aufstellungen entsprechend, nicht bloss alle möglichen Stoffe aus den Säften zu entnehmen, sondern sie auch zu konzentrieren, um sie in die Harnflüssigkeit abzugeben, die mindestens in bezug auf die sogenannten harnfähigen Stoffe eine konzentriertere Lösung darstellt als das Blut.

Als Konzentrationsmittel, als „Kondensatoren“ betrachtet nun Gurwitsch die Vakuolen, welche entweder verschiedene Lösungsmittel darstellen, die für die einzelnen harnfähigen Substanzen das Wasser an Lösungsvermögen übertreffen, oder welche verschiedene Stoffe enthalten, die die einzelnen harnfähigen Substanzen chemisch zu binden und dadurch zu speichern vermögen. „So können z. B. sämtliche allgemein vital eindringende Stoffe in den Granulae oder Vakuolen mit lipoidem Inhalt aufgespeichert werden . . . Zur Erklärung der Aufspeicherung von Stoffen, wie z. B. der Harnsäure u. a., kann man annehmen, dass viele Vakuolen salzartige Verbindungen

---

1) Auch bei der Vergiftung von Säugern kommt es in den Blutkörperchen zur Bildung von tropfenförmigen, die Oberfläche vorbuchtenden, färbbaren Ausscheidungen. Siehe Heinz, l. c.



enthalten, welche mit der in die Zelle eindringenden Harnsäure relativ leichter lösliche Verbindungen bilden,“ usw.<sup>1)</sup>). Aus den histologischen Bildern der farbstoffsezernierenden Niere entwickelt dann Gurwitsch die Hypothese, dass die Kondensatoren, die sich an der Zellbasis beladen, gegen das Lumen hin wandern und sich dort ihres Inhaltes entledigen. Die Art der Entledigung sich genau vorzustellen, macht allerdings rechte Schwierigkeiten; denn es ist nach Gurwitsch' Meinung wohl „von vorn herein auszuschliessen, dass Vakuolen mit einem fettigen oder fettartigen Inhalte oder mit eiweissartigen, gerinnbaren Stoffen ihren Inhalt in das Innere der Nierenkanälchen entleeren könnten, da ja weder Fett noch koagulierende Stoffe im Harn normalerweise auftreten“<sup>2)</sup>). Deshalb macht Gurwitsch die Annahme, dass „die Vakuole auf ihrer Wanderung zur freien Zelloberfläche durch chemische Umsetzungen und Austausch mit dem umgebenden Zellplasma sich ihres ursprünglichen Inhaltes entledigt und nun den Farbstoff resp. den harnfähigen Stoff weiterführt und beim Platzen an der Zelloberfläche sich vollständig entleert“<sup>3)</sup>).

Gegen diese Hypothese lässt sich nun aber sogleich ein Einwand machen. Wenn nämlich die Elimination des Farbstoffes wirklich so verlief, so müsste man gegen das Kanallumen zu in den Zellen den Farbstoff aus dem Zustand der vakuolären festen Lösung mehr und mehr in den des amorphen Niederschlages übergehen sehen. Aber weder beschreibt es Gurwitsch, noch konnten wir es je beobachten. Doch abgesehen davon führen uns unsere Versuche ja vielmehr gerade zu der Annahme, dass, wogegen Gurwitsch sich ausdrücklich wendet, wirklich die ganzen Vakuolen, also Vakuolensubstanz plus gestapeltem Farbstoff, ausgestossen werden. Es ergibt sich dann allerdings die schwierige Frage nach dem Verbleib der Vakuolensubstanz, die wir vorläufig nicht zu beantworten vermögen. Indessen bedarf vielleicht, wie aus dem folgenden sich ergeben wird, Gurwitsch' ganze interessante Theorie von der Stapelung in den Vakuolen gemäss dem Verteilungssatz noch einer Revision.

Es stimmt sehr gut zu der Vorstellung, dass die chemisch untereinander verschiedenen Vakuolen als Kollektoren für die verschiedenen

---

1) Pflüger's Arch. Bd. 91 S. 98. 1902.

2) l. c. S. 90.

3) l. c. S. 115.

harnfähigen Stoffe fungieren, wenn Gurwitsch angibt, dass nach der Einverleibung eines Farbstoffes niemals alle Vakuolen einer Zelle sich gleichmässig imprägnieren, sondern dass durch das Protoplasma hindurch verstreut, allerdings hauptsächlich gegen die Oberfläche hin, ungefärbte Vakuolen zu finden sind; das sind offenbar die von der Hypothese geforderten Vakuolen, die etwa nach Einverleibung einer lipoidlöslichen Farbe farbstofffrei bleiben, weil sie nicht aus Lipoid, sondern etwa aus einer Salzlösung bestehen. Wir haben nun das naheliegende Experiment gemacht, um die von Gurwitsch angenommene verschiedene funktionelle Bedeutung der chemisch verschiedenen Vakuolen zu beweisen, dass wir in den Rückenlymphsack gleichzeitig zwei Farbstoffe brachten, deren physikalisch-chemische Eigenschaften eine verschiedene Lokalisation in den ausscheidenden Zellen erwarten liessen, wenn Gurwitsch' so einleuchtende Hypothese richtig wäre. Lipoidlöslich sind nur die Farbbasen, nicht die Sulfosäurefarbstoffe; die ersteren sollten also Vakuolen von anderem Lösungsvermögen aufsuchen als die letzteren. Tatsächlich war das Ergebnis solcher Versuche aber folgendes: 24 Stunden nach der Einverleibung des lipoidlöslichen Neutralrots zusammen mit dem lipoidunlöslichen wasserlöslichen Anilinblau zeigten die Vakuolen des zweiten Abschnittes eine braunviolette Färbung, die aus der Mischung der beiden Farben resultierte, während die übrigen Abschnitte rein rote Vakuolen führten. Und nach der Einverleibung des lipoidlöslichen Ponceau waren die Vakuolen des zweiten Abschnittes wieder violett gefärbt, die der übrigen Abschnitte rein blau. Dort, wo sich also die echte sekretorische Funktion, d. h. die Stapelung trotz Lipoidunlöslichkeit, aufs deutlichste dokumentierte, dort lagen beide, in ihren Löslichkeiten so sehr verschiedene Farben in den gleichen Vakuolen gespeichert, während die Epithelien der Leitungswege, denen die sekretorische Funktion mehr oder weniger abgeht, nur die Farbe enthielten, deren sie sich wegen der Lösungsfähigkeit ihrer Plasmahaut nicht erwehren konnten. Wir halten es danach für zweifelhaft, dass man im wesentlichen mit dem Prinzip des Teilungskoeffizienten bei der Erklärung der Farbenspeicherung innerhalb der Nierenepithelien auskommt.

5. Die Permeabilität der Nierenepithelien vom Frosch. Nicht bloss von der Speicherung, auch von der Aufnahme der lipoidunlöslichen Substanzen in die Sekretionszellen ent-

wirft uns Gurwitsch ein verführerisch einfaches Bild, das sich mit den komplizierten Vorgängen der Wirklichkeit wohl kaum deckt. Er schreibt: „Um die so auffallende Permeabilität der Nierenzellen für Stoffe, welche in andere somatische Zellen nicht aufgenommen werden, zu erklären, brauchen wir nur anzunehmen, dass den Aussenflächen der Nierenepithelien, welche der Basalmembran anliegen, die lipoide Plasmahaut fehlt.“<sup>1)</sup> Es ist aber auch möglich, dass der Transport der lipoidunlöslichen Substanzen ins Zellinnere ein besonderer freilich noch ganz undefinierbarer Akt der Zelltätigkeit ist. Einige Versuche sprechen uns nämlich dafür, dass die Permeabilität der Nierenepithelien sich nicht von der anderer Körperzellen unterscheidet.

Der eine von uns<sup>2)</sup> gab vor längerer Zeit ein Mittel an, um für einige Substanzen zu entscheiden, ob sie vom Darmkanal aus inter- oder intraepithelial resorbiert werden. Füttert man nämlich Froschlarven oder erwachsene Frösche mit Farbbasen, so sammeln sich diese, ganz ähnlich wie in den Nierenepithelien, in den Vakuolen des Darmepithels an. Lässt man nun nachträglich ein lipoidunlösliche Substanz, die ein Farbbasenfällungsmittel ist, wie etwa Ammonmolybdat, resorbieren, oder behandelt man frische, herauspräparierte Darmschleimhaut mit dem Fällungsmittel, so verschwinden die gefärbten Vakuolen; es bildet sich um jeden Zelleib herum ein häutiger Sack von Farbstoffniederschlag, indem die fällende lipoidunlösliche Substanz, die nicht in die lebenden Zellen hineinkann, den Farbstoff allmählich zu sich herauszieht und niederschlägt. Diese interzellularen Fällungsstrukturen erhält man nur, wenn man Fällungsmittel anwendet, die im allgemeinen als lipoidunlöslich bekannt sind.

Verfährt man nun entsprechend bei der Froschniere, indem man kleine Stückchen mit 4%iger Ammonmolybdatlösung behandelt, so erhält man sehr oft, und besonders im zweiten Abschnitt, in schöner Ausbildung dieselben Interzellularbilder wie beim Darm. Die Permeabilität der beiden Epithelsorten ist also wohl auch die gleiche. Man kann höchstens sagen, dass die Interzellularbilder bei der Niere nicht mit derselben Regelmässigkeit zu bekommen sind wie beim Darmepithel. Das ist aber vielleicht auch ganz begreiflich. Denn wenn die Nierenepithelien, wie wir nun wohl annehmen müssen,

---

1) l. c. S. 97.

2) Höber, Pflüger's Arch. Bd. 86 S. 199. 1901.

eine besondere „vitale“ Fähigkeit besitzen, alle möglichen Substanzen, mögen sie lipoidlöslich oder lipoidunlöslich sein, unabhängig von ihrem Besitz einer Plasmahaut von der gewöhnlichen Beschaffenheit in sich hinein zu befördern, so wird sich dieser Besitz der nur beschränkt permeablen Plasmahaut auch bloss dann geltend machen können, wenn die vitale Tätigkeit, wie wohl in den geschilderten Molybdatversuchen, mehr oder minder alteriert ist.

Nach diesen Versuchen verhalten sich also die Nierenepithelien gegenüber den nicht vitalen Farben etwa so wie alle Zellen gegenüber den Salzen. Jene wie diese vermögen die gelösten Substanzen, die nicht per diffusionem in sie hineingelangen können, doch irgendwie in sich aufzunehmen, — wie, ist uns aber noch völlig unbekannt.

## II. Die Ausscheidung vitaler und nicht vitaler Farben durch die Kaninchenniere.

Die Methode der Farbstoffinjektion bei Säugern, schon im Jahre 1864 von Chrzonszczewsky aus der Überzeugung heraus empfohlen, „dass man mit ihr zur positiven Kenntnis nicht nur der anatomischen, sondern auch mancher physiologischen Verhältnisse der Niere und vielleicht auch anderer Organe gelangen kann“<sup>1)</sup>, hat sich merkwürdigerweise bis heute fast ausschliesslich auf das von Chrzonszczewsky empfohlene Karmin und auf das indigschwefelsaure Natron beschränkt. Und doch laden die bisherigen Ergebnisse der Methode in höchstem Masse dazu ein, das Verfahren auch auf die Anwendung anderer Farbstoffe auszudehnen. Denn die beiden bisher vor allem benutzten Farben geben von dem Sekretionsvorgang in der Säugerniere durchaus nicht das gleiche Bild, wenn auch der Vorgang, wie ihn das indigschwefelsaure Natron zur Darstellung bringt, nach erneuten Untersuchungen lange nicht mehr in dem Masse von dem durch das Karmin zur Anschauung gebrachten verschieden erscheint als nach den Angaben der älteren Autoren Chrzonszczewsky und v. Wittich<sup>2)</sup>. Diese verlegten die Karminausscheidung in die Glomeruli, und die nachfolgenden Versuche von Heidenhain mit dem indigschwefelsauren Natron lokalisierten in vollständigem Gegensatz dazu die Ausscheidung in die

1) Virchow's Arch. Bd. 31 S. 191. 1864.

2) Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. 11 S. 75. 1875.

Tubuli contorti. Derartig gegensätzliche Angaben, deren Widersprüche lange Zeit nicht lösbar schienen, könnten das ganze Farbverfahren diskreditieren; indessen ist nach der letzten gründlichen Revision der Angaben über die Karminausscheidung durch A. Schmidt<sup>1)</sup> zu sagen, dass die beiden vielgebrauchten Farben nicht zwei total verschiedene Sekretionsmodi, sondern wohl nur verschiedene Ausschnitte eines und desselben Modus anschaulich machen, deren Hervorhebung wahrscheinlich auf den verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften der beiden Farben beruht. A priori ist darum zu erwarten, dass eine Ausdehnung der Injektionsmethode auf den Gebrauch weiterer Farben auch weitere Aufschlüsse zu geben vermag, und die geschilderten Befunde an der Froschniere geben dieser Meinung auch vollkommen recht.

Wir haben deshalb noch einige wenige Injektionsversuche mit verschiedenen Farben an Kaninchen ausgeführt, die indessen nur den Charakter einer ersten Orientierung haben, über deren Ergebnis kurz berichtet werden soll. Von vitalen Farben wurden benutzt Neutralrot und Toluidinblau, von nicht vitalen Ponceau und wasserlösliches Anilinblau. Es sei gleich im voraus bemerkt, dass das, was zu beobachten war, so wenig den geläufigen Heidenhain'schen Bildern entsprach, dass wir es für nötig hielten, unsere Ergebnisse durch Wiederholung von Heidenhain's Injektionen von indigschwefelsaurem Natron zu kontrollieren. Wir benutzten das bekannte Präparat aus der Breslauer Hof- und Feldapotheke und erhielten auf das vollkommenste die von Heidenhain beschriebenen Bilder: farblose Glomeruli, bläuliche Epithelien in den Tubuli contorti, eventuell prachtvolle Kernfärbung<sup>2)</sup>, Massen ausgeschiedenen Farbstoffes in den Lumina der Tubuli recti, seltener schon in denen der Tubuli contorti. Danach konnten wir unseren mit anderen Farben erhaltenen Befunden grösseres Vertrauen entgegenbringen.

Bei Neutralrot, Toluidinblau und Ponceau dokumentierte sich der Sekretionsvorgang eigentlich durch nichts anderes als durch eine auffallende intensive Färbung der Niere und durch Abscheidung von

---

1) Pflüger's Arch. Bd. 48 S. 34. 1891.

2) Wir schliessen uns der Meinung von Gurwitsch an, dass die Kernfärbung keine vitale ist, sondern erst postmortal erfolgt, obgleich wir unmittelbar nach Tötung des Tieres auch nach möglichst beschleunigter Anfertigung eines Zupfpräparates den Kern gebläut fanden.

tiefdunkel gefärbtem Harn. Die mikroskopische Untersuchung von Zupfpräparaten ergab weder Ausscheidung von ungelöster Farbe noch Kernfärbung in irgendwelchen Abschnitten, sondern nur eine diffuse Rötung resp. Bläuung, die sich nicht lokalisieren liess.

Anders beim wasserlöslichen Anilinblau. Es wurden bisher im ganzen fünf Versuche an kleinen, nur etwa 1000 g schweren Kaninchen ausgeführt, von denen vier dasselbe Resultat ergaben.

#### Versuch 1.

Es wurden 35 ccm einer konzentrierten wässrigen Lösung des Farbstoffs im Verlauf von 1½ Stunden ganz langsam in die Vena jugularis injiziert, unmittelbar darauf das Tier getötet. — Die Nieren waren tiefblau, die Rinde dunkler als die Marksubstanz. Im Zupfpräparat fielen sofort die Glomeruli durch ihre dunkelblaue Färbung auf. Die Zellen der Tubuli contorti waren diffus hellblau, noch etwas weniger blau die Zellen der Tubuli recti, in denen auch die Kerne leicht gebläut waren. Das Blut in den grösseren Nierengefässen erschien ebenfalls etwas blau. Dem Herzen entnommenes Blut sah unter dem Mikroskop farblos aus bis auf sehr seltene hellblau gefärbte Leukozyten. Bei Betrachtung der Glomeruli mit starken Systemen und mit Immersionslinse war deutlich zu sehen, dass der blaue Farbstoff in den Gefässschlingen lag, nicht in fester Form ausgeschieden, sondern diffus verteilt, wie in einer Gallerte, die sich zwischen die deutlich ungefärbt gebliebenen roten Blutkörperchen einschob und sie umgab. Das Bild erinnerte dadurch durchaus an einen kleinen Schnitt durch ein wabig gebautes, gefärbtes Gel. Die Endothelien der Gefässe waren ungefärbt; auch lag keine Farbe in den Bowman'schen Kapseln.

#### Versuch 2 und 3.

Es wurden nur 15 und 10 ccm der konzentrierten Lösung langsam injiziert. Auch danach waren die Glomeruli tiefblau gefärbt, während in den übrigen Kapillaren der Niere keine Spur von Bläuung zu sehen war. Die Tubuli contorti waren ganz schwach diffus gefärbt, die Tubuli recti und die Kapseln frei von Farbstoff.

#### Versuch 4.

Um vor Salzausfällungen des Farbstoffs sicher zu sein, wurde diesmal eine gesättigte Lösung der Farbe in 1%iger Kochsalzlösung eingespritzt. Am Resultat änderte das nichts: die Glomerularschlingen waren stark und in charakteristischer Weise gefärbt.

Nur in einem Versuch war ausser einer leichten diffusen Färbung nichts in der Niere zu sehen.

Resümieren wir das Gesagte, so ergeben die Versuche an der Kaninchenniere als einzig Bemerkenswertes die eigentümliche Ansammlung des wasserlöslichen Anilinblaus in den Gefässschlingen der

Glomeruli. Diese scheint uns aber beachtenswert; denn vielleicht weist sie darauf hin, dass sich in den Glomeruli doch Prozesse besonderer Art abspielen. Die von uns injizierten Farbstoffmengen sind z. T. so gering und sind so vorsichtig eingeflösst worden, dass die von ihnen verursachte Färbung der Glomeruli nicht durch allgemeine Kreislaufstörungen bedingt sein kann, wie sie Grützner<sup>1)</sup> auf mannigfache Weise experimentell erzeugte; sonst würden wohl auch ein Übertritt in den Kapselraum und eine sichtbare Färbung auch der übrigen Nierenkapillaren zu sehen sein. Wir sind vorläufig vielmehr geneigt, in den Bildern die Andeutung eines physiologischen Aktes von unbekannter Bedeutung zu sehen. Weitere Versuche, die sich auch auf die Verwendung anderer Farben erstrecken sollen, werden vielleicht Aufklärung bringen.

### Zusammenfassung.

1. Nicht bloss lipoidlösliche „vitale“ Farben, sondern auch die lipoidunlöslichen werden in die Epithelien im zweiten Abschnitt der Froschnierenkanälchen aufgenommen und in deren Vakuolen gestapelt. Die Vakuolengrösse variiert je nach der Art des einverleibten Farbstoffes.

2. Die Aufnahme der nicht vitalen Farben beruht wahrscheinlich nicht auf einer veränderten Permeabilität der Plasmahaut der Epithelien; wenigstens Salzen gegenüber ist die Plasmahaut impermeabel.

3. Es ist fraglich, ob die Stapelung der verschiedenen, von der Froschniere sezernierten Stoffe in den Vakuolen auf einem auswählenden Lösungsvermögen der chemisch differenten Vakuolen beruht; denn lipoidlösliche und lipoidunlösliche Farben werden in den gleichen Vakuolen gesammelt.

4. Die Neutralrot-, Bismarckbraun- und Bordeauxvakuolen werden in toto aus den Epithelien in die Kanäle ausgestossen und gelangen unverändert in den Harn.

5. Nach langsamer Injektion kleiner Mengen von wasserlöslichem Anilinblau finden sich die Glomeruli der Kaninchenniere dunkelblau gefärbt; die Farbe tritt nicht in die Bowman'sche Kapsel über.

---

1) Pflüger's Arch. Bd. 24 S. 441. 1881.