

Quantitativ morphologische Analyse glomerulärer Veränderungen bei Diabetikern* **

H. WEHNER und E. ANDERS

Pathologisches Institut der Universität Tübingen (Direktor: Prof. Dr. med. A. Bohle), Tübingen, Deutschland

Eingegangen am 22. Dezember 1969

Quantitative morphological analysis of glomerular alterations in diabetics

Summary. We have determined quantitatively the mesangial volume and the number of glomerular cells in 30 kidneys of diabetics by means of semi-thin sections. The results were explored with respect to the insulin-binding capacity of the serum, the cholesterol level, chronic renal failure and the therapy. We detected a considerable increase in the mesangial volume, up to twice that of the standard. We also observed a true proliferation of the mesangial and endothelial cells. The decrease in epithelial cells was caused by the adaptation to the simplified glomerular structure. The proliferation was on an average 47% compared with normal controls. The increase of the mesangial volume and the mesangial cells is characterized by a positive correlation to the titre of insulin antibodies. Correlations of mesangial volume and of the number of mesangial cells to the level of serum cholesterol could not be fixed statistically. After long-term therapy with insulin we found higher mesangial volumes than after sporadic insulin therapy or application of oral antidiabetic agents. We see in the diabetic glomerulosclerosis a glomerular disease characterized by an increase of the mesangium and by a true cell proliferation. In the description of the morphometric features it does not differ from an intercapillary proliferative glomerulonephritis. It is possible that these changes are caused by an immune-process in the mesangium produced by insulin-anti-insulin complexes.

Analyse quantitative morphologique des modifications glomérulaires chez les diabétiques

Résumé. Le volume de mésangium et le nombre des cellules glomérulaires de 30 reins de diabétiques coupés semi-finement ont été quantitativement analysés. Les résultats ont été examinés en relation: avec l'importance du pouvoir de liaison de l'insuline dans le sérum; avec le niveau du cholestérol dans ce même sérum; avec l'insuffisance rénale et avec la thérapeutique. Nous avons pu constater une augmentation considérable du volume du mésangium et ce, jusqu'au double de la normale. Nous avons observé également une véritable prolifération des cellules mésangiales et endothéliales, tandis que les cellules épithéliales diminuaient à cause de l'adaptation à la structure glomérulaire simplifiée. La prolifération s'élève à 47% par rapport aux témoins normaux. L'augmentation du volume du mésangium et du contenu cellulaire mésangial est caractérisée par une corrélation positive avec le titre des anticorps antiinsuline. Une corrélation du volume du mésangium et du nombre des cellules mésangiales avec le niveau du cholestérol dans le sérum n'a pas pu être

déterminée statistiquement. Après une longue thérapeutique avec l'insuline on trouva des volumes mésangiaux plus élevés qu'avec une médication sporadique par l'insuline ou qu'avec des antidiabétiques par voie orale. Nous voyons dans la sclérose glomérulaire diabétique — grâce aux constatations quantitatives — une apparition de la maladie glomérulaire caractérisée par l'augmentation du volume du mésangium et par une véritable prolifération cellulaire, apparition qui ne se différencie pas dans sa caractéristique morphométrique d'une glomérulonephrite intercapillaire proliférative. Il se peut qu'un processus de l'immunité dans le mésangium, occasionné par le complexe insuline-anti-insuline, soit le motif de cette variation.

Zusammenfassung. In 30 Nieren von Diabetikern werden das Mesangiumvolumen und die Zahl der einzelnen glomerulären Zellen quantitativ an Semidünnschnitten bestimmt. Die Ergebnisse werden auf ihre Beziehungen zur Insulinbindungskapazität des Serums, zum Serumcholesterinspiegel, zur Niereninsuffizienz und zur Therapie untersucht. Wir können eine erhebliche Mesangiumvolumenzunahme bis auf das Doppelte gegenüber der Norm feststellen. Weiterhin wird eine echte Proliferation der Mesangium- und Endothelzellen beobachtet, während die Deckzellen als Folge der Anpassung an die vereinfachte glomeruläre Struktur abnehmen. Die Gesamtzellproliferation beträgt im Mittel 47% gegenüber den normalen Kontrollen. Die Vermehrung des Mesangiumvolumens und der Mesangiumzellen ist gekennzeichnet durch eine positive Korrelation zum Insulinantikörpertiter. Eine Abhängigkeit des Mesangiumvolumens oder des prozentualen Mesangiumzellgehaltes vom Serumcholesterinspiegel läßt sich statistisch nicht sichern. Bei Dauertherapie mit Insulin finden sich im Mittel höhere Mesangiumvolumina als bei sporadischer Insulinmedikation oder Anwendung von oralen Antidiabetika. Wir sehen in der diabetischen Glomerulosklerose aufgrund der quantitativen Befunde eine durch Mesangiumvolumenzunahme und echte zelluläre Proliferation gekennzeichnete glomeruläre Erkrankung, die sich in ihren quantitativen morphologischen Charakteristika nicht von einer interkapillären proliferativen Glomerulonephritis unterscheidet. Es ist möglich, daß ein Immunprozeß im Mesangium, ausgelöst durch Insulin-Antiinsulin-Komplexe, die Ursache dieser Erkrankung ist.

Key-words: Diabetic glomerulosclerosis, quantitative morphology, mesangium, glomerular cells, proliferation, insulin-antibodies, cholesterol, insulin therapy, pathogenetic mechanism.

Es ist bis heute noch nicht bekannt, ob und inwieweit im Rahmen der Ätiologie und Pathogenese der diabetischen Glomerulosklerose Stoffwechselstörungen

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Mit technischer Assistenz von Fräulein S. Helber.

** Auszugsweise vorgetragen auf der 53. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, Mainz, Mai 1969.

gen, genetische und endokrine Schäden sowie immunologische Vorgänge eine Rolle spielen (Dieterle 1969).

Wir fragten uns bei diesem Stand der Dinge, ob durch eine quantitative Analyse der glomerulären Veränderungen in Diabetikernieren Einblicke in die Pathogenese der diabetischen Glomerulosklerose gewonnen werden können.

Material und Methodik

Wir führten deshalb an 30 Nieren (Autopsien) von unausgesuchten Diabetikern folgende Untersuchungen durch:

1. eine Berechnung des mittleren prozentualen Mesangiumgehaltes (Mesangiumvolumen) mit Hilfe des Punktzählverfahrens am Visopan Reichert (Objektiv Plan 63/0.75; 160/0.17; Maßstab 800:1) mit einem Punkt-Abstand (Netzwert) von 15 μ (Wehner 1968).

2. eine Zählung der glomerulären Zellen, wobei die prozentuale Verteilung besonders berücksichtigt wurde. Außerdem bestimmten wir am Visopan Reichert (Maßstab 1250:1) durch Abgreifen mit einem Stechzirkel und Übertragen auf einen Transversalmaßstab (Palkovits und Fischer 1968; Woernle 1969) den mittleren Kerndurchmesser der einzelnen glomerulären Zellen zur Erfassung einer evtl. Kernvolumenänderung.

Verfälschungen der Zählergebnisse durch Kernschwellungen wurden mit Hilfe der Hennigsechen Korrekturformel (Hennig 1957) ausgeglichen:

$$N_v = n_v \frac{V}{A(2r - T)}$$

(N_v = tatsächliche Kernanzahl im Bezugsvolumen; n_v = gezählte Kernanzahl; T = Schnittdicke; V = Bezugsvolumen; A = Fläche des Auswertungsfeldes; r = Kernradius).

Zu letzteren Untersuchungen verwandten wir 5 μ dicke HE-Schnitte. Von jedem Zelltyp wurden dabei 100 verschiedene Kerne ausgemessen. Entsprechende Untersuchungen wurden an jeweils 100 Kernen normaler Kontrollen durchgeführt.

Alle übrigen quantitativen Erhebungen nahmen wir an 1 μ dicken, nach Movat versilberten Schnitten, nach Formalinfixierung und Nachfixierung in Osmiumsäure und Einbettung in Methacrylat vor. Pro Fall durchmusterten wir im Mittel 90 verschiedene Glomerulumschnitte. Als Kontrollen dienten in gleicher Weise untersuchte Nieren von 20 Normalpersonen.

Die 30 Diabetesfälle teilten wir in drei Zehnergruppen ein:

Gruppe I: Diabetiker ohne histologische Veränderungen in der Routinedignostik an den Glomerula (mittleres Alter 70 Jahre, mittlere Laufzeit der Erkrankung 6 ± 7 Jahre).

Gruppe II: Diabetiker mit diffuser bzw. überwiegend diffuser Glomerulosklerose (mittleres Alter 69.5 Jahre, mittlere Diabetesdauer 6 ± 8 Jahre).

Gruppe III: Diabetiker mit nodulärer bzw. überwiegend nodulärer Glomerulosklerose (mittleres Alter 60 Jahre, mittlere Krankheitsdauer 12 ± 7 Jahre).

In 10 unausgesuchten Fällen wurden die Ergebnisse zur Höhe des Insulinantikörpertiters, ausgedrückt durch die Insulinbindungskapazität des Serums, korreliert, die wir den Krankenblättern der Medizinischen Universitätsklinik (Direktor Prof. Dr. H. E. Bock) entnahmen. Die Insulinbindungsfähigkeit des Serums war nach der Methode von Lohss und Kallee (1961) bzw. Kallee, Debiassi und d'Addabbo (1963) mit Agargelelektrophorese und Autoradiographie bestimmt worden. Weiterhin wurden Beziehungen zwischen den Nierenveränderungen und dem Serumcholesterinspiegel und der Therapie untersucht.

Die statistische Sicherung wichtiger Ergebnisse erfolgte mit dem *t*-Test und wo dieser nicht zulässig war mit dem parameterfreien Rangtest von Wilcoxon. Als Grenzwert der Irrtumswahrscheinlichkeit wählten wir $2p = 0.05$ (5%).

Ergebnisse

In normalen Glomerula nimmt das Mesangium bei 70 Jährigen zwischen 9–10% des Glomerulumvolumens ein. Bei der Gruppe I der Diabetiker (mittleres Alter 70 Jahre) beträgt der mittlere Mesangiumanteil 9.7%, ist also gegenüber den Kontrollen nicht vermehrt. Bei gleicher mittlerer Diabetesdauer von 6 Jahren und etwa gleichem mittlerem Alter beträgt das Mesangiumvolumen bei der Diabetesgruppe II 12.7%. Die Fälle der Gruppe III mit einem mittleren Lebensalter von 60 Jahren und einer um das Doppelte längeren Laufzeit der Erkrankung zeigen einen mittleren Mesangiumgehalt von 20.7% (Tabelle 1).

Die einzelnen glomerulären Zellen verteilen sich bei den normalen Kontrollnieren folgendermaßen: 14 Deckzellen, 11 Endothelzellen und 5 Mesangiumzellen im Mittel in einem 1 μ dicken Glomeruluman-

Tabelle 1. Mittleres prozentuales Mesangiumvolumen bei den verschiedenen Diabetesgruppen mit unterschiedlicher Laufzeit der Erkrankung. Die Zahlen stellen Mittelwerte und deren mittleren Fehler dar (statistische Sicherung zwischen II–III $p < 0.005$; I–II $p < 0.001$)

Gruppe	n	Mes.vol.	Dauer	Alter	Glom.anschnitt pro Fall
normal	16	9.0–10%		70.0	223
I	10	9.7 \pm 0.5	6	70.1	91
II	10	12.7 \pm 0.9	6	69.5	108
III	10	20.7 \pm 2.6	12	60.4	90

schnitt bei einem mittleren Glomerulumdurchmesser von 155 μ . Bei den Diabetikern kommt es mit zunehmender Ausbildung des Krankheitsbildes zu einer Abnahme des absoluten Deckzellgehaltes bis auf 8 Zellen im Mittel pro Glomerulumanchnitt bei der Gruppe III, während der Deckzellgehalt für die Gruppe I 12 Zellen und für die Gruppe II 10 Zellen pro Glomerulumanchnitt beträgt. Vermehrt sind dagegen die Endothelzellen und Mesangiumzellen. Bei der Gruppe I finden sich zunächst im Mittel 26 Endothelzellen, bei der Gruppe II 21 und bei der Gruppe III 19 Endothelzellen. Eindeutiger ist die Zellzunahme bei den Mesangiumzellen, die zunächst bei den ersten beiden Diabetesgruppen auf 10 und bei der Gruppe III auf 17 Zellen im Mittel pro Glomerulumanchnitt vermehrt sind (Tabelle 2).

Entsprechend dieser Zellverteilung liegt bei allen Diabetesgruppen die mittlere Gesamtzellzahl über 40 Zellen (Gruppe I = 48; Gruppe II = 41; Gruppe III = 43) und damit signifikant über dem Wert der Normalnieren (Tabelle 2). Der Quotient aus mittlerer Gesamtzellzahl und mittlerem Glomerulumdurchmesser beträgt für alle Diabetesfälle im Mittel 0.24 ± 0.01 und liegt damit signifikant über dem Normalwert von 0.18 als Zeichen der Zellvermehrung bei konstantem Volumen.

Die prozentuale Verteilung der Zellen im normalen Glomerulum besteht in 47% Deckzellen, 37% En-

dothelzellen und 16% Mesangiumzellen im Mittel in einem 1 μ dicken Glomerulumanschnitt. Bei der Gruppe I ist bereits eine deutliche Deckzellabnahme auf 25% festzustellen, die bei der Gruppe II und III kontinuierlich weiter abnimmt und schließlich finden sich bei der Gruppe III 19% Deckzellen. Die Endothelzellen zeigen bei den Gruppen I und II zunächst eine Zunahme auf 55% und 51%, um bei der Gruppe III auf 43% abzunehmen. Bei den Mesangiumzellen ist eine

5% resultiert für sämtliche Diabetikernieren eine echte Proliferation um 47% gegenüber der Norm.

Korreliert man in 10 unausgesuchten Fällen das Mesangiumvolumen zur Höhe des Antikörpertiters gegen Insulin, wobei die niedrigsten Werte bei 0.3 μ g Insulin/ml liegen, so finden wir bei hohen Antikörpertitern ein erhöhtes Mesangiumvolumen und bei niedrigen Mesangiumvolumen niedrige Antikörperwerte (Tabelle 5). Gleichartige Verhältnisse sind bei Korre-

Tabelle 2. Zellverteilung und mittlere Gesamtzellzahl bei Normalfällen und den verschiedenen Diabetikergruppen. Angegeben sind die Mittelwerte und deren mittlerer Fehler

DZ = Deckzellen
 EZ = Endothelzellen
 MZ = Mesangiumzellen
 (statistische Sicherung für alle Gruppen $p < 0.001$)

Gruppe	n	DZ	EZ	MZ	Ges. Zellen	Glom.anschnitt pro Fall
normal	20	13.7 \pm 1.8	10.7 \pm 1.8	4.7 \pm 1.8	29.1 \pm 4.0	39
I	10	12.1 \pm 1.6	25.7 \pm 3.5	10.5 \pm 1.2	48.3 \pm 5.3	89
II	10	10.3 \pm 1.7	20.7 \pm 1.6	10.2 \pm 0.9	41.2 \pm 2.9	98
III	10	7.8 \pm 1.3	18.6 \pm 2.6	16.9 \pm 2.9	43.3 \pm 6.1	92

stetige prozentuale Zunahme zu verzeichnen von 23% bei der Gruppe I auf 25% der Gruppe II und schließlich 38% bei der Gruppe III (Tabelle 3). Die bisher beschriebenen Zellzahlveränderungen sind auch bei fortgeschrittener Glomerulosklerose zu beobachten.

Tabelle 3. Prozentualer Zellgehalt in Normalnieren und den drei Diabetikergruppen. Eingetragen sind die Mittelwerte und deren mittlerer Fehler. (Statistische Sicherung $p < 0.001$ für alle Gruppen)

Gruppe	EZ %	DZ %	MZ %
normal	36.7 \pm 3.6	47.5 \pm 5.1	15.9 \pm 3.8
I	54.9 \pm 4.2	25.5 \pm 2.4	22.6 \pm 2.3
II	51.1 \pm 2.9	24.0 \pm 3.1	24.9 \pm 1.9
III	43.2 \pm 1.9	18.9 \pm 1.6	37.9 \pm 3.3

Bei allen drei Diabetesgruppen besteht somit eine Zellvermehrung gegenüber der Norm, und zwar bei der Gruppe I um 66%, bei der Gruppe II um 41.5% und bei der Gruppe III um 48.8%. In diesen Werten ist der Effekt einer evtl. Kernschwellung noch nicht berücksichtigt. Die Bestimmung der Kerndurchmesser ergibt, daß besonders die Endothelzellkerne eine Schwellung von annähernd 10% aufweisen, während sie bei den anderen Kernarten unerheblicher ist (Tabelle 4). Berechnet man die Kernanzahl mit der Hennigschen Formel nach Einsetzen der verschiedenen Kernradien, dann ergeben sich bei größeren Kerndurchmesser höhere Kernzahlen. Diese Zunahme der „tatsächlichen“ Kernzahl ist somit lediglich auf die Kernvolumenzunahme zurückzuführen und muß bei einer nachgewiesenen Zellproliferation in Abzug gebracht werden. Bei unseren Fällen wurden aufgrund der Kernvolumenzunahme 8.3% Endothelzellen, 3.2% Deckzellen und 2.8% Mesangiumzellen zuviel gezählt (Tabelle 4), im Mittel 5%. Bei Berücksichtigung dieser

lation des prozentualen Mesangiumzellgehaltes zur Antikörperhöhe nachweisbar. Beim mittleren Mesangiumzellgehalt von 31% liegt der entsprechende mittlere Antikörperwert bei einer Insulinbindungskapazität von 0.82 μ g Insulin/ml, bei einem Mesangi-

Tabelle 4. Kerndurchmesser der einzelnen Zellgruppen bei Normalnieren und Diabetikernieren sowie die prozentuale Angabe der durch die Kernschwellung bedingten Mehrzählung von Zellen. Angegeben sind die Mittelwerte in μ aus jeweils 100 Messungen

	Normal	Diabetes	Mehrzählung durch Kernschwellung
EZ	5.94	6.55	8.3%
DZ	7.13	7.41	3.2%
MZ	6.11	6.28	2.8%

Tabelle 5. Verhalten von Mesangiumvolumen und prozentualen Mesangiumzellgehalt zur Insulinbindungskapazität im Serum (IBK) bei unausgesuchten Diabetikern. Angegeben sind die Mittelwerte
 Mesangiumvolumen in %.
 Mesangiumzellen in %.
 IBK in μ g Insulin/ml.
 (statistische Sicherung $p < 0.005$ für alle Gruppen).

n	Mes.vol.	IBK
2	21.35	1.02
3	14.7	0.6
5	9.7	0.38

n	Mes.zellen	IBK
6	31	0.82
5	19	0.48

umzellgehalt von im Mittel 19% bei 0.48 μ g Insulin/ml (Tabelle 5). Umgekehrte Verhältnisse finden wir bei Korrelation des mittleren Gesamtzellgehaltes, trotz

der Vermehrung der Mesangiumzellen, in 13 Fällen (Abb. 1). Eine ebenfalls negative Korrelation besteht zwischen dem prozentualen Deckzellgehalt mit dem Antikörpertiter, d.h. ein hoher Deckzellgehalt geht mit niedrigen Antikörpertitern und ein niedriger Deckzellgehalt mit höherem Antikörpertiter einher. Beziehungen zwischen prozentualen Endothelzellgehalt und der Antikörperhöhe scheinen nicht zu bestehen.

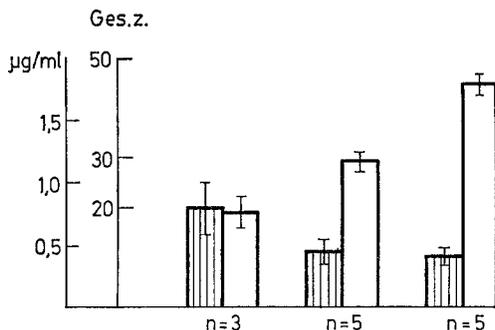


Abb. 1. Beziehung zwischen der glomerulären Gesamtzellzahl und der Höhe der Insulinbindungskapazität des Serums bei 13 unausgewählten Diabetikern. Die Werte stellen Mittelwerte und deren mittleren Fehler dar. Gestrichelte Säulen = IBK in μg Insulin/ml. Weiße Säulen = mittlere Gesamtzellzahl in einem 1μ dicken Glomerulumanschnitt.

In 18 Fällen liegen uns Angaben über den Serumgesamtcholesterinspiegel vor. Bei Vergleich der Fälle mit nicht erhöhtem Cholesterinspiegel (99–206 mg%) und erhöhtem Cholesterinspiegel (242–472 mg%) lassen sich hinsichtlich der mittleren Gesamtzellzahl und des Mesangiumvolumens keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen.

Bei 10 Patienten mit Versagen der Nierenfunktion (leichte Niereninsuffizienz bis Urämie) liegt der mittlere Mesangiumzellgehalt bei 28% (normal 16%) und das mittlere Mesangiumvolumen bei 17% (normal 9–10%), Werten, die zwischen den Mittelwerten der Gruppen II und III liegen.

Bei 27 Patienten waren Angaben über die Art der Therapie gemacht worden. Vier Diabetiker wurden lediglich mit Rastinon und Diät, alle übrigen 23 mit Insulin allein bzw. Insulin und oralen Antidiabetika behandelt. Das Mesangiumvolumen der nicht mit Insulin behandelten Patienten beträgt im Mittel 10%, das der anderen Gruppe im Mittel 16%. Teilt man die Gruppe der Insulin-behandelten Patienten noch weiter auf, dann finden sich 6 Patienten, die eine Dauertherapie mit Insulin benötigten. Bei dieser letzten Gruppe ergibt sich ein mittleres Mesangiumvolumen von 21%.

Diskussion

Überblicken wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen, dann ergibt sich folgendes:

1. Nach einer Diabetesdauer von 6 Jahren finden sich Nieren, die keine Mesangiumvolumenzunahme zeigen und solche, bei denen das Mesangium deutlich vermehrt ist.
2. Bei einer Diabetesdauer von 12 Jahren ist das Mesangiumvolumen gegenüber der Norm verdoppelt.
3. Mit zunehmender Ausprägung des Krankheitsbildes kommt es zu einer echten Proliferation, insbesondere der Mesangium- und Endothelzellen, während die Deckzellen kontinuierlich abnehmen.
4. Eine Vermehrung der Gesamtzellzahl in allen drei Gruppen im Mittel um 47% gegenüber der Norm. Diese Zellzunahme ist nicht abhängig von der Größe der Glomerula, sondern eine echte Proliferation, da die Zellen bezogen auf ein Einheitsvolumen ebenfalls vermehrt sind.
5. Eine deutliche Schwellung der Endothelzellkerne.
6. Eine positive Korrelation des Insulinantikörpertiters zum Mesangiumvolumen und dem prozentualen Mesangiumzellgehalt, während zum Gesamtzellgehalt und zum prozentualen Deckzellgehalt eine negative Korrelation besteht.
7. Eine Abhängigkeit des Mesangiumvolumens oder des prozentualen Mesangiumzellgehaltes vom Serumcholesterinspiegel läßt sich statistisch nicht sichern.
8. Bei Dauertherapie mit Insulin finden sich im Mittel höhere Mesangiumvolumina als bei sporadischer Insulintherapie oder Anwendung von oralen Antidiabetika.

Die von uns erhobenen Befunde stimmen hinsichtlich der quantitativen Ergebnisse weitgehend mit denen anderer Autoren überein (Kimmelstiel 1968; Fukuhara 1968; Iidaka u. Mitarb. 1968). Auch diese Untersucher konnten bei menschlichen Diabetikern mit anderen Untersuchungsmethoden (Zeichnung, Planimetrie) eine Proliferation ortsständiger glomerulärer Zellen nachweisen, und besonders Kimmelstiel (1968) bzw. Iidaka und Mitarbeiter (1968) deuten diese Vermehrung als echte Proliferation. Fukuhara (1968) findet dagegen die Mesangiumzellen pro Flächeneinheit eher vermindert. Hinsichtlich der Mesangiumverbreiterung stimmen alle Untersucher überein, wobei die Ergebnisse von Iidaka und Mitarbeitern (1968) mit den unseren praktisch gleich sind. Damit wären ältere, nicht quantitative Befunde bestätigt, die bei menschlichen Diabetikern (Dachs u. Mitarb. 1963; Fiaschi u. Mitarb. 1963) bei diabetesähnlichen Veränderungen im Experiment (Østerby-Hansen u. Mitarb. 1967; French u. Mitarb. 1967) und bei spontandibetischen Hamstern (Shirai u. Mitarb. 1967) eine Mesangiumzellproliferation beschrieben haben. Auch die Zunahme des Mesangiums in diffuser und/oder nodulärer Form, wie sie nach eindrucksmäßigen Befunden bei menschlichen Diabetikern, im diabetischen Tierexperiment oder bei spontandibetischen Tieren beschrieben wurde (Laipply u. Mitarb. 1944; Fisher u. Mitarb. 1967; Gepts u. Toussaint 1967; Shirai u. Mitarb.

1967; French u. Mitarb. 1967; Treser u. Mitarb. 1968), wird durch die quantitativen Befunde bestätigt. Bei einzelnen diabetischen Tieren allerdings, wie Hamster (Lawe 1962) und Sandratte (Hackel u. Mitarb. 1965) konnten keine nodulären Mesangiumveränderungen nachgewiesen werden. Die von uns beschriebene Abnahme der Deckzellen und Zunahme der Mesangiumzellen mit Fortschreiten der Erkrankungsdauer konnte in gleicher Weise von Iidaka und Mitarbeiter (1968) gefunden werden. Die geschilderten Veränderungen in Diabetikernieren mit einer deutlichen Zunahme der Mesangiumzellen und mit Mesangiumverbreiterung sowie einer echten Gesamtzellproliferation werfen Parallelen zur proliferativen Glomerulonephritis auf, worauf bereits Bell (1953) hingewiesen hat. Geht man davon aus, daß die Proliferation ortsständiger glomerulärer Zellen ein wesentliches Charakteristikum der entzündlichen Glomerulomerkrankungen ist, dann muß nach den vorliegenden Untersuchungen die Frage aufgeworfen werden, ob die diabetischen Glomerululäsionen weiterhin als Glomerulosklerose bezeichnet werden dürfen.

Hinsichtlich der Pathogenese möchten wir in Einklang mit Kimmelstiel (1968, 1969), der im Nodus das Resultat aus mesangialer Proliferation und vermehrter Mesangiummatrixbildung sieht, im pathologisch veränderten Mesangium die Ursache der glomerulären Veränderungen sehen, wobei die Deckzellabnahme eine Anpassung an die vereinfachte Struktur und verminderte Oberfläche des Glomerululäppchens darstellt. Die häufig diskutierte Frage, ob die diffusen und nodulären Glomerulumveränderungen Ausdruck einer Erkrankung sind, wobei die diffuse Form eine Vorstufe der nodulären sein soll und ein Übergang für möglich gehalten wird (Hatch u. Mitarb. 1961; Ormos u. Solbach 1963; Dachs u. Mitarb. 1964; Fukuhara 1968; Kimmelstiel 1968; Ditscherlein 1969), möchten wir in Übereinstimmung mit den genannten Autoren zustimmen, obwohl einzelne Autoren des älteren Schrifttums einen derartigen Zusammenhang ablehnen (Anderson 1954; Gellmann u. Mitarb. 1959).

Nach unseren Untersuchungen halten wir die Entstehung der diabetischen Glomerulumveränderungen über Mesangiolysen mit sekundärer Einlagerung von Plasmasubstanzen (Fukuhara 1968) oder durch Fettembolien (Hartroft 1965) bisher für nicht ausreichend gesichert. Die allgemeine Auffassung, daß die glomerulosklerotischen und mikroangiopathischen Veränderungen mit Dauer der Erkrankung zunehmen (Meier 1961; Østerby-Hansen u. Mitarb. 1967; Ditscherlein u. Mitarb. 1967; Singer u. Mitarb. 1967; Oberdisse u. Irmscher 1968; Treser u. Mitarb. 1968), können wir mit unseren Untersuchungen bestätigen, obwohl neben der Dauer der Erkrankung sicherlich auch andere Faktoren eine Rolle spielen, da in unseren Untersuchungen zwei Gruppen mit gleicher Laufzeit der Erkrankung deutliche morphologische Unterschiede zeigen. Zu diesen Faktoren, die bei der Patho-

genese der diabetischen Glomerulumveränderungen eine Rolle spielen sollen, gehören immunologische Vorgänge, die immer wieder mit dem Insulin in Zusammenhang gebracht werden. Dafür sprechen tierexperimentelle Befunde mit Insulinimmunisierung (Grieble 1960; Ditscherlein u. Mitarb. 1967; Mancini u. Mitarb. 1969; Wehner u. Mitarb. 1969) und immunhistochemische Untersuchungen, die in glomerulosklerotischen Nierenveränderungen Insulin-Antiinsulinkomplexe und Gammaglobuline nachweisen konnten (Freedman u. Mitarb. 1960; Berns u. Mitarb. 1962; Coleman u. Mitarb. 1962; Burkholder 1965; Davies u. Mitarb. 1966). Nach chemischen Analysen diabetischer Glomerula sollen alle Serumbestandteile in allerdings strukturell veränderter Form in den Läsionen vorkommen (Odin u. Törnblom 1959). Die Tatsache, daß der Diabetes mellitus häufig in Verbindung mit anderen Autoimmunmechanismen auftritt, weist in die Richtung der Vorstellungen, die den Diabetes mellitus als einen Immunprozess deuten (Renold u. Mitarb. 1969). Da in unseren Befunden eine deutliche positive Korrelation von Mesangiumvolumen und Mesangiumzellzahl zur Höhe des Antikörpertiters gegen Insulin besteht, halten wir einen Immunprozess im Mesangium, ausgelöst und unterhalten durch Insulin und seine Antikörper, für möglich, obwohl diese Frage noch völlig offen ist (Deckert 1967; Pfeiffer u. Mitarb. 1969). Befunde von Mohos und Mitarbeiter (1963) sprechen dagegen, da diese Untersucher keine Korrelation von Insulin-Antikörpern zu Nierenläsionen fanden. Die negative Korrelation des Gesamtzellgehaltes und Deckzellgehaltes zu den Insulin-Antikörpertitern in unseren Untersuchungen sind Ausdruck der Deckzellabnahme mit zunehmender Vergrößerung des Mesangiums, die ihrerseits in positiver Korrelation zu den Antikörpertitern steht. Auch die von uns beobachtete Tatsache, daß die Patienten mit Insulin-dauertherapie ein deutlich höheres Mesangiumvolumen als die nicht oder nur sporadisch mit Insulin behandelten Patienten aufweisen, deutet in diese Richtung, zumal die diabetische Stoffwechsellage, die bei diesen Befunden ebenfalls diskutiert werden könnte, nach Untersuchungen von Missmahl und Riemann (1968) offenbar keine Rolle spielt. Neben ätiologischen Faktoren wie Hypertonie (Zollinger 1968), toxisch infektiöse Einwirkungen (Spühler u. Zollinger 1943) oder Ablagerungen von Polysacchariden (McManus 1948; Randerath u. Mitarb. 1960) ist immer wieder dem Cholesterin bzw. Lipidstoffwechsel eine ätiologische Rolle zugesprochen worden (Fanconi u. Mitarb. 1948; Adlersberg u. Mitarb. 1956; French u. Mitarb. 1967; Bergstrand u. Mitarb. 1968). In unseren Untersuchungen ließ sich eine Abhängigkeit der wesentlichen Strukturveränderungen, wie Mesangiumzunahme und Zellproliferation von der Höhe des Serumgesamtcholesterins nicht nachweisen. Diese Tatsache deutet in die Richtung von Ansichten, daß die Anhäufung von Serumlipiden bei Diabetikern völlig unspezifisch ist (Jahnke u. Mitarb. 1969).

Literatur

- Adlersberg, D., Wang, Ch., Rifkin, H., Berkman, J., Ross, G., Weinstein, C.: Serum lipids and polysaccharides in diabetes mellitus. *Diabetes* **5**, 116–126 (1956).
- Anderson, G.S.: The pathogenesis of diabetic glomerulosclerosis. *J. Path. Bact.* **67**, 241–245 (1954).
- Bell, E.T.: Renal vascular disease in diabetes mellitus. *Diabetes* **2**, 376–389 (1953).
- Bergstrand, A., Nathorst-Windahl, G., Hellman, B.: The electron microscopic appearance of the glomerular lesions in obese-hyperglycaemic mice. *Acta path. microbiol. scand.* **74**, 161–168 (1968).
- Berns, A.W., Owens, C.T., Hirata, Y., Blumenthal, H.T.: The pathogenesis of diabetic glomerulosclerosis. II. A demonstration of insulin-binding capacity of the various histopathological components of the disease by fluorescence microscopy. *Diabetes* **11**, 308–317 (1962).
- Burkholder, P.M.: Immunohistopathological study of localized plasma proteins and fixation of guinea pig complement in renal lesions of diabetic glomerulosclerosis. *Diabetes* **14**, 755–770 (1965).
- Coleman, S.L., Becker, B., Canaan, S., Rosenbaum, L.: Fluorescent insulin staining of the diabetic eye. *Diabetes* **11**, 375–377 (1962).
- Dachs, S., Chung, J., Mautner, W., Grishman, E.: Diabetic nephropathy. *Amer. J. Path.* **44**, 155–161 (1964).
- Davies, M.J., Woolf, N., Carstairs, K.C.: Immunohistochemical studies in diabetic glomerulosclerosis. *J. Path. Bact. (Edinb.)* **92**, 441–445 (1966).
- Deckert, T.: Autoimmunological aspects of diabetes mellitus. *Acta med. scand. Suppl.* **476**, 29–41 (1967).
- Dieterle, P.: Pathogenese und Therapie der diabetischen Angiopathie. *Med. Klin.* **64**, 55–59 (1969).
- Ditscherlein, G.: Nierenveränderungen bei Diabetikern. Jena: G. Fischer 1969.
- Marx, I., Dena, R.: Elektronenmikroskopische Befunde am Kaninchenglomerulum nach 1½ bis 2jähriger Insulinmedikation. *Exp. Path.* **1**, 165–176 (1967).
- Fanconi, G., Botsztejn, A., Kousmine, C.: Die Nephropathie beim kindlichen Diabetes. *Helvet. paediat. Acta* **3**, 341–379 (1948).
- Fiaschi, E., Scuro, L.A., Naccarato, R., Monti, G., Serpi, G., Sirigu, F.: Intorno alle prime alterazioni morfologiche del rene nel diabete giovanile recente. *Minerva nefrol.* **10**, 95–108 (1963).
- Fisher, E.R., Perez-Stable, E., Amidi, M., Sarver, M.E., Danowski, T.S.: Ultrastructural renal changes in juvenile diabetics. *J. Amer. med. Ass.* **202**, 291–295 (1967).
- Freedman, P., Peters, J.H., Kark, R.M.: Localization of gammaglobulin in the diseased kidney. *Arch. intern. Med.* **105**, 524–535 (1960).
- French, S.W., Yamanaka, W., Ostwald, R.: Dietary induced glomerulosclerosis in the guinea pig. *Arch. path.* **83**, 204–210 (1967).
- Fukuhara, N.: Histometrical studies on the kidneys in diabetes mellitus. *Tōhoku J. exp. Med.* **95**, 15–33 (1968).
- Gellman, D.D., Pirani, C.L., Soothill, J.F., Muehreke, R.C., Kark, R.M.: Diabetic nephropathy: a clinical and pathological study based on renal biopsies. *Medicine (Baltimore)* **37**, 321–367 (1959).
- Gepts, W., Toussaint, D.: Spontaneous diabetes in dogs and cats. A pathological study. *Diabetologia* **3**, 249–265 (1967).
- Griehle, H.G.: Renal lesions induced by heterologous insulin: an example of foreign protein nephritis. *J. Lab. clin. Med.* **56**, 819–820 (1960).
- Hackel, D.B., Schmidt-Nielsen, K., Haines, H.B., Mikat, E.: Diabetes mellitus in the sand rat. (*Psammomys obesus*). *Lab. Invest.* **14**, 200–207 (1965).
- Hartroft, W.S.: Fat emboli in glomeruli capillaries of choline-deficient rats and of patients with diabetic glomerulosclerosis. *Amer. J. Path.* **31**, 381–397 (1955).
- Hatch, F.E., Watt, M.F., Kramer, N.C., Parrish, A.E., Howe, J.S.: Diabetic glomerulosclerosis. A long-term follow-up study based on renal biopsies. *Amer. J. Med.* **31**, 216–230 (1961).
- Hennig, A.: Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik. *Mikroskopie* **12**, 174–202 (1957).
- Jidaka, K., McCoy, J., Kimmelstiel, P.: The glomerular mesangium. A quantitative analysis. *Lab. Invest.* **19**, 573–579 (1968).
- Jahnke, K., Heinzler, F., Asseuer, G., Breitbach, A.: Papierelektrophoretische Untersuchungen der Proteine, Lipoproteine und Glucoproteide im Serum bei Diabetes mellitus. In: Oberdisse/Jahnke: *Diabetes mellitus*, pp. 107–112. Stuttgart: Thieme-Verlag 1959.
- Kallee, E., Debiasi, S., d'Addabbo, A.: Studies on ¹³¹I labelled insulin. VI. Immunological experiments on the binding of ¹³¹I-insulin to serum proteins of normal, analbuminemic, and insulin-treated subjects. *Acta isotop.* **3**, 239 (1963).
- Kimmelstiel, P.: Diabetic nephropathy. In: *Structural basis of renal disease* (ed. by Becker, E.L.). New York: Harper & Row 1968.
- Diabetische Glomerulosklerose. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **74**, 95–102 (1968).
- persönliche Mitteilung 1969.
- Wilson, C.: Intercapillary lesions in glomeruli of kidney. *Amer. J. Path.* **12**, 83–98 (1936).
- Laipply, T.C., Eitzen, O., Dutra, F.R.: Intercapillary glomerulosclerosis. *Arch. intern. Med.* **74**, 354–364 (1944).
- Lawe, J.E.: Renal changes in hamster with hereditary diabetes mellitus. *Arch. Path.* **73**, 188–196 (1962).
- Lohss, F., Kallee, E.: Immunological detection of the binding of ⁵⁹Fe-ascorbinate, ¹³¹I-thyroxine and ¹³¹I-insulin to serum proteins. In: *Protides of the biological fluids* (ed. by Peeters, H.). Proc. 8th. Coll., Bruges 1960, pp. 142–146. Amsterdam: Elsevier 1961.
- Mancini, A.M., Zampa, G.A., Geminiani, G.D., Vecchi, A.: Experimental nodular “diabetic-like” glomerulosclerosis in guinea pigs following long-acting, heterologous insulin immunization. *Diabetologia* **5**, 155–166 (1969).
- McManus, J.F.A.: The periodic acid routine applied to the kidney. *Amer. J. Path.* **24**, 643–653 (1948).
- Meier, H.: Comparative aspects of spontaneous diabetes mellitus in animals. *Amer. J. Med.* **31**, 868–873 (1961).
- Missmahl, H., Riemann, J.: Einfacher Nachweis der Mikroangiopathie an den Kapillaren der Rectumschleimhaut bei Diabetikern. *Klin. Wschr.* **46**, 374–376 (1968).
- Mohos, S.C., Hennigar, G.R., Fogelman, J.A.: Insulin-induced glomerulosclerosis in the rabbit. *J. exp. Med.* **118**, 667–680 (1963).
- Oberdisse, K., Irmscher, K.: Diabetes und Niere. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **74**, 102–112 (1968).
- Odin, L., Törnblom, N.: Studies on the chemical composition of glomeruli isolated from human kidneys with Kimmelstiel-Wilson lesions. *Acta Soc. Med. upsalien.* **64**, 313–321 (1959).
- Ormos, J., Solbach, H.G.: Beitrag zur Morphologie der Niere bei Diabetes mellitus. *Frankf. Z. Path.* **72**, 379–418 (1963).
- Østerby-Hansen, R., Lundbæk, K., Steen-Olsen, T., Ørskov, H.: Kidney lesions in rats with severe long-term alloxan diabetes. III. Glomerular ultrastructure. *Lab. Invest.* **17**, 675–692 (1967).
- Palkovits, M., Fischer, J.: Karyometrische Untersuchungen. Budapest: Akademiai Kiado 1968.

- Pfeiffer, E.F., Ditschuneit, H., Federlin, K.: Die Inselzellschormone: Die Immunologie des Insulins. In: Hdb. des Diabetes mellitus, Bd. I, pp. 155—201. München: J.F. Lehmanns Verlag 1969.
- Randerath, E., Diezel, P.B., Pfeleiderer, A.: Histochemische Befunde an den Glomerulumveränderungen bei der diabetischen Glomerulosklerose. Arch. Vecchi **31**, 385 (1960).
- Renold, A.E., Gonet, A.E., Vecchio, D.: Immunopathology of the endocrine pancreas. In: Textbook of Immunopathology, (ed. by Miescher, P.A., and H.J. Müller-Eberhard), Vol. II, pp. 595—601. New York, London: Grune & Stratton 1969.
- Shirai, T., Welsh, G.W., Sims, E.A.H.: Diabetes mellitus in the Chinese hamster. II. The evolution of renal glomerulopathy. Diabetologia **3**, 266—286 (1967).
- Singer, P., Ditscherlein, G., Natusch, R.: Der diagnostische Wert der Nierenbiopsie bei Diabetikern. Dtsch. Gesundheitswes. **22**, 2321—2326 (1967).
- Spühler, O., Zollinger, H.U.: Die diabetische Glomerulosklerose. Dtsch. Arch. klin. Med. **190**, 321—370 (1943).
- Treser, G., Oppermann, W., Ehrenreich, T., Lange, K., Levine, R., Camerini-Davalos, R.A.: Glomerular lesions in a strain of genetically diabetic mice. Proc. Soc. exp. Biol. **129**, 820—823 (1968).
- Wehner, H.: Zur Frage der glomerulären Zellproliferation bei akuter membranöser Glomerulonephritis. Verh. dtsh. Ges. Path. **52**, 288—293 (1968).
- Stereologische Untersuchungen am Mesangium normaler menschlicher Nieren. Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. **344**, 286—294 (1968).
- Schade, U., Liebermeister, E., Veigel, J.: Quantitative morphological findings in the glomerulum of the kidney of insulin-sensibilised guinea-pigs. In: Abstracts I, p. 42, IVth. Intern. Congr. Nephrology, Stockholm, Sweden, 1969.
- Woernle, M.: Beitrag zur kaliopenischen Nephropathie. Inaug. Diss. Tübingen 1969.
- Zollinger, H.U.: Niere und ableitende Harnwege. In: Doerr/Uehlinger: Spez. path. Anatomie, Bd. III. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

Dr. H. Wehner
Pathologisches Institut der
Universität Tübingen
D-74 Tübingen
Liebermeisterstr. 8