

A VESE BAZÁLIS MEMBRÁNOK ULTRASTRUKTURÁLIS PATOLÓGIÁJA TOPO-OPTIKAI REAKCIÓK TÜKRÉBEN

DEÁK GYÖRGY

POTE Kórbonctani Intézet, Pécs

A bazális membránok különböző típusú sejtek (epitél, endotél, mezotéliális sejtek) által termelt, a sejtek és a környező kötőszöveti állomány között kialakult speciális határmembránok (KURTZ és FELDMANN 1962) kollagén típusú fehérje alapvázal (SHARP és mtsai 1967). A sejtek számára ideális tapadó felszín szolgáltatnak (KHODADOUST és mtsai 1968, VRACKO és BENDITT 1972), és szűrőfunkciójuk révén befolyásolják a sejtek anyagcsere-folyamatait, mivel a sejtek és az intersticium közötti anyagmozgás a bazális membránokon keresztül történik (GEKLE és MERKER 1966). A filtráció mértékét a fibrillumok közötti teret kitöltő egyéb anyagok (lipoidok) és az így kialakult pórusok átteresztőképessége határozza meg. Ezért a bazális membrán működésének pontosabb megismeréséhez a felépítés, kémiai összetétel mellett az ultrastrukturális viszonyok ismerete is szükséges (BRUCHHAUSEN és MERKER 1967, GANG és mtsai 1972).

A kémiai összetétel kiderítésében a hisztokémiai és biokémiai vizsgálatok játszották a döntő szerepet. Igazolták a kollagén típusú fehérjék és lipoidok jelenlétét (WINDRUM és mtsai 1955, KEFALIDES 1971, MATAKAS és mtsai 1972, SPIRO 1973), kimutatták, hogy a bazális membránok nagy mennyiségben (10–12%) tartalmaznak fehérjékhez kapcsolt cukorkomponenseket (KEFALIDES 1968), melyek felelősek a PAS-és perjód-metenamin-ezüst reakciók pozitívításáért (RAMBOURG és LEBLOND 1967).

A biokémiai, immunhisztokémiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok fényt derítettek a pórusnagyság és az átteresztőképesség viszonyára, a bazális membránok kóros változásai és az átteresztőképesség zavarának összefüggéseire (KEFALIDES 1968, PIERCE 1963, GEKLE és mtsai 1966a, GANG 1970).

Egyes esetektől eltekintve (alacsonyabb rendű állatok speciális bazális membránjai, kóros membránok) (TERZAKIS 1967, BERLINER 1969, FEHÉR és VALU 1969, NADOL és mtsai 1969, FLICKINGER 1970, HOLTER 1970, ATKINS és KRAUSE 1971) hisztokémiai és elektronmikroszkópos megjelenési formájukat tekintve a bazális membránok homogén, esetleg mikrofilamentáris szerkezetet mutatnak (OLÁH 1968, RAMBOURG és LEBLOND 1967). Ezért a micelláris rendezettségről felvilágosítást csak a polarizációs mikroszkópos módszerek adhatnak.

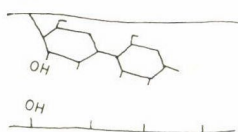
A polarizációs mikroszkópia eddig számos adattal járult hozzá a bazális membránok szerkezeti viszonyainak, felépítésének jobb megismeréséhez. A pozitív fenol reakció alapján rendezett micelláris szerkezetű, kollagén típusú fehérje alapváz feltételezhető (BREWER 1957), és a festetlen állapotban észlelt alkohol labilis negatív kettőtörés a bazális membránok hosszirányára merőlegesen rendezett lipidok jelenlétét bizonyította (ROLLHÄUSER 1956, GEKLE és mtsai 1966b).

A festetlenül észlelt gyenge kettőtörés azonban finomabb polarizációs optikai vizsgálatokra nem volt alkalmas. Ezért további előrelépést a bazális membránok szubmikroszkópos morfológiai jellegzetességeinek tanulmányozásában az Intézetünkben kidolgozott specifikus topo-optikai reakciók alkalmazása jelentett.

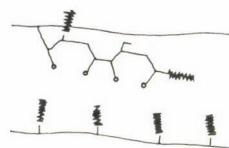
Topo-optikai reakcióknak azokat a hisztokémiai reakciókat nevezzük, melyek színtelen vagy színes anyagoknak micelláris struktúrákhoz való kötődése által az eredeti optikai jelleg megváltozását eredményezik, és így az eredeti gyenge kettőtörést felerősítve ezen struktúrák polarizációs mikroszkópos tanulmányozását, illetve a micelláris szerkezetben kialakult finom változások kimutatását teszik lehetővé. Vizsgálataink során a következő topo-optikai reakciókat alkalmaztuk:

1. *Fenol-reakció* (EBNER 1894). Fenol és kanadabalsam 1 : 1 arányú keverékével lefedett metszeteken a kollagénrostok negatív kettőtörést mutatnak, mely szelektív kollagén reakciónak felel meg.

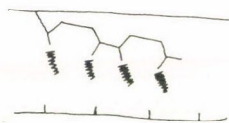
2. *Perjódsvav-szulfatálás + toluidinkék festés* (pH 1) (ROMHÁNYI és mtsai 1973). A szulfatálás során valamennyi szabad OH-csoport reagál. Ha azonban perjódsvav kezeléssel a cukorkomponensek vicinális OH-csoportjait aldehiddé alakítjuk át, akkor a cukor kikapcsolása következtében csak a kollagén lizin-OH-csoportjai reagálnak, ami szelektív kollagén reakciót biztosít.



KONTROL



H₂O₂ - SZULFATÁLÁS
TOLUIDIN-KÉK pH 1,0
SZELEKTIV KOLLAGÉN
REAKCIÓ



ALDEHID-BISZULFIT-
TOLUIDIN-KÉK pH 1,0
(ABT) REAKCIÓ
SZELEKTIV KARBOHIDRÁT
REAKCIÓ

Az így kapott savanyú töltések következtében bazofil festődés, rendezett micelláris alapváz esetén intenzív kettőtörés jön létre.

Mint korábbi vizsgálatainkból ismert (ROMHÁNYI és mtsai 1974) perjód-sav szulfatálás a kollagént és a bazális membránokat tripszinnel emésztethetővé teszi. Mivel egyéb fibrilláris fehérjék (fibrin, amiloid, miozin) és a sejtes elemek nem emésztődnek, a perjód-sav szulfatálás utáni tripszin emésztődés ugyancsak a kollagén típusú (így a bazális membránok alapvázat képező) fehérjék specifikus reakciójának tekinthető.

4. *Aldehyd-biszulfít-toluidinkék reakció* (ABT-reakció ROMHÁNYI és mtsai 1975, 1976). A perjód-sav oxidációval dialdehiddé alakított vicinális OH-csoportok biszulfít addíció által negatív töltésűekké válnak, és bazofil festődést mutatnak. Így szelektív szénhidrát reakciót kapunk. Az OH-csoportok lineáris rendezettsége esetén a cukorláncokra negatív kettőtörés alakul ki (1. előbbi ábrát).

A precipitációs toluidinkék festést a már korábban közölt módon végeztük (ROMHÁNYI és mtsai 1975). A polarizációs mikroszkópos vizsgálatokat OPTON Standard WL pol-polarizációs mikroszkópon végeztük, a kettőtörést $\lambda/4$ -es kompenzátorral, Senarmont módszere szerint mértük.

5. *Elektronmikroszkópos vizsgálatok* céljára a formalinban fixált anyagokat ozmium utófixálás után Durcupanba ágyasztuk és az ultravékony metszeteket uranil-acetáttal és ólomcitráttal festettük. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokat TESLA BS-243 típusú elektronmikroszkópon végeztük.

Jelen előadásban főleg veséken végzett vizsgálatainkról számolunk be. A vese igen alkalmas objektum bazális membránok tanulmányozására, mivel nagy mennyiségben tartalmaz különböző típusú bazális membránokat. A glomerulusok filter funkciója és a tubulusok érzékenysége miatt a vese számos kórfolyamatban vesz részt, ami legtöbbször a bazális membránok érintettségével jár együtt.

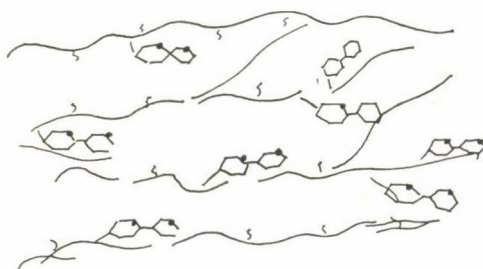
1. *A bazális membránok szerkezetkomponenseinek kimutatása topo-optikai reakciókkal*

A bazális membránok felépítésében glikozilált kollagén típusú fehérje alapváz vesz részt a fehérjeláncok alkotta hálózat pórusaiban lipoidokkal. Ezek a komponensek topo-optikai reakciókkal a következő hisztológiai és polarizációs optikai jellegzetességeket mutatják.

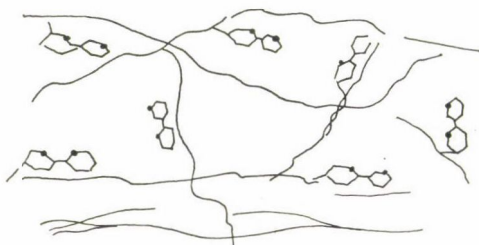
a) *Kollagén*. A bazális membrán alapvázat képező kollagén típusú fehérjék kimutatása fenol reakcióval lehetséges (1. ábra). Az így kapott negatív kettőtörés bár kollagénre specifikus, gyengesége miatt finomabb polarizációs optikai vizsgálatokat nem tesz lehetővé. Kollagén rostok anizotróp feltüntetése történhet még pikro-sirius festéssel is (PUCHTLER és mtsai 1973), ez a módszer azonban bazális membránokra nem alkalmazható, mivel a bazális

membránok — feltehetően a cukorkomponensek jelenléte miatt — kettőtörést nem mutatnak. A kollagén típusú fehérjék vizsgálatára perjód-szulfatálás és savanyú toluidinkék festés szolgál (ROMHÁNYI és mtsai 1973). A bazális membránok fénymikroszkóposan bazofil festődéssel és keresztezett polarizátorok között intenzív zöld polarizációs színnel tűnnek fel (2. ábra). Az így kapott kettőtörés a bazális membrán hosszirányára negatív előjelű, mely hosszanti irányba rendezett fehérjeláncokra utal. A glomerulusokban a polarizációs effektus jóval gyengébb, izotróphoz közel álló.

b) *Szénhidrát komponens.* A szénhidrát komponensek szelektív kimutatására az ABT-reakció alkalmas. Mint az a 3. ábrán látható, fénymikroszkóposan a reagáló struktúrák szelektív bazofil festődést mutatnak, keresztezett polarizátorok között intenzív, a hosszirányra negatív kettőtöréssel. A negatív kettőtörés jelzi, hogy a diszaharid molekulák hossz tengelye a fehérjeláncokkal párhuzamosan helyezkedik el. A cukorkomponensek igen jó rendezettségére utal a festetlen kettőtöréshez viszonyított (3—4 $m\mu$ -os) emelkedett kettőtörés (25—30 $m\mu$ útkülönbség). ABT-reakció után is, hasonlóan a perjód-szulfatáláshoz, megfigyelhető, hogy a glomerularis bazális membránok optikai aktivitása gyengébb, mint a peritubuláris bazális membránoké, ami arra utal, hogy mind a fehérjeláncok, mind a szénhidrát komponensek a glomerulusokban lazább micelláris szerkezetet alkotnak.



PERITUBULÁRIS BAZÁLIS MEMBRÁN



GLOMERULÁRIS BAZÁLIS MEMBRÁN

Az egyes bazális membrántípusok (glomerularis, peritubularis) közti különbségekre hisztokémiai (GEYER, 1962; KUPFER és GEYER, 1968; VELICAN és VELICAN, 1970), immunhisztokémiai (PIERCE, 1963) és biokémiai vizsgá-

latok utalnak, és a kémiai összetételben talált különbségekkel magyarázzák a működésbeli eltéréseket. Ezen vizsgálatokkal egybehangzóan topo-optikai reakciók alapján is a fő funkciójában filter szerepet betöltő glomeruláris bazális membrán laza hálózatos szerkezete feltételezhető.

c) *Lipoid*. Festetlen fagyasztott metszetekben gumiarabikum lefedés után a bazális membránok gyengén negatív kettőtörésűek (4. ábra). Szubtraktív kompenzáció esetében a vízszintes bazális membránszegmentumok a citomembránokhoz hasonlóan világosak, ami hosszirányra merőlegesen orientált lipoid komponensekre utal. Ez a gyenge optikai effektus toluidinkék festéssel nagyfokban felerősíthető, az eredeti festetlenül mért 3—4 μ útkülönbség pH 4,5 toluidinkék festés és K-ferricianid-K-jodid keverékével végzett precipitáció után 25—30 μ -ra fokozható, ami a polarizációs optikai vizsgálatok érzékenységét nagyfokban megnöveli. Mint az az 5. ábrán megfigyelhető, keresztezett polarizátorok között a citomembránok mellett a bazális membránok is erős kettőtöréssel tűnnek fel. A lipoidok alkoholos kioldással történt eltávolítása ezt a kettőtörést majdnem teljesen eltünteti, míg a festékkötés változatlan marad, ami arra utal, hogy a lipoidok a toluidinkék festékmolekulák orientációjában játszanak szerepet.

2. Kóros bazális membránok topo-optikai reakciói

A bazális membrán kóros elváltozásai általában a membrán kiszélesedésével járnak együtt. Ennek legegyszerűbb formája a bazális membrán duzzadása, mely kísérletesen kémiai (THIELE és mtsai 1969) vagy enzimatis (AMON és GEYER 1963) úton váltható ki. Hasonló jelenség figyelhető meg a sejtek anoxiás károsítását követően is, amikor vesében és glomerulusok körüli Bowman-tok bazális membránja (6. ábra) hosszabb szakaszon kiszélesedett, és állománya lemezesen fellazult.

a) *Lemezes szerkezetű* bazális membrán-megvastagodás leggyakrabban sejtpusztulást követő regeneráció során alakul ki (ATKINS és KRAUSE 1971, SABA és mtsai 1972, VRACKO és BENDITT 1972).

Kísérletes kriptorhizmust követő sejtregeneráció során korai fázisban az egyes bazális membránrétegek elektronmikroszkóposan jól elkülöníthetők (7. ábra). A bazális membránrétegek között sejttörmelék és szemcsés alapállomány helyezkedik el. Az ábrán a bazális membránt termelő sejt aktivitása jól megfigyelhető. Szembetűnőek a sejtmembránhoz tapadó vakuolumok, melyek a bazális membrán előanyagot tartalmazzák és féldezmoszómaszerű képleteket alkotva ürítik tartalmukat az extracelluláris térbe.

Több szerző vizsgálatai szerint a vakuolumok rendezettsége és a sejtmembrán felszíni töltésviszonyai irányítják az itt kiválasztódó fehérjetermészetű anyagokat és ezen tényezők függvénye az újdonszövő bazális membrán micelláris szerkezete is (BRANSON 1968, BLÜMCKE és mtsai 1969, FLICKINGER

1970, BRIGGAMAN és mtsai 1971). Ezen adatok ismeretében juthatunk el a sejtzorganizáció egyik alapproblémájának, a sejt — sejtmembrán — external coat — bazális membrán funkcionális egységének felismeréséhez (BENNETT 1963, OLÁH 1968). Vese tubulusok körül is gyakran találhatók réteges szerkezetű bazális membrán megvastagodások (8. ábra), melyek perjódsav-szulfatálást követő tripszin emésztéssel kiemészthetők, helyükön sejttermékeknek megfelelő szemcsés anyag marad vissza.

b) *Homogén* bazális membrán-megvastagodás a sejtek anyagcsere-zavarainál, leggyakrabban diabetes mellitus eseteiben képződik (MISRA és BERMANN 1968, BEISSWENGER és SPIRO 1970, ROBERT 1971, KILO és mtsai 1972). A kóros elváltozás oka feltehetően a magas szöveti glükóz szint miatt fokozott glikoziltranszferáz aktivitás, mely nagyobb mennyiségű és magasabb cukortartalmú bazális membrán képződéséhez vezet (SPIRO és SPIRO 1971).

Diabetes mellitus eseteiben a Henle-kacsok körüli bazális membrán-megvastagodás speciális göbös formája figyelhető meg (DEÁK 1976). Tripszin előemésztés és ABT reakció után (9. ábra) jól látható, hogy a kóros területekben a bazális membránok részben göbös megvastagodást mutatnak, részben tüskeszerű nyúlványokat bocsátanak a környező intersticium felé. A göccos megvastagodások között viszont teljesen normális vastagságú bazális membránrészek helyezkednek el. Tripszin előemésztés az ABT reakciót zavaró, nem specifikus fehérjekomponensek eltávolítása révén a toluidinkék kötés szelektivitását, és a megkötött festékmolekulák rendezettségét nagymértékben javította, így keresztezett polarizátorok között mind az ép, mind a kóros területek intenzív kettőtörést mutatnak, bár a polarizációs színekben eltérés található.

Az ép bazális membránok és a kóros bazális membránok keskeny szakaszai ABT reakció után intenzív zöld polarizációs színben tűnnek fel, mely a festékmolekulák nagyfokú rendezettségét és jól orientált micelláris struktúrát jelez. A kóros megvastagodott területek viszont vörös polarizációs színben jelennek meg, ami a micelláris rendezettség nagyfokú csökkenését jelzi.

Ezen területből készült elektronmikroszkópos képen is megfigyelhető (10. ábra) a Henle-kacsok körüli bazális membrán göccos kiszélesedése, melynek szerkezete megegyezik a szomszédos ép területekével. Feltűnő, hogy e megvastagodott területek szomszédságában gyakran találhatók kapilláris átmetsetek.

Diabetes mellitushoz társulhat a harántcsíkkolt izomrostok kapillárisai körül szegmentális jellegű bazális membrán-megvastagodás (KILO és mtsai 1972), a szegmentális jelleg oka azonban nem ismert. Vesében a Henle-kacsok körüli göccos jellegű bazális membrán-megvastagodást LENDRUM és mtsai (1972) írták le, és fibrin inkorporáció következményének tartották.

Elektronmikroszkópos és topo-optikai reakciókkal végzett vizsgálataink szerint azonban a göccos megvastagodások egyértelműen bazális membrán természetűnek bizonyultak. Az elektronmikroszkóposan kimutatott homogén

jelleg a diabetezes anyagcserezavar szerepére utal, az eddig ismert tényezők azonban nem magyarázzák a gócos megjelenési formát, mely sejthatárokkal nincs összefüggésben. A vesehámsejtek körüli bazális membránokon fiziológiásan is megfigyelhetők a lumen felé benyúló trabekulák, melyek feltehetően felületnővelő szerepet töltenek be (WAUGH és mtsai 1967). Ezek megvastagodása okozhatna hasonló képet, önmagában azonban nem elegendő a noduláris jelleg magyarázatára. Ezért tulajdonítottunk nagy jelentőséget annak a megfigyelésnek, hogy a gócos környezetében igen gyakran kapilláris átmetszetek találhatóak. A kapillárisok közelében feltehetően fokozott glükóz koncentráció képes lehet a hámsejtek bazális membrán termelésének megváltoztatására.

A bazális membránok kóros átalakulásának legfontosabb morfológiai jelei: az ABT bazofilia fokozódása (11. ábra) az emelkedett szénhidráttartalomnak megfelelően, az újdoképződött anyag bazális membrán természetének igazolása perjódsav-szulfatálás-tripszin emésztéssel, mely szelektíve a kollagén típusú fehérjéket emészt ki, míg a fibrin, amiloid és az erekben található hialin változatlan marad (8. ábra), és végül a micelláris rendezettség csökkenését jelző vörös polarizációs színek megjelenése (11. ábra).

A vörös polarizációs szín részben a micelláris rendezettség csökkenése, részben a festékkötés emelkedése miatt megnövekedett izotróp felülfestés következménye. A festékmennyiség növekedése ugyanis a spektrum zöld tartományában a toluidinkék metakromáziás elnyelési maximumának megfelelően erős elnyelést okoz, ami az analizátoron átjutó fény zöld komponensét lecsökkenti, és a csökkent kettőtöréssel együtt a polarizációs színek vörös felé való eltolódását hozza létre.

Ez a jelenség a szerkezet megváltozásának igen érzékeny indikátora, és a kezdődő bazális membrán károsodást már akkor jelzi, amikor bazális membrán-megvastagodás még ki sem mutatható.

Összefoglalásul megállapíthatjuk, hogy topo-optikai reakciókkal a bazális membránokat felépítő komponensek (fehérje, szénhidrát, lipoid) rendezettsége polarizációs mikroszkópos módszerekkel jól meghatározható. Az alkalmazott topo-optikai reakciókkal az egyes bazális membrán típusok között különbség mutatható ki: a glomeruláris bazális membránok csökkent optikai aktiválása alapján lazább micelláris szerkezetük feltételezhető.

Kóros esetekben a bazális membránok megvastagodnak, fokozott sejtpusztulás és regeneráció esetén az újdoképződő rétegek *lemezes* szerkezetet adnak, míg fokozott sejttevékenység (diabetes mellitus) *homogén* jellegű bazális membrán-megvastagodást idéz elő a Henle-kacsok körül jellegzetesen gócos megjelenési formával. Mindkét esetben ABT reakcióval fokozott bazofilia és vörös polarizációs színek mutatkoznak, ami magasabb cukortartalomra és lazább micelláris szerkezetre utal. Perjódsav-szulfatálás-tripszin emésztéssel a kóros területek emészthetők változatlan bazális membrán természetüknek megfelelően.

IRODALOM

1. AMON, H., GEYER, J.: Elektronmikroskopische Untersuchungen über den Einfluss der Hyaluronidase auf die Basalmembran der Glomerulumkapillaren mit besonderer Berücksichtigung der Permeabilitätsfrage. *Klin. Wschr.* **41**, 163–172 (1963).
2. ATKINS, A. M., KRAUSE, W. J.: An unusual basement membrane underlying intestinal epithelium of the Platypus (*Ornithorhynchus anatinus*). *Experientia* **27**, 686–688 (1971).
3. BANGA, I.: Keresztkötésű aminosavak szerepe a scleroproteinek struktúrájában. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **13**, 55–68 (1970).
4. BEISSWENGER, P. J., SPIRO, R. G.: Human glomerular basement-membrane: chemical alteration in diabetes mellitus. *Science N. Y.* **168**, 596–598 (1970).
5. BENNETT, H. S.: Morphological aspects of extracellular polysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.* **11**, 14–23 (1963).
6. BERLINER, J.: The effects of the epidermis on the collagenous basement lamella of Anuran larval skin. *Develop. Biol.* **20**, 544–562 (1969).
7. BLÜMCKE, S., RODE, J., NIEDORF, H. R.: Formation of the basement membrane during regeneration of the corneal epithelium. *Z. Zellforsch.* **93**, 84–92 (1969).
8. BRANSON, R. J.: Orthogonal arrays of microtubules in flattening cells of the epidermis. *Anat. Rec.* **160**, 109–122 (1968).
9. BREWER, D. B.: Differences in the fine structure of collagen and reticulin as revealed by the polarizing microscope. *J. Path. Bact.* **74**, 371–385 (1957).
10. BRIGGAMAN, R. A., DALLDORF, F. G., WHEELER, C. E. Jr.: Formation and origin of basal lamina and anchoring fibrils in adult human skin. *J. Cell. Biol.* **51**, 384–395 (1971).
11. BRUCHHAUSEN, F. von, MERKER, H.-J.: Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte. *Histochemie* **8**, 90–108 (1967).
12. DEÁK Gy.: Nodular thickening of peritubular basement membranes in diabetic kidneys. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.* **24**, 191–202 (1976).
13. EBNER, V. v.: Über eine optische Reaktion der Bindesubstanzen auf Phenole. *Sitz. Akad. Wiss. Wien, math. nat. Kl. Abt. 3.* **103**, 162–188 (1894).
14. FEHÉR, J., VALU, L.: Über die Struktur der Descemetischen Membran. *Graefes Arch. Ophthalm.* **179**, 65–73 (1969).
15. FLICKINGER, C. J.: Extracellular specializations associated with hemidesmosomes in the fetal rat urogenital sinus. *Anat. Rec.* **168**, 195–202 (1970).
16. GANG, N. J.: Ultrastructure of the glomerular basement membrane, as visualized by lanthanum. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **135**, 223–227 (1970).
17. GANG, N. F., TRACHTENBERG, E., WHEATLEY, P. J., MAUTNER, W.: Glomerular basement membrane damage in amino-nucleoside nephrosis as visualized by lanthanum. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **140**, 449–453 (1972).
18. GEKLE, D., BRUCHHAUSEN, v. F., FUCHS, G.: Über die Grösse der Porenäquivalente in isolierten Basalmembranen der Rattennierenrinde. *Pflüger's Archiv* **289**, 180–190 (1966).
19. GEKLE, D., MERKER, H.-J.: Neue Vorstellungen über Struktur und Funktion der glomerulärer Basalmembran der Niere. *Klin. Wschr.* **44**, 1217–1224 (1966).
20. GEKLE, D., OELERT, H., BAUMANN, K., BRUCHHAUSEN, v. F.: Verteilungskoeffizienten schwacher organischer Säuren in einer isolierten Basalmembranfraktion der Rattennierenrinde. *Pflüger's Arch. ges. Physiol.* **289**, R 79–80 (1966).
21. GEYER, G.: Histochemischer Nachweis von Sialomucin in der Niere. *Naturwissenschaften* **49**, 183–184 (1962).
22. HOLTER, P.: Regular grid-like structures in the midgut epithelial basement membrane of some Coleoptera. *Z. Zellforsch.* **110**, 373–385 (1970).
23. KEFALIDES, N. A.: Isolation and characterization of the collagen from glomerular basement membrane. *Biochemistry* **7**, 3103–3112 (1968).
24. KEFALIDES, N. A.: Chemical properties of basement membranes. *Int. Rev. Exp. Path.* **10**, 1–39 (1971).
25. KHODADOUST, A. A., SILVERSTEIN, A. M., KENYON, K. R., DOWLING, J. E.: Adhesion of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane. *Am. J. Ophthalm.* **65**, 339–348 (1968).
26. KILO, Ch., VOGLER, N., WILLIAMSON, J. R.: Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus. *Diabetes* **21**, 881–905 (1972).
27. KUPFER, G., GEYER, G.: Histochemische Studien an Basalmembranen von einigen Säugtieren. *Acta Histochem.* **31**, 24–35 (1968).
28. KURTZ, S. M., FELDMAN, J. D.: Experimental studies on the formation of the glomerular basement membrane. *J. Ultrastr. Res.* **6**, 19–27 (1962).

29. LENDRUM, A. C., SLIDDERS, W., FRASER, D. S.: Renal hyalin. A study of amyloidosis and diabetic fibrinous vasculosis with new staining methods. *J. clin. Path.* **25**, 373–396 (1972).
30. MATAKAS, F., CERVÓS-NAVARRO, J., RISCH, W.: Die Ultrastruktur des Retikulins. *Virch. Arch. B.* **10**, 67–82 (1972).
31. MISRA, R. P., BERMAN, L. B.: Studies on glomerular basement membrane II. Isolation and chemical analysis of diseased glomerular basement membrane. *Lab. Invest.* **18**, 131–138 (1968).
32. NADOL, J. B. Jr., GIBBINS, J. R., PORTER, K. R.: A reinterpretation of the structure and development of the basement lamella: an ordered array of collagen in fish skin. *Develop. Biol.* **20**, 304–331 (1969).
33. OLÁH, I.: A bazális membrán. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 357–369 (1968).
34. PIERCE, G. B. Jr., MIDGLEY, A. R. Jr., SRI RAM, J.: The histogenesis of basement membranes. *J. Exptl. Med.* **117**, 339–348 (1963).
35. PUCHTLER, H., WALDROP, F. S., VALENTINE, L. S.: Polarisation microscopic studies of connective tissue stained with picro-sirius red F3BA. *Beitr. Path.* **150**, 174–187 (1973).
36. RAMBOURG, A., LEBLOND, C. P.: Staining of basement membranes and associated structures by the periodic acid-Schiff and periodic acid-silver methenamine techniques. *J. Ultrastr. Res.* **20**, 306–309 (1967).
37. ROBERT, L.: Les glycoprotéines tissulaires. Hypotheses concernant les membranes basales au cours du diabète. *La Presse Med.* **79**, 2277–2283 (1971).
38. ROLLHÄUSER, H.: Polarisationsoptische und histochemische Untersuchungen über die Feinstruktur des Nephrons und ihre Beziehungen zur Nierenfunktion. *Zschr. Zellforsch.* **44**, 57–86 (1956).
39. ROMHÁNYI, Gy., BUKOVINSZKY, A., DEÁK, Gy.: Sulfation as a collagen-specific reaction. The ultrastructure of sulfate collagen, basement membranes and reticulin fibres as shown by topo-optical staining reactions. *Histochemie* **36**, 123–138 (1973).
40. ROMHÁNYI, Gy., BUKOVINSZKY, A., DEÁK, Gy.: Selective proteolytic sensitivity of sulfate-collagen and basement membranes. *Histochemistry* **42**, 199–209 (1974).
41. ROMHÁNYI, Gy., DEÁK, Gy., FISCHER, J.: Aldehyde-Bisulfite-Toluidine Blue (ABT) staining as a topo-optical reaction for demonstration of linear order of vicinal OH groups in biological structures. *Histochemistry* **43**, 333–348 (1975).
42. ROMHÁNYI, Gy., NÉMETH, Á., DEÁK, Gy.: A vicinalis OH-csoportok linearis rendezettségének topo-optikai kimutatása aldehyd-bisulfit-toluidinkék (ABT) reakcióval. *Morph. Ig. Orv. Szle.* **16**, 126–136 (1976).
43. SABA, P., GORI, Z., CARNICELLI, A., TODESCHINI, G., MARESCOTTI, V.: An electron microscopic study of the rat testis in experimental cryptorchismus. *Endokrinologie* **60**, 103–116 (1972).
44. SHARP, J. T., ANDERSON, M. S., LIDSKY, M. D.: Studies on bovine glomeruli. II. Localization of glomerular collagen. *J. Immunol.* **99**, 1254–1263 (1967).
45. SPIRO, R. G.: Glycoproteins. In: *Adv. in Prot. Chem.* ed by Anfinsen, C. B., Edsall J. T., Richards, F. M. Acad. Press N. Y., London Vol. **27**, pp. 349–467 (1973).
46. SPIRO, M. J., SPIRO, R. G.: Studies on the biosynthesis of the hydroxylysine-linked disaccharide unit of basement membranes and collagens II. Kidney galactosyltransferase. *J. Biol. Chem.* **246**, 4910–4918 (1971).
47. TERZAKIS, J. A.: Substructure in an epithelial basal lamina (basement membrane). *J. Cell Biol.* **35**, 273–278 (1967).
48. THIELE, H., FLASCH, R., JORASCHKY, W.: Histolyse der Cornea. Descemet-Membran. *Graefes Arch. Ophtalm.* **179**, 157–174 (1969).
49. VELICAN, D., VELICAN, C.: Structural heterogeneity of kidney basement membrane. *Nature (Lond.)* **226**, 1259–1261 (1970).
50. VRACKO, R., BENDITT, E. P.: Capillary basal lamina thickening. Its relationship to endothelial cell death and replacement. *J. Cell Biol.* **47**, 281–285 (1970).
51. VRACKO, R., BENDITT, E. P.: Basal lamina: the scaffold for orderly cell replacement. *J. Cell Biol.* **55**, 406–419 (1972).
52. WAUGH, D., PRENTICE, R. S. A., YADAV, D.: The structure of the proximal tubule: a morphological study of basement membrane cristae and their relationships in the renal tubule of the rat. *Am. J. Anat.* **121**, 775–786 (1967).
53. WINDRUM, G. M., KENT, P. W., EASTOE, J. E.: The constitution of human renal reticulin. *Brit. J. exp. Path.* **36**, 49–59 (1955).