

## Zur Frage der glomerulären Permeation höhermolekularer Proteine

Der physiologische Mechanismus der Proteinurie ist noch weitgehend ungeklärt; als sicher kann nur gelten, dass Eiweiss ausschliesslich auf dem Wege der glomerulären Filtration in den Harn gelangt<sup>1–4</sup>. Da unter physiologischen Bedingungen lediglich minimale Eiweissmengen ausgeschieden werden<sup>1,3,5–7</sup>, wird angenommen, dass eine Proteinurie im klinischen Sinne durch eine erhöhte glomeruläre Durchlässigkeit (Grösserwerden der Poren des «Filters») zustandekommt, obwohl es nicht an Befunden fehlt, die nachweisen, dass in den Tubuli eine Rückresorption von Eiweiss erfolgen kann<sup>8–13</sup>, so dass in einem Versagen der Rückresorption ein zweiter kausaler Faktor für den Mechanismus der Proteinurie gesehen werden muss. Die bisherige Bearbeitung dieser Problematik konzentrierte sich im wesentlichen auf den Versuch, die Porengrösse des Nierenfilters unter den verschiedensten experimentellen Bedingungen zu ermitteln<sup>3,6,11,14,15</sup>. Dabei erlaubt ein Nachweis von präformierten Serum eiweißen im Harn wegen der Existenz der beiden konkurrierenden Prozesse nur sehr schwer, bindende Aussagen zu treffen, doch auch der Einsatz nichtphysiologischer Makromoleküle (Dextran, Polyvinylpyrrolidin) mit differenten definierten Molekülgrössen konnte bis heute – obwohl bereits sehr fundierte Erkenntnisse<sup>15–17</sup> vorliegen – eine endgültige Klärung des Mechanismus der Proteinurie nicht herbeiführen.

Ausgehend von der Überlegung, dass, falls es gelingen würde, Serum eiweißkörper mit charakteristischen immunbiologischen Eigenschaften unverändert im Harn nachzuweisen, der Beweis erbracht sein müsste, dass die Proteine in toto das Nierenfilter passiert haben, untersuchten wir an Patienten mit einem funktionellen Nierendefekt (Proteinurie bei diabetischer Angiopathie) die Ausscheidung von Haptoglobinen und Isoagglutininen im Harn (bisher wurde lediglich über Serum-Haptoglobin bei *Diabetes mellitus* berichtet<sup>18</sup>).

Zur Untersuchung kamen 50 Patienten, die sich bei uns in stationärer Behandlung befanden und mit dem Merkmal einer Proteinurie ausgewählt wurden.

Die Bestimmung der Haptoglobine (Hp) als Hämoglobin-Bindungskapazität (HbBK)<sup>14,19</sup> differenziert nach den Typen 1-1, 2-1 und 2-2 und der Isoagglutinine (IA) als relativer Titer<sup>20</sup> erfolgte im Venenblut und im 24-h-Harn, der mittels Ultradruckfiltration<sup>21</sup> auf eine etwa dem Serum eiweissgehalt entsprechende Eiweisskonzentration eingeengt wurde; ferner erfolgte eine quantitative Bestimmung (gravimetrisch nach Scherrer-Bang) und eine elektrophoretische Trennung der Serum- und Harn-eiweisse, wie bereits beschrieben<sup>22</sup>.

Bei allen untersuchten Patienten fanden wir eine Proteinurie von im Mittel  $88,0 \pm 14,9$  mg%, eine HbBK des Serums von im Mittel  $149,8 \pm 9,9$  mg%. Darunter waren 31 (= 62%) Hp-Ausscheider, die sich in die Harn-Hp-Typen 1-1 (n = 5), 2-1 (n = 18) und 2-2 (n = 8) aufteilten.

Die HbBK im Harn aller Ausscheider betrug im Mittel  $0,63 \pm 0,29$  mg% (1-1);  $0,47 \pm 0,14$  mg% (2-1);  $0,12 \pm 0,04$  mg% (2-2), der relative Anteil der Hp am ausgeschiedenen Protein  $2,34 \pm 0,62\%$  (1-1);  $0,38 \pm 0,04\%$  (2-1);  $0,09 \pm 0,026\%$  (2-2) und der relative Anteil an den  $\alpha_2$ -Globulinen des Harns  $23,02 \pm 3,61\%$  (1-1);  $6,42 \pm 0,63\%$  (2-1);  $1,66 \pm 0,59\%$  (2-2).

Der Hp-Anteil am ausgeschiedenen Protein erwies sich weder vom Ausmass der Proteinurie noch von der Höhe der HbBK des Serums abhängig. Ordneten wir die Patienten nach dem Merkmal des Schweregrades der diabetischen Nephropathie (Kriterien waren die Höhe der

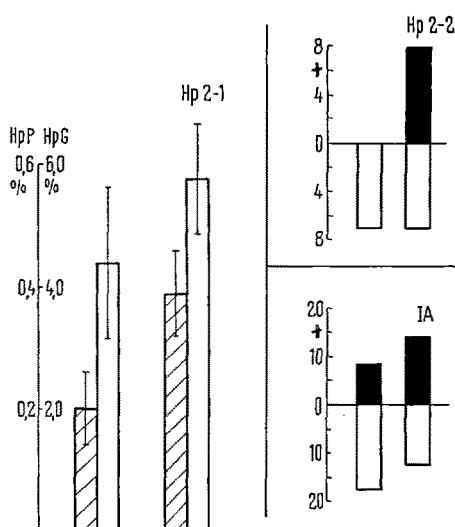
Proteinurie, Reststickstoff und Harnstoff im Blut sowie die klinische Symptomatik), so konnten wir eine eindeutige Zuordnung der Hp-Ausscheidung finden: Patienten mit schwerer Nierenschädigung (n = 12) schieden mit  $0,38 \pm 0,06\%$  Hp-Anteil am eliminierten Protein signifikant ( $p < 5\%$ ) mehr Hp vom Typ 2-1 aus, als Patienten (n = 11) mit keinem oder nur leichtem Nierenschaden ( $0,20 \pm 0,06\%$  Hp-Anteil am ausgeschiedenen Protein); sie wiesen darüberhinaus mit  $5,73 \pm 0,94\%$  einen höheren Hp-Anteil an den  $\alpha_2$ -Globulinen des Harns als die zweite Gruppe ( $4,25 \pm 1,2\%$ ) auf (Figur), die Differenz liess sich jedoch bei  $p = 5\%$  nicht sichern.

Sämtliche Ausscheider des Hp-Typs 2-2 (n = 8) hatten eine schwere Nierenschädigung, während sich bei den Patienten mit keiner oder leichter Nephropathie keine Haptoglobine im Harn fanden (n = 7); allerdings waren unter den Nichtausscheidern (n = 14) auch 7 mit einem schwereren Nierenschaden.

Von den untersuchten 50 Patienten mit einem IA-Titer Anti-A<sub>1</sub>, Anti-A<sub>2</sub>, Anti-B im Serum von 1:2 bis 1:256 fanden sich 21 mit einer Ausscheidung von IA im Harn (= 42%). Bei einem Einengungsfaktor des Harns von 25 bis 450 erhielten wir IA-Titer im Harn von 1:2 bis 1:128. Unter den IA-Ausscheidern waren 13 (= 62%) Patienten mit mittlerem bis schwerem und 8 (= 38%) mit keinem oder leichtem Nierenschaden; demgegenüber fanden sich in der erstgenannten Gruppe 12 (= 41,4%) und in der letzteren Gruppe 17 (= 58,6%) Nichtausscheider.

Da die ausgeschiedenen im Serum präformierten spezifischen Eiweisskörper mit ihrem Molekulargewicht (Hp Typ 2-1 160 000, Typ 2-2 400 000<sup>23</sup>, IA 150 000–500 000<sup>24</sup>) weit über der Grenze (70 000) liegen, die für die Eiweisdurchlässigkeit des Glomerulum angenommen wird<sup>25</sup>, und die Erhaltung ihrer immunbiologischen Eigenschaften dafür spricht, dass tiefgreifende Veränderungen während der Nierenpassage (Aufspaltung und Resynthese des

- <sup>1</sup> T. ADDIS, *Glomerular Nephritis, Diagnosis and Treatment* (New York 1948).
- <sup>2</sup> A. H. COONS, E. H. LEDOU und H. M. KAPLAN, J. exp. Med. 93, 173 (1951).
- <sup>3</sup> P. G. SCHEURLEN, Habil. Schr. Med. Fak. Tübingen (1962).
- <sup>4</sup> F. VOLHARD, in *Handbuch der inneren Medizin*, Bd. 6/1 (Berlin 1931).
- <sup>5</sup> G. EKEHORN, Virchows Arch. 285, 443 (1932).
- <sup>6</sup> W. HEINZEL, Z. Naturforsch. 14b, 323 (1959).
- <sup>7</sup> A. L. WALKER, P. A. BOTT, J. OLIVER und M. C. McDOWELL, Am. J. Physiol. 134, 580 (1941).
- <sup>8</sup> H. BENNHOLD und O. SEYBOLD, Z. ges. exp. Med. 178, 407 (1952).
- <sup>9</sup> D. GITLIN, Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 74, 138 (1950).
- <sup>10</sup> P. P. LAMBERT, C. MALMENDIER und J. P. DE COSTER, in *Pathogenese und Therapie der Ödeme* (Basel 1960).
- <sup>11</sup> W. LATHEM, B. E. DAVIS, P. H. ZWEIG und R. DEW, J. clin. Invest. 39, 840 (1960).
- <sup>12</sup> H. MAYERSBACH und A. G. E. PEARSE, Brit. J. exp. Path. 37, 81 (1956).
- <sup>13</sup> W. G. SPECTOR, J. Path. Bact. 68, 187 (1954).
- <sup>14</sup> M. NYMAN, Scand. J. clin. lab. Inv. 11, Suppl. 39 (1959).
- <sup>15</sup> Y. OZAWA und M. YAMAUCHI, Keio. J. Med. 12, 37 (1963).
- <sup>16</sup> H. LINS, K. JAHNKE und W. SCHOLTAN, III. Congr. Int. Diab. Fed. (Stuttgart 1959), p. 203.
- <sup>17</sup> J. R. PAPPENHEIMER, Klin. Wschr. 33, 362 (1954).
- <sup>18</sup> C. G. BERGSTRAND, P. FÜRST, V. LARSSON und G. STERKY, Scand. J. clin. lab. Inv. 14, 629 (1962).
- <sup>19</sup> K. MÜLLER und W. SCHELER, Z. med. Labortechnik 4, 191 (1963).
- <sup>20</sup> O. PROKOP und G. BUNDSCUH, *Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gm-Gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin* (Berlin 1963).
- <sup>21</sup> Wir danken Herrn Professor A. KNAPP für die liebenswürdige Unterstützung bei der Beschaffung der apparativen Ausrüstung.
- <sup>22</sup> R. GIEBELMANN, S. MARTIN und F. MARTIN, Ärztl. Lab. 11, 80 (1965).



Relative Haptoglobinanteile (Typ 2-1) an der Proteinausscheidung (HpP, schraffierte Säulen) und an der  $\alpha_2$ -Globulinfraktion im Harn (HpG, weiße Säulen) diabetischer Patienten (linker Teil des Diagramms). Häufigkeitsverteilung der Ausscheider (schwarze Säulen) und Nichtausscheider (weiße Säulen) von Hp (Typ 2-2) und Isoagglutininen (IA) im Harn (rechter Teil des Diagramms). Linke Säulen bzw. Säulenpaare aller Diagramme Patienten mit keinem oder leichtem, rechte mit mittlerem und schwerem Nierenschaden bei diabetischer Angiopathie.

Moleküls) nicht stattgefunden haben können<sup>2</sup>, stützen die mitgeteilten Befunde die Hypothese, dass für den Mechanismus der Proteinurie die Porengröße des glomerulären Filters offenbar doch die entscheidende Funktion besitzt.

Eine ausführliche Mitteilung dieser Ergebnisse, die zum Teil in Zusammenarbeit mit B. GIBB, R. GIEBELMANN und FRIEDELENE MARTIN gewonnen wurden, ist in Vorbereitung.

**Summary.** Haptoglobin and isoagglutinin were found in the urine of diabetic patients, and their renal excretion was higher in patients with diabetic angiopathy. It is concluded from these results (the biological activity of the two polypeptides in urine was intact) that the mechanism of proteinuria can perhaps be explained only by an 'extension of pores' of the renal 'glomerular filter'.

H. G. LIPPMANN, S. MARTIN  
und M. SCHULZ

*Institut für Diabetes «Gerhardt Katsch», Karlsruhe bei Greifswald und Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Greifswald (DDR), 14. Juni 1965.*

<sup>23</sup> H. E. SCHULTZE und K. HEIDE, in K. F. BAUER, *Medizinische Grundlagenforschung*, Bd. 3 (Stuttgart 1960).

<sup>24</sup> S. FILITTI-WURMSER, Ann. Eugen. 18, 183 (1953/54).

<sup>25</sup> K. JAHNKE und W. SCHOLTAN, Dtsch. Arch. klin. Med. 200, 821 (1953).

## Nuclear Membrane and Chromatin Network

BARR et al.<sup>1-3</sup> were pioneers in the study which led to the discovery of a definite localization of the chromatin in relation to the nuclear membrane when they found that in the somatic cells of the cat the sex chromatin is located at the nuclear membrane. BURGOS<sup>4</sup> demonstrated the accumulation of Feulgen reactive material on the inner aspect of the nuclear membrane in unfertilized eggs of *Arbacia punctulata*, and GAY<sup>5</sup> studied the relations between chromatin and nuclear membrane outpocketings. However, the relation between chromatin network and the membrane in the interphase nucleus remains practically unexplored.

In this paper we study a certain relation often observed between chromatin and nuclear membrane in the interphase nucleus of meristematic cells.

**Material and methods.** Seeds of *Phalaris canariensis* were germinated at room temperature, using filter paper and tap water. The seedlings were grown for 2 or 3 days. At the end of this period the root-tips (2–3 mm) were removed and immediately fixed by the following method: KMnO<sub>4</sub> 2% in distilled water, for 2 h at 20–22°C. The fixed material was dehydrated in an acetone series and embedded in Durcupan ACM (Fluka). During the dehydration, the material was stained overnight in 2% uranyl acetate dissolved in 75% acetone for contrast enhancement. To obtain the ultra-thin sections an Ultratome LKB was employed. The sections were stained with lead hydroxide; the observations were made with a Siemens

Elmiskop I, and the pictures taken on Scienza Gevaert plates.

**Results and discussion.** The nucleus of the meristematic cells generally appears spherical in form as observed with the light microscope. From early interphase to the following prophase, this form is maintained. The restitution of the nuclear membrane at telophase can be observed with the electron microscope. The nuclear membrane, newly formed around the chromosomes, adopts the form of the chromatin mass and presents the same irregularities as the outline of the mass. In the course of interphase the nucleus becomes spheroidal and the nuclear membrane fits into the new shape of the content. If no association exists between the chromatin and the membrane, the latter should be observed in the sections as a circumference or an ellipse. However, even though the interphase nucleus adopts a *grosso modo* regular shape, the membrane shows a scalloped shape in certain regions of the nuclear surface. In the invaginations the membrane contacts the chromatin network. In the evaginations and

<sup>1</sup> M. L. BARR, L. F. BERTRAM, and H. A. LINDSAY, Anat. Rec. 107, 283 (1950).

<sup>2</sup> M. A. GRAHAM and M. L. BARR, Anat. Rec. 112, 709 (1952).

<sup>3</sup> M. A. GRAHAM, Anat. Rec. 119, 469 (1954).

<sup>4</sup> M. BURGOS, Exp. Cell Res. 9, 360 (1955).

<sup>5</sup> H. GAY, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 21, 257 (1956).