

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Über chronische Zinkvergiftung bei Ratten

Von

MAGDALENE GESSWEIN

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Juli 1959)

Zink ist im Organismus nach dem Eisen das wichtigste Spurenelement. Eine sehr übersichtliche Arbeit des gesamten Zinkproblems vermittelt die Arbeit von B. L. VALLEE: The metabolic role of zinc.

Schon 1896 wurde es als unentbehrlich für das Pilzwachstum erkannt (RAULIN), 1940 als Bestandteil der Carboanhydrase von Rindererythrocyten festgestellt (KEILIN und MANN). Bereits 6 Jahre früher hatte SCOTT die Wichtigkeit von Zink bei der Insulinkristallisation betont. Im Laufe der folgenden Jahre bestätigten zahlreiche Untersuchungen die Tatsache, daß Insulin in vivo nur bei Anwesenheit von Zink gebildet werden kann. Glucagon, das andere Inselhormon, verliert sogar seine Wirksamkeit, wenn man ihm das Zink entzieht (WEITZEL). Da Zink auch noch in anderen Stoffwechselvorgängen, z. B. als Bestandteil der Uricase eine Rolle spielt, erscheint es nicht weiter verwunderlich, daß über mehrere Generationen zinkfrei ernährte Tiere schließlich an fermentativen und hormonellen Dysfunktionen zugrunde gehen (DAY und McCOLLUM, HOVE, ELVEHJEM und HART, DAY und SCIDMORE).

Auch der *Weg des Zinks im Körper* ist ziemlich gut bekannt. Peroral zugeführtes Zink wird im Darm aufgenommen. Der Anteil des resorbierten Metalls wird von FEASTER u. Mitarb. an Hand von Radioisotopenversuchen mit 5% angegeben. HAHN und SCHUNK kamen auf Grund von Untersuchungen über akute Zinkvergiftung zu einem Wert von 3,3%. Nach der Aufnahme im Darm gelangt das Zink mit dem Blut in die verschiedenen Organe. Dabei liegt es als locker gebundene Transportform im Serum in der Albumin- und β -Globulinfraktion vor [WOLFF (1)]. Untersuchungen von SHELNE u. Mitarb. zeigen, daß es das Blut sehr schnell wieder verläßt: Nach intravenöser Zufuhr von Zink⁶⁵ war bereits nach 10 Std fast das gesamte Zink aus dem Blutplasma verschwunden. SHELNE u. Mitarb. fanden nach intravenösen Zn⁶⁵-Gaben die stärkste Isotopenkonzentration in Leber, Pankreas und Niere. Von anderen Untersuchern wird auch die Prostata angegeben (GUNN und GOULD). Bei Mäusen und Hunden wird nach SHELNE u. Mitarb. 50% des zugeführten Zinks im Magen-Darmkanal eliminiert, nur 2% im Urin. FEASTER u. Mitarb. fanden bei Ratten sogar nur Harnwerte um 0,2%. Über die Herkunft des Metalls im Kot geben Experimente von MONTGOMERY u. Mitarb. genaue Auskunft. Sie untersuchten isoliert Pankreassaft, Galle und Duodenalsaft. Dabei stellten sie fest, daß nach 14 Tagen ungefähr 11% des zugeführten Zinks im Pankreassaft ausgeschieden worden war. Nur sehr wenig (0,4% in 8 Tagen) war mit der Galle eliminiert worden. Etwas reichlicher war die Absonderung der Radioisotopen in einer isolierten Duodenalschlinge. BIRNSTINGEL und Mitarb. bestätigten im wesentlichen diese Untersuchungsbefunde und erweiterten sie dahingehend, daß schon 15 min nach der Injektion meßbare Radioaktivität in Pankreassaft und Galle auftrat. Die höchsten Werte wurden ungefähr 2—4 Std nach der Injektion gemessen. Auf Grund dieser Untersuchungen sind die von SHELNE u. Mitarb. angegebenen Werte in Leber, Pankreas und Niere verständlich, umfassen sie doch gerade die 3 Organe, die das Metall in kürzester Zeit wieder eliminieren.

Wir haben uns die Frage vorgelegt, ob eine chronische Überladung des Organismus mit Zink nicht besondere pathologische Veränderungen hervorzubringen imstande wäre, ähnlich wie etwa die chronische Bleivergiftung (ZOLLINGER). Weiters hatten wir die Hoffnung, daß durch eine solche Überladung vielleicht Wege des Zinkstoffwechsels sichtbar werden könnten, die bei normaler

Zinkbelastung und bei akuter Zinkvergiftung weniger hervortreten. Schließlich war auch die Frage zu lösen, ob der Körper unter besonderen Umständen imstande wäre, Zink zu speichern.

Methode

In den Versuch genommen wurden Ratten von 2 Stämmen: BD III, ein tumorempfindlicher und ein institutseigener, tumorunempfindlicher Stamm. Die Tiere beider Stämme zeigten im Verlaufe des Versuchs keine Unterschiede hinsichtlich ihres äußeren und inneren Verhaltens, so daß die Befunde an den beiden Stämmen gemeinsam besprochen werden können.

25 ausgewachsene, bei Versuchsbeginn 6 Monate alte Ratten erhielten über verschieden lange Zeit (235—542 Tage) peroral Zinkacetat verabreicht, wobei die Gesamtmenge, die ein einzelnes Tier bekam, zwischen 47250 und 132825 mg schwankte. Um die aufgenommene

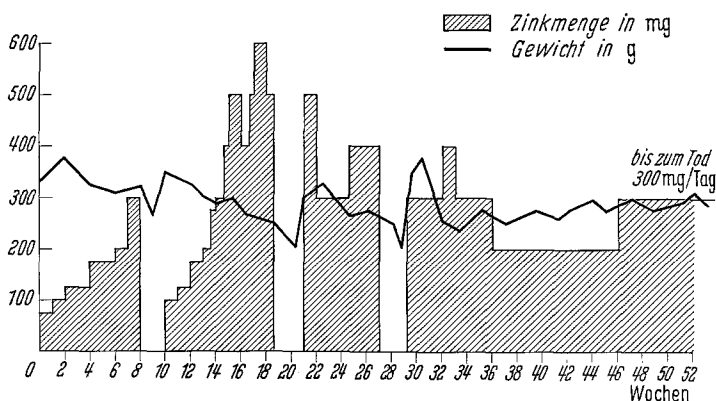


Abb. 1. Einfluß der Zinkmenge auf das Gewicht eines Versuchstieres

Menge genau kontrollieren zu können, setzten wir die Tiere in Einzelkäfige und verabreichten das leicht lösliche Zinkacetat im Trinkwasser (Leitungswasser). Wir begannen mit Dosen von 75 mg/Tier/Tag und steigerten diese Dosis unter genauer Gewichtskontrolle auf 600 mg/Tier/Tag. Dabei richtete sich die Dosis insofern nach dem Verhalten der Tiere, als wir versuchten, durch Variation der Zinkacetatmenge die auf die Dauer erträgliche Höchstdosis festzustellen. Da die Tiere bei einer so hohen Dosis wie 600 mg zunehmend kachektischer wurden (innerhalb von 8 Tagen trat manchmal ein Gewichtsverlust von 50—100 g auf) und ein Tier offenbar infolge der direkten Zinkacetateinwirkung an einer Magenperforation starb, gingen wir auf 400 mg und später auf 300 mg zurück. Aus Abb. 1, die Gewichtskurve und zugeführte Zinkmenge bei einem Tier zeigt, ist dieses Vorgehen deutlich ersichtlich. Es stellte sich heraus, daß eine Dosis von 300 mg/Tier/Tag über längere Zeit durchaus erträglich war. 10 bei Versuchsbeginn ebenfalls 6 Monate alte männliche Ratten erhielten zur Kontrolle dieselbe Nahrung. Als Trinkwasser wurde gewöhnliches Leitungswasser ohne Zusatz verwendet. Die Tiere wurden in 7—10tägigem Abstand gewogen und gleichzeitig Allgemeinzustand, Fell und eventuell auffällige Besonderheiten und Symptome beobachtet und registriert.

Nachdem die Tiere sich innerhalb von 14 Tagen an den schlechten Geschmack des zinkacetathaltigen Wassers gewöhnt hatten, zeigten sie zunächst trotz Steigerung der Dosis von 75 auf 350 mg keine auffallenden Besonderheiten. Nach 8—10 Wochen wurde das Fell struppig. Bei der Hälfte der Tiere setzte nach 18 Wochen ein Tremor („Zinktremor“, HAHN) ein, der sich auf den ganzen Körper erstreckte und der besonders auffällig war, wenn die Tiere am Schwanz hochgehoben wurden. Dieses Zittern verschwand im Laufe der vier folgenden Wochen wieder völlig. Obwohl die Tiere äußerlich einen struppigen, ungepflegten Eindruck machten, schienen sie besonders resistent gegen Infekte zu sein. Eine während der Versuchszeit abgelaufene Stallinfektion (bronchopneumonischer Infekt), an der zahlreiche Kontroll-

tiere aus demselben Stall und Versuchstiere aus anderen Ställen starben, betraf lediglich ein Zinkversuchstier. Auch bei den getöteten Tieren war der Anteil an pneumonischen oder bronchiektatischen Veränderungen im Verhältnis geringer als bei den Kontrolltieren (6 von 25 gegenüber 6 von 10 Tieren). Ein Befall der Tiere mit Milben war trotz des struppigen Fells der Versuchstiere bei den Kontrolltieren weit stärker ausgeprägt. Abgesehen von einem Hodentumor konnten weitere auffallende makroskopische Organveränderungen nicht erhoben werden.

Nach Tötung der Tiere durch Nackenschlag oder mit Äther wurden die Organe histologisch untersucht. Jeweils ein bis zwei Stücke des betreffenden Organs wurden in 4%igem neutralem Formalin und in H_2S -gesättigtem 70%igem Alkohol zum Zinknachweis fixiert. Jeweils 2–3 Schnitte wurden nach dem von TIMM angegebenen und von VOIGT weiter ausgearbeiteten Silbersulfidverfahren (s. unten) entwickelt und zur Kontrolle am gleichen Material eine ebenfalls von TIMM angegebene Diphenylthiocarbazon-(Dithizon-)Reaktion durchgeführt. Bei Fixierung mit H_2S -gesättigtem Alkohol ohne sauren oder alkalischen Zusatz und bei Kontrolle durch die Dithizonmethode kann man nach STEGNER und FISCHER mit Sicherheit annehmen, von den in Frage kommenden Schwermetallen elektiv das Zink dargestellt zu haben.

Silbersulfidmethode. Kleine möglichst frische Gewebstücke werden für 10–20 Std in H_2S -gesättigtem 70%igem Alkohol fixiert, danach je 10 Std in 96%igem und 100%igem Alkohol entwässert und über Xylol (2mal $\frac{1}{2}$ Std) in ungebrauchtem Paraffin eingebettet.

4–6 μ dicke Schnitte auf abgekochtem Aqua bidest. strecken. Entparaffinieren in Xylol. Absteigende Alkoholreihe bis zum Aqua bidest., dann die auf Deckgläsern aufgezogenen Schnitte in eine flache Schale bringen, mit der unten angegebenen Lösung übergießen und unter genauer mikroskopischer Kontrolle bei künstlichem Licht 1,5–2 Std entwickeln.

Nach Beendigung der Entwicklung werden die Schnitte in fließendem Wasser abgespült und mit Kernechtrot oder Hämatoxylin gegengefärbt. Anschließend abspülen in destilliertem Wasser. Aufsteigende Alkoholreihe. Xylol. Eukitt.

Lösung. 60 cm³ 40%iges Gummi arabicum¹ werden mit 0,5 cm³ 10%iger Silbernitratlösung² 10 min gut geschüttelt. Dann gibt man 5 cm³ des Reduktionsmittels³ hinzu und schüttelt genau 30 sec. Danach die Lösung sofort über die Schnitte gießen.

Wichtig: Zur Vermeidung von Niederschlägen muß während des ganzen Färbevorganges sowie bei der Verdünnung des Alkohols, der Lösung von Gummi arabicum, Silbernitrat und Hydrochinon-Citronensäure immer Quarzglas und destilliertes Wasser benützt werden.

Ergebnisse

Die obersten Lagen des Epithels der *Speiseröhre* sind bei den Versuchstieren mit Silberkörnchen durchsetzt, was auf eine Zinkdurchtränkung dieser Schichten hinweist. Ebenso ist der die *Magenschleimhaut* oberflächlich bedeckende Schleim reich an Zink. Die kennzeichnenden Silberniederschläge lassen sich noch über die Grübchen hinaus bis in die Halsstücke der Drüsen verfolgen und sind manchmal deutlich entlang der Grenzen zwischen den Zylinderzellen angeordnet (Abb. 2). In den Kontrolltieren fehlen diese Veränderungen vollkommen.

Im Dünn- und Dickdarm treten bei Anwendung der Silbersulfidmethode die *enterochromaffinen Zellen* durch Schwärzung ihrer Körnchen deutlich hervor, und zwar in gleicher Weise bei Versuchs- wie Kontrolltieren. Es dürfte sich dabei, wie ein zahlenmäßiger Vergleich mit Schnitten nach Formolfixierung, die mit den

¹ Gummi arabicum: 40 g ungemahlenes Gummi arabicum werden in 100 cm³ Aqua bidest. gebracht. 14 Tage stehenlassen, täglich mit einem Glasstab umrühren.

² 10%iges Silbernitrat: 10 g Silbernitrat in 100 cm³ Aqua bidest. lösen und vor Gebrauch 14 Tage im Dunkeln stehenlassen.

³ Reduktionsmittel: 0,4 g Hydrochinon und 0,9 g Citronensäure werden in 20 cm³ Aqua bidest. gelöst und 5 min kräftig geschüttelt. Vor Gebrauch 12 Std im Dunkeln stehenlassen.

üblichen Silbermethoden (MASSON-HAMPERL, BODIAN) behandelt waren, in erster Linie um die argentaffinen Zellen handeln (Abb. 3). Besonders deutlich treten in

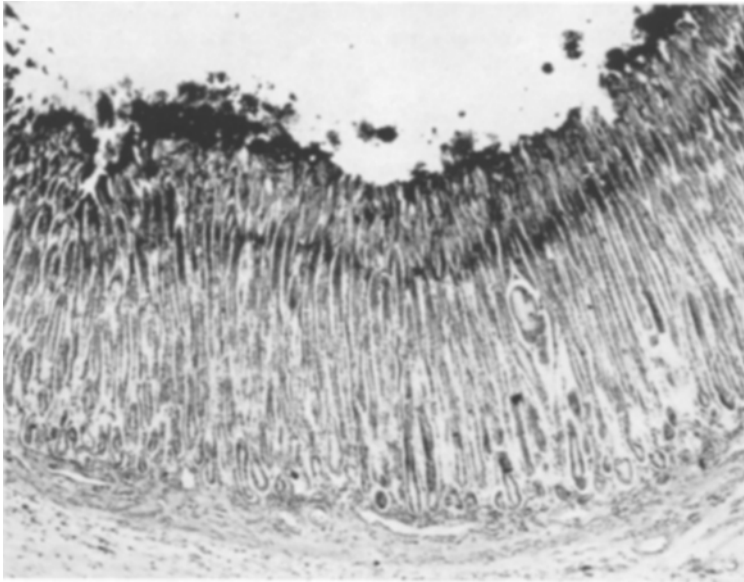


Abb. 2. Ratte (Versuchstier). Magen. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. Durchtränkung der obersten Schichten mit Zink. Vergr. 66,5 ×

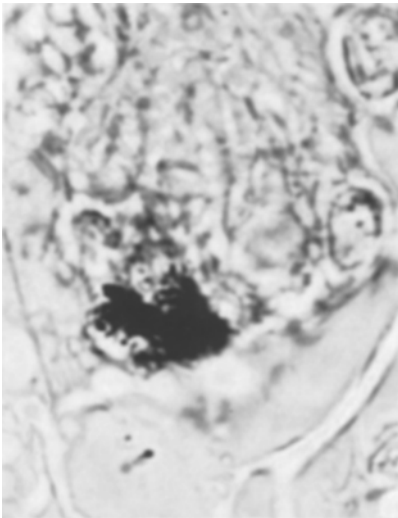


Abb. 3. Ratte (Versuchstier). Dickdarm. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. Zinkhaltige enterochromaffine Zelle. Vergr. 2100 ×

Versuchs- wie in Kontrolltieren die *Panethschen Zellen* hervor, die offenbar immer sehr reichlich Zink enthalten (Abb. 4).

Im *Schleimhautstroma* des ganzen Magen-Darmtraktes findet man Silberkörnchen, und zwar reichlicher bei den Versuchstieren, während sie bei den Kontrolltieren spärlicher sind (Abb. 5).

Im *exkretorischen Pankreas* finden sich bei 14 von 25 Versuchstieren teils im ganzen Organ, teils fleckweise die Sekretkörnchen in den Endstücken stark imprägniert, während sie bei 11 Versuchstieren und den Kontrolltieren fehlten (Abb. 6a u. b). In den *Inseln* waren sowohl bei den Versuchs- wie bei den Kontrolltieren die im Rand der Inseln liegenden A-Zellen stark versilbert, wobei die Stärke der Reaktion nur in geringem Ausmaße schwankte. In den B-Zellen

konnte niemals der kennzeichnende körnige schwarze Niederschlag festgestellt werden, auch nicht bei den Versuchstieren. Wohl aber fand sich bei mehreren Tieren eine gelb-bräunliche Tönung der B-Zellen, die auf allerfeinste Silber-niederschläge zurückgeht (Abb. 6a u. b).

Bei den Kontrolltieren war in der *Leber* keine auf Zinkgehalt hinweisende Silberablagerung festzustellen. 18 von 25 Versuchstieren zeigten dagegen vor

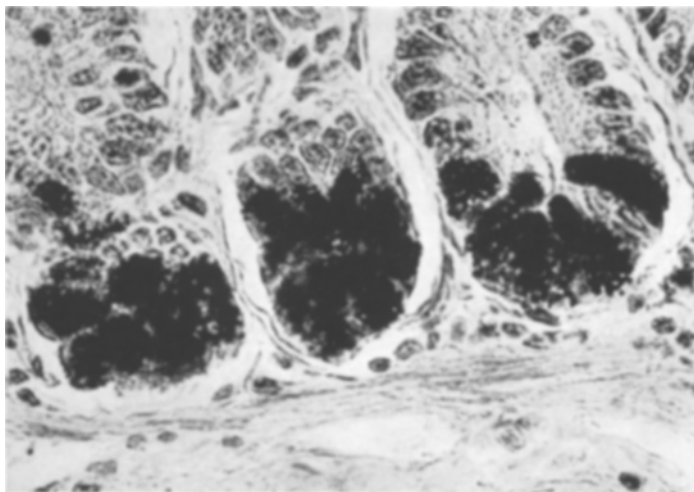


Abb. 4. Ratte (Versuchstier). Dünndarm. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. Zinkhaltige Panethsche Zellen. Vergr. 665 \times



Abb. 5. Ratte (Versuchstier). Dünndarm. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. a Mit Zink beladene Bindegewebszellen im Zottenstroma. Vergr. 940 \times

allen im Läppchenzentrum schwärzliche Granula im Cytoplasma der Leberzellen entlang der Gallecapillaren (Abb. 7). Nur ganz vereinzelt waren Körnchen in den Sternzellen nachweisbar.

In der *Glandula submaxillaris* fand sich nur bei 2 Versuchstieren eine feine schwärzliche Granulation im Cytoplasma der Ausführungsgangsepithelien.

Bei Versuchs- und Kontrolltieren zeigen die Zellen des dorsolateralen Lappens der *Prostata* eine starke Imprägnation ebenso wie das Sekret in der Lichtung, während eine solche in allen übrigen Lappen des Organs fehlt.

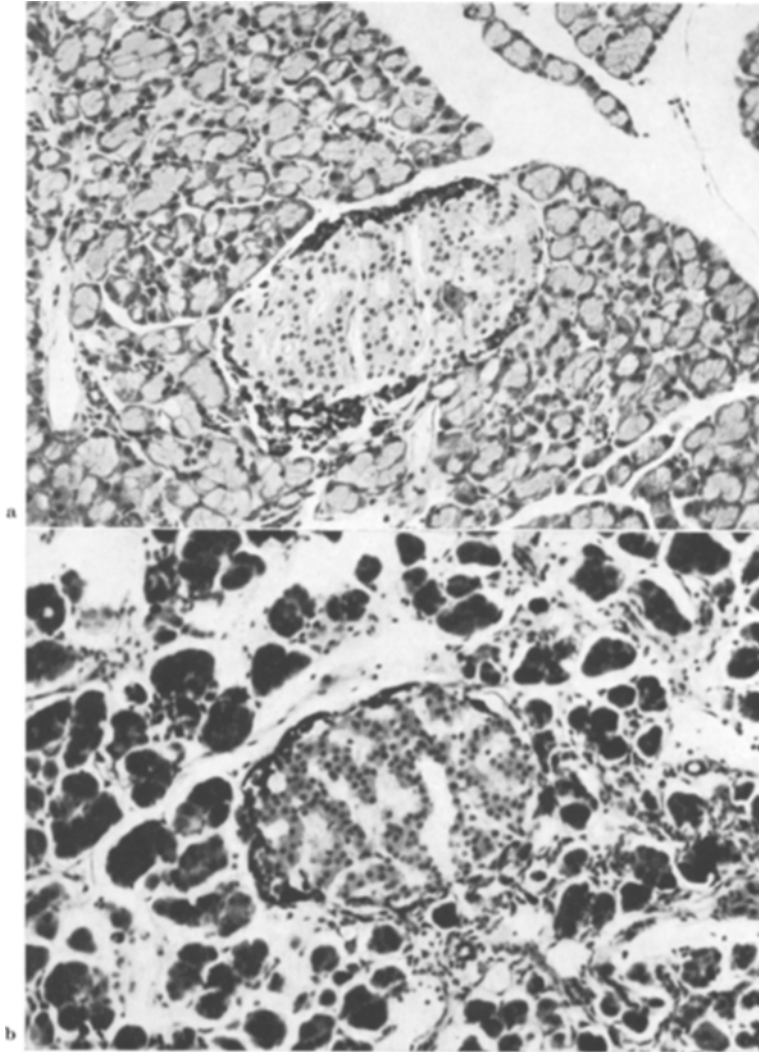


Abb. 6a u. b. Ratte. Pankreas. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. a Versuchstier. Zinkablagerungen in den A-Zellen der Inseln. Exkretorisches Parenchym frei von Zinkablagerungen. b Versuchstier. Inseln wie bei a. Erheblicher Zinkgehalt des exkretorischen Parenchyms. Vergr. 175 ×

In der *Niere* waren fast bei allen Tieren imprägnierte Zylinder in den Tubuli nachzuweisen (Abb. 8). Außerdem fanden sich bei 12 Versuchstieren und 8 Kontrolltieren feinste imprägnierte Körnchen in den jeweils zu einem Nephron gehörenden Tubuli contorti I. Ordnung (Abb. 9). Sehr deutlich war eine Silberimprägnation der offenbar infolge pyelonephritischer Entzündung atrophierten Kanälchen.

Bei 9 von 25 Versuchstieren fanden sich in einzelnen *Hodenkanälchen* Silberkörnchen in den Sertolischen Stützzellen, und zwar waren in solchen Kanälchen

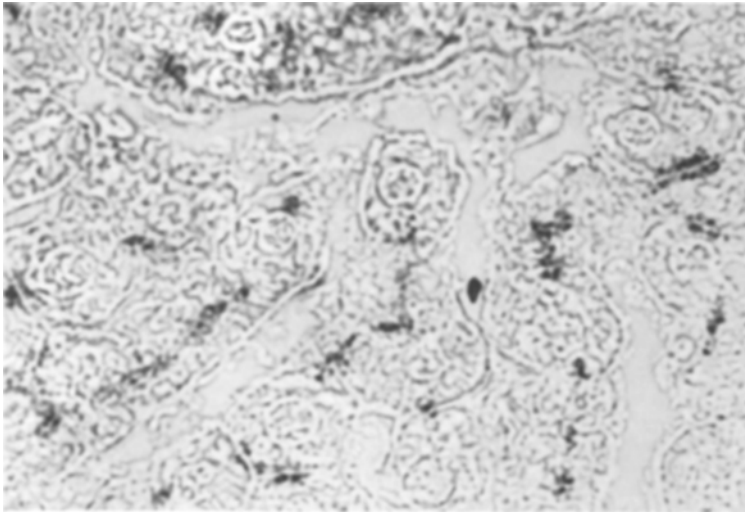


Abb. 7. Ratte (Versuchstier). Leber. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. Deutlich erkennbare Zinkablagerungen, vorzugsweise in der Nähe von Gallecapillaren. Vergr. 1020 ×

jeweils alle Stützzellen körnchenhaltig, während diejenigen eines anliegenden Kanälchens negativ sein konnten.

Das *Nebennierenmark* weist ebenso bei den Versuchstieren wie bei den Kontrolltieren eine gelbbraune Tönung auf, die auf feinstverteilte Silberkörnchen zurückgeht.

In den *Lungen* weisen nur abgeschilferte Alveolarepithelien sowohl bei Versuchs- wie bei Kontrolltieren eine positive Reaktion auf.

Die *Epidermis* verhält sich bei der Silberimprägnation negativ. Eine auf feinste Silberkörnchen zurückzuführende bräunliche Tönung im Corium ist bei Versuchs- und Kontrolltieren festzustellen.

Im *Gehirn* stellen sich Teile des Ammonshorns bei Versuchs- wie Kontrolltieren gleichermaßen sehr schön dar, während alle übrigen Anteile negativ sind.

In der *Milz* sind bei den Versuchstieren die silberenthaltenden Reticulumzellen deutlich häufiger als bei den Kontrollen.

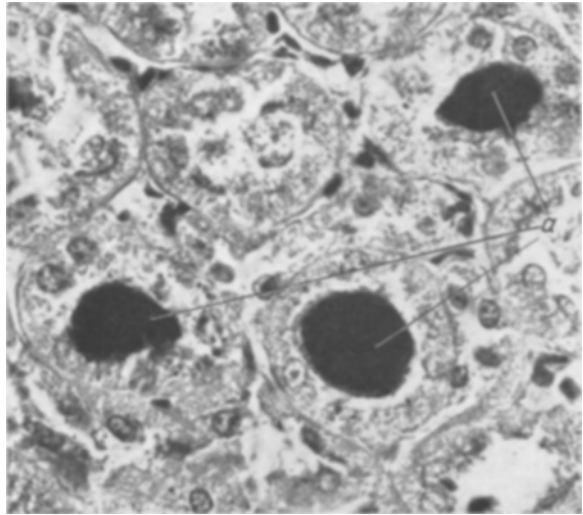


Abb. 8. Ratte (Versuchstier). Niere. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. a Zinkhaltige Zylinder in den Tubuluslichtungen. Vergr. 665 ×

Die *Histiocyten* des lockeren Bindegewebes und des Stromas der einzelnen Organe treten bei den Versuchstieren durch viel reichlichere Silberkörnchen deutlicher hervor als bei den Kontrollen.

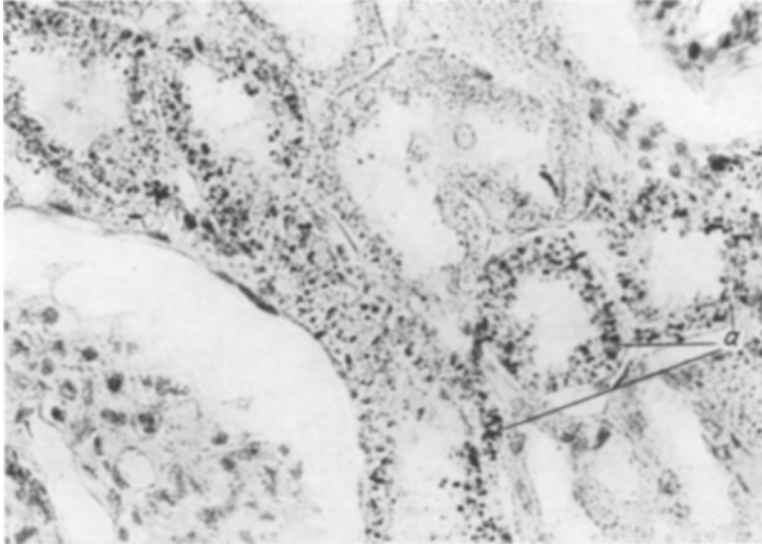


Abb. 9. Ratte (Kontrolltier). Niere. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. *a* Zinkablagerungen in Tubulusepithelien, die zu einem Nephron gehören. Vergr. 700 ×

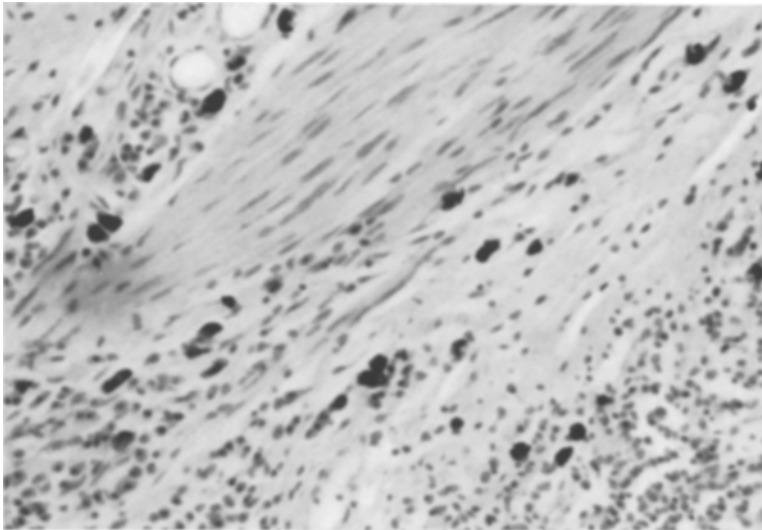


Abb. 10. Ratte (Versuchstier). Trachea. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. Mastzellen schwarz Vergr. 242 ×

Die *Mastzellen* des lockeren Bindegewebes zeigen eine auffällige Schwärzung bei den Versuchstieren, während diese bei den Kontrolltieren fehlt (Abb. 10). Die verkalkte Knorpelgrundsubstanz sowie kalkhaltige Arterienwände sind bei den Versuchstieren stark geschwärzt, während sie bei den Kontrollen keine Reaktion mit Silber zeigen (Abb. 11 a u. b).

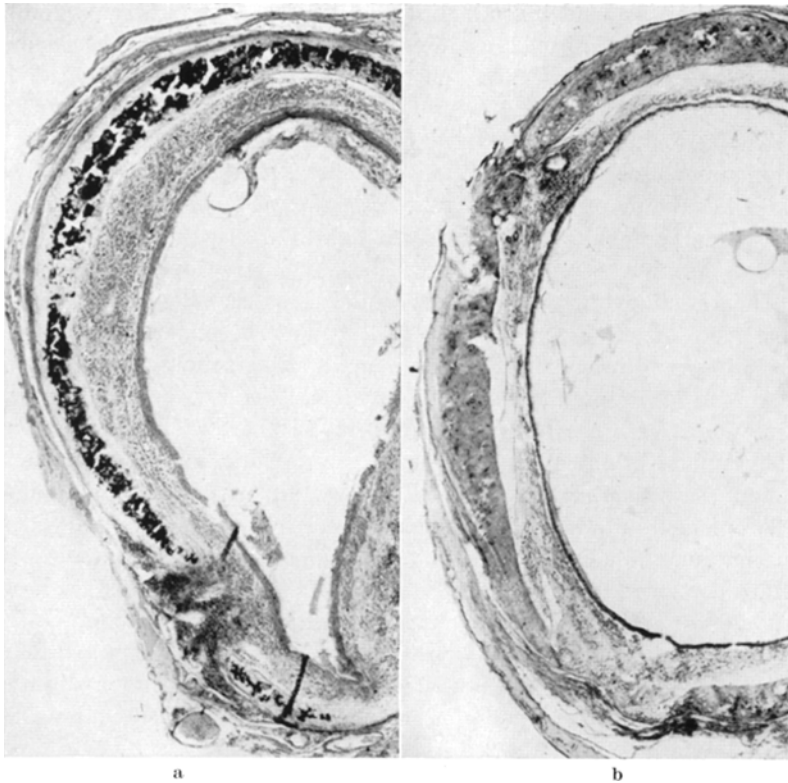


Abb. 11a u. b. Ratte. Trachea. Silbersulfidverfahren-Kernechtrot. a Versuchstier. Verkalkte Knorpelgrundsubstanz reichlich mit Zink beladen. Vergr. 35 \times . b Kontrolltier. Verkalkte Knorpelgrundsubstanz frei von Zinkablagerungen. Vergr. 35 \times

Diskussion

Auffällige organische Veränderungen, die auf eine chronische Zinkvergiftung schließen ließen, konnten wir, genau wie DRINKER, THOMPSON und MARSH nicht erheben, obwohl wir die 7—10fache Menge an Zinkacetat verfüttert haben. Offensichtlich wird das Zink so schnell wieder ausgeschieden, daß es zu keinen Vergiftungserscheinungen kommen kann.

Deshalb wurde versucht, mit histochemischen Methoden dem Verbleib bzw. der Anreicherung des Metalls in bestimmten Organen nachzugehen.

Nach der eingehenden Überprüfung der *Spezifität* der Silbersulfidmethode durch STEGNER und FISCHER kann man wohl mit Recht annehmen, daß sie unter gewissen Voraussetzungen die Anwesenheit von Zink mit Zuverlässigkeit anzeigt. Da wir glauben, alle diese Voraussetzungen erfüllt zu haben (s. oben), fühlen wir uns berechtigt, die im vorhergehenden geschilderten Silberniederschläge auf die Anwesenheit von reaktionsfähigem Zink zurückzuführen. Dabei ist freilich zu beachten, daß auch dieser histochemischen Reaktion der Nachteil anhaftet, nicht alles wirklich vorhandene Zink zu erfassen, sondern nur jene Anteile, die in leicht absplittbarer Form und in einer gewissen Menge vorliegen.

Mit der Zuführung des Zinks mittels des Trinkwassers hängt wohl die Einlagerung in die obersten Lagen des *Oesophagusepithels* und der *Magenschleimhaut*

zusammen, wobei das Eindringen in die Lichtung der Magenrübchen und Drüsenhäuse sowie seine weitere Ausbreitung entlang der Zellgrenzen bemerkenswert ist. Eine Schädigung der betroffenen Zellen war aber dabei nicht eingetreten.

Vom Darmtrakt aus gelangt das aufgenommene Zink wohl in die Zirkulation und wird an bestimmten Strukturen abgelagert, die bei der im Versuch betriebenen Überladung gegenüber den Kontrollen besonders deutlich hervortreten, nämlich in erster Linie in den Zellen des *reticulo-histiocytären Systems*. Schon in der ganzen Magen-Darmschleimhaut erweisen sich die Reticulumzellen des Schleimhautstromas besonders reich an Zink, aber auch die überall im Organstroma vorhandenen Histiocyten treten ebenso wie die Kupfferschen Sternzellen bei den Versuchstieren durch ihren höheren Zinkgehalt besonders deutlich hervor. Dasselbe trifft merkwürdigerweise auch für die Mastzellen zu.

Als Ausscheidungsorgane für Zink kommen Niere, Leber und Pankreas in Betracht. Die *Nieren* zeigen bei Versuchs- und Kontrolltieren in gleicher Weise Zinkablagerungen in einzelnen Nephronen, so daß hier also kein Zeichen einer vermehrten Ausscheidung vorliegt. Daß das Ausmaß der Zinkablagerungen in den Tubuli contorti bei den Versuchstieren nicht zunimmt, steht in völliger Übereinstimmung mit den Befunden von MCCAINE und WIDDOWSON sowie von SHELINE u. Mitarb., die keine wesentliche Erhöhung des Harnzinks nach peroraler oder intravenöser Zinkzufuhr feststellen konnten. Ein deutlicher Unterschied gegenüber den Kontrollen war dagegen in der *Leber* festzustellen. Bei den Versuchstieren waren zinkhaltige Körnchen an der den Gallengängen zugewendeten Seite der Leberzellen nachweisbar, was zugunsten einer Ausscheidungsfunktion sprechen könnte.

In verstärktem Maße tritt Zink bei den Versuchstieren außer in der Leber vor allem im *exkretorischen Pankreasparenchym* auf. Obwohl sich auch bei den Versuchstieren völlig zinkfreie Bezirke oder sogar völlig zinkfreie Bauchspeicheldrüsen finden, genau wie bei den Kontrolltieren, so weisen doch 14 von 25 Versuchstieren eindeutige Zinkablagerungen im exkretorischen Pankreasparenchym auf. Offensichtlich kommt es bei dem unterschiedlichen Ausfall der Zinkreaktion lediglich darauf an, welche Phase der Ausscheidung man antrifft. Die Annahme liegt nahe, daß hier auch die Erklärung für die unterschiedlichen Zinkmengen im Pankreas bei den Untersuchungen von SCOTT und FISHER sowie EISENBRANDT und SIENZ zu suchen ist. Beide erhielten bei ihren Untersuchungen über den Zinkgehalt des Gesamtpankreas beim Diabetiker und Nichtdiabetiker in weiten Grenzen schwankende Werte. Die Tatsache, daß dabei oft mehr Zink im Gesamtpankreas vorhanden war, als man es nach dem Zinkgehalt des Insulins erwarten konnte, geht wohl auf eine solche Einlagerung von Zink im exkretorischen Pankreas zurück. Der Befund besonders reichlichen Zinkgehaltes im exkretorischen Pankreasparenchym bei Überladung der Tiere mit Zink stimmt sehr wohl mit den Befunden von MONTGOMERY u. Mitarb. sowie BIRNSTINGEL u. Mitarb. überein, nach denen die Masse des zugeführten Zinks im Pankreas ausgeschieden werden soll, während Niere und Leber nur für die Ausscheidung eines kleineren Teils in Frage kommen. Tatsächlich findet man ja auch schon normalerweise Zinkablagerungen in der Niere, aber offenbar ist die Ausscheidungskapazität des Organs beschränkt, während die des Pankreas nach Art eines Notventils im Bedarfsfalle sehr wesentlich ausgeweitet werden kann.

Eine Reihe von Organen enthält sowohl beim Versuchstier wie bei den Kontrollen gleich reichlich Zink, offenbar ein Zeichen dafür, daß hier das Zink nur entsprechend der Funktion des Organs aufgenommen und abgelagert wird, wobei die Funktion natürlich nicht vom Zinkangebot abhängig ist. In den *Langerhansschen Inseln* der Ratte enthalten nicht wie bei anderen Tieren die B-Zellen, sondern die A-Zellen immer reichlich Zink. Übrigens haben auch STEGNER und FISCHER in den Randzellen der Inseln bei der Ratte einen erheblichen Zinkreichtum feststellen können. Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß es bisher bei den Ratten nicht gelungen ist, einen Dithizondiabetes zu erzeugen (DE MOOR und HOET). Ob die Ratte ihren Zuckerstoffwechsel anders reguliert oder ob bei ihr Zink zum Aufbau des Insulins nicht nötig ist, können wir an Hand unserer Untersuchungsergebnisse nicht sagen. Eine Zunahme von Zink in den B-Zellen, wie sie VOIGT nach chronischer Zinkzufuhr bei Ratten sah, konnten wir nicht finden.

Sehr bemerkenswert erscheint uns die Tatsache, daß auch die *enterochromaffinen Zellen* der Ratte sich bei Versuchstieren und Kontrollen durch einen gleichbedeutenden Zinkgehalt auszeichnen. Um festzustellen, ob es sich dabei um argentaffine oder argyrophile Zellen handelt, blieb nur der Weg, die Zellen in zwei benachbarten, aber verschieden fixierten Darmstücken auszuzählen, wobei das mit H_2S -Alkohol fixierte Darmstück zur eingangs geschilderten Silberreaktion, im formolfixierten Stück die Masson-Hampersche Reaktion zur Darstellung der argentaffinen Zellen, die Bodiansche Reaktion zur Darstellung der argyrophilen Zellen benutzt wurde. Die erhaltenen Zahlen sprechen dafür, daß der Zinkgehalt die argentaffinen Zellen betrifft. Übrigens fällt die Silberreaktion nach MASSON-HAMPERL auch am H_2S -alkoholfixierten Material positiv aus, da das Silbernitrat mit dem Silbersulfid reagiert. In dem Nachweis des Zinks in den argentaffinen Zellen erblicken wir eine schöne Bestätigung der Anschauung von FEYRTER, der genau wie WEITZEL u. Mitarbeiter auf den hohen Zinkgehalt der Carcinoide hinwies.

Bei der Untersuchung des Dünndarms fällt auch der erhebliche Zinkreichtum der *Panethschen Zellen* ins Auge, ein Befund, den OKAMOTO sowie STEGNER und FISCHER bereits beschrieben haben. Ein weiterer Hinweis findet sich in einer Diskussionsbemerkung von MAWSON, der einen hohen Zinkgehalt der basalen Zellen im Darm angibt, ohne jedoch deren Zugehörigkeit genauer zu präzisieren. WOLFF (2) spricht nur von einem Zinkreichtum der Dünndarmmucosa. Da gerade die Zinkausscheidung im Darm sehr gering ist, außerdem zwischen Versuchstieren und Kontrollen kein Unterschied besteht, möchten wir das Zink in diesen Zellen nicht als Ausscheidungsprodukt ansehen, sondern annehmen, daß es mit der Funktion der Panethschen Zellen zusammenhängt.

Schließlich sei noch betont, daß die Überladung mit Zink auch an den wohlbekannten Ablagerungsstätten dieses Stoffes, nämlich im *Ammonshorn* (MASKE) und im dorsolateralen Lappen der *Prostata* (MAWSON und FISHER), nichts ändern konnte. Eine Vermehrung im lateralen Anteil des dorsolateralen Lappens, wie sie von GUNN und GOULD nach Zink⁶⁵-Gaben beschrieben wurde, ließ sich mit Hilfe unserer Methode nicht feststellen, da bereits das Zinkvorkommen bei den Kontrolltieren so hoch war, daß ein weiteres Anfüllen der Zellen mit Zink nicht mehr deutlich gemacht werden konnte.

Schließlich sei noch auf Zinkablagerungen hingewiesen, die das Gemeinsame haben, daß sie in seiner Vitalität herabgesetztes Gewebe oder Zellen betreffen — hier scheint das Zink eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Verhalten des Calciums aufzuweisen. Besonders deutlich wird dies bei Verkalkungen wie z. B. in *Trachealknorpeln*, die dann neben Calcium bei allen Versuchstieren auch reichlich Zink enthalten (s. oben), ein Befund, auf den schon OKAMOTO am Kaninchen hinweisen konnte. Dasselbe trifft auch für die hier und dort zu findenden verkalkten *Arterien* bei den Versuchstieren zu. In ähnlicher Weise dürfte der Zinkgehalt abgeschilfterter *Alveolarepithelien* und *degenerierender Nierentubuli* im Rahmen einer pyelonephritischen Schrumpfung zu deuten sein.

Eine Anzahl Organe scheinen kaum oder gar nicht am Zinkstoffwechsel teilzunehmen. Dazu gehören die *Milz*, die *Samenblasen* und die *Nebennierenrinde*. Auch im *Herzen* konnten wir keine Sichtbarmachung des Metalls erreichen, obwohl nach den Angaben von SHELIN u. Mitarb. auch das Herz an der schnellen Umsetzung des Zinks beteiligt sein soll. Ein „negativer“ Ausfall in *Haut* und *Nebennierenmark* ist nicht sicher zu verwerten, daß diese Organe eine gelbbräunliche Tönung aufweisen, wie wir sie in anderen Organen nicht feststellen konnten. Ein Befund, der unseres Erachtens eher für eine feine diffuse Verteilung von Zink spricht.

Zusammenfassung

Auf Grund chronischer Überladung des Organismus mit Zink bei Ratten konnten wir folgende Befunde erheben:

Spezifische Organveränderungen, die auf eine chronische Zinkvergiftung zurückzuführen wären, waren nicht festzustellen. Die Zellen des reticulo-histocytären Systems (Kupffersche Sternzellen, Reticulumzellen des Zottenstromas im Darm) und die Mastzellen neigen besonders dazu, das übermäßig zugeführte Zink zu speichern.

Von den Zinkausscheidungsorganen Leber, Niere und Pankreas zeigt nur das exkretorische Pankreasparenchym eine Vermehrung des Zinks in größerem Ausmaße.

Sowohl bei den Versuchstieren wie auch bei den Kontrollen zeigen, außer an den bereits bekannten Stellen (Ammonshorn, Panethsche Zellen, Prostata, Inselzellen) auch die argentaffinen Zellen im Darmkanal einen hohen Zinkgehalt.

Summary

With long term administration of excessive amounts of zinc to rats the following findings were made:

There were no specific visceral changes produced which could be attributed to the long term zinc overloading.

It was shown, however, that especially the cells of the reticulo-endothelial system (von Kupffer cells, reticulum cells of the intestinal lamina propria) and the mast cells have the tendency to store the excess zinc.

On the organs which normally excrete zinc (the liver, kidney, and pancreas), we were able to demonstrate an increase in the zinc content only in the excretory parenchyma of the pancreas.

In addition, it was observed in both the experimental animals as well as in the controls, that besides the already known localization of zinc in Ammon's

Horn, in Paneth cells, in prostate, and in pancreatic islet cells; there was an increased content of zinc in the argentaffine cells of the intestine.

Literatur

- BIRNSTINGEL, M., B. STONE and V. RICHARDS: Excretion of radioactive zinc (Zn^{65}) in bile, pancreatic and duodenal secretion of the dog. *Amer. J. Physiol.* **186**, 377—379 (1956). — DAY, H. G., and E. V. MCCOLLUM: Effects of acute dietary zinc deficiency in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **45**, 282 (1940). — DAY, H. G., u. J. SKIDMORE: *Zit. nach WOLFF* und AMANN u. WOLFF (2). — DRINKER, K. R., P. K. THOMPSON and M. MARSH: An investigation of the effect upon rats of long continued ingestion of zinc compounds, with especial reference to the relation of zinc excretion to zinc intake. *Amer. J. Physiol.* **81**, 284 (1927). — EISENBRANDT, J., u. M. SIENZ: Über den Zinkgehalt von menschlichen Pankreasdrüsen. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **286**, 1—25 (1941). — FEASTER, J. P., S. L. HANSARD, J. T. MCCALL and G. K. DAVIS: Absorption, deposition and placental transfer of zinc⁶⁵ in the rat. *Amer. J. Physiol.* **181**, 287—290 (1955). — FEYRTER, F.: Zur Biochemie des Darmcarcinoids. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **95**, 151—156 (1956). — GUNN, S. A., and T. C. GOULD: Difference between dorsal and lateral components of dorsolateral prostata of rat in Zn^{65} uptake. *Exp. Biol. Proc.* **92**, 17—20 (1956). — HAHN, F., u. R. SCHUNK: Untersuchungen über die akute Zinkvergiftung. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **226**, 424—434 (1955). — HOVE, E., C. A. ELVEHJEM and E. B. HART: *Zit. nach WOLFF u. AMANN sowie WOLFF* (2). — KEILIN, D., u. T. MANN: *Zit. nach I. ABELIN*: Spurenelemente in menschlichen Organen und Ausscheidung. IV. Das Zink. *Ther. Umsch.* **8/9**, 55—58 (1951). — MASKE, H.: Über den topochemischen Nachweis von Zink im Ammonshorn verschiedener Säugetiere. *Naturwiss.* **42**, 424 (1955). — MAWSON, S. A.: Diskussionsbemerkung in B. G. MALMSTROM and D. GLICK, A quantitative histochemical method for the determination of zinc and its application to studies on the gastric mucosa. *J. nat. Cancer Inst.* **12**, 209 (1951/52). — MAWSON, S. A., and M. I. FISHER: Zinc content of the genital organ of the rat. *Nature (Lond.)* **4256**, 859 (1951). — McCANE, R. A., and E. M. WIDDOWSON: The absorption and excretion of zinc. *Biochem. J.* **6**, 692, 696 (1942). — MONTGOMERY, M. L., G. E. SHELIN and I. L. CHAIKOFF: The elimination of administered zinc in pancreatic juice, duodenal juice and bile of the dog as measured by its radioactive isotope (Zn^{65}). *J. exp. Med.* **78**, 151—159 (1943). — MOOR, P. DE, et P. L. HOET: *Zit. nach F. ODENTHAL, W. BEIGLBÖCK, R. CLOTTEN u. W. CREUTZFELD*, Die Wirkung von radioaktivem Zink⁶⁵ auf den Blutzucker und die Langerhansschen Inseln beim Kaninchen. *Klin. Wschr.* **31**, 864—865 (1953). — OKAMOTO, K.: Biologische Untersuchungen der Metalle (VI. Mitteil.). Histochemischer Nachweis einiger Metalle in den Geweben, besonders in den Nieren und deren Veränderungen. *Trans. Soc. Path. Jap.* **32**, 98—105 (1942). — SCOTT, D. A.: *Zit. nach I. ABELIN (s. KEILIN und MANN)*. — SCOTT, D. A., and A. M. FISHER: *Zit. nach EISENBRANDT u. SIENZ*. — SHELIN, G. A., I. L. CHAIKOFF, H. D. JONES u. L. M. MONTGOMERY: *Zit. nach WOLFF* (2). — STEGNER, H. E., u. W. FISCHER: Das Sulfidsilberverfahren zum typochemischen Schwermetallnachweis. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 608—616 (1957). — TIMM, F.: Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfidsilberverfahren. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **47**, 428—431 (1958). — VALLEE, B. L.: The metabolic role of zinc. *J. Amer. med. Ass.* **162**, 1053 (1956). — VOIGT, G. E.: Histologische Versilberungen. *Habil.-Schr. Jena* 1951. — Gewebeeigene Keime (Primärkeime) bei histologischen Versilberungen. *Z. wiss. Mikr.* **61**, 1 (1952). — Histochemical investigation of the distribution of zinc in the pancreas in experimental zinc poisoning. *Acta path. microbiol. scand.* **44**, 146—151 (1958). — WEITZEL, G.: Blutzuckererhöhende Zinkverbindungen. *Naturwiss.* **10**, 285—288 (1953). — WEITZEL, G., U. ROESTER, E. BUDDECKE u. F. J. STRECKER: Zinkgehalt und blutzuckersteigernde Wirkung von Organextrakten. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **303**, 161—175 (1956). — WOLFF, H. P. (1): Untersuchungen zur Pathophysiologie des Zinkstoffwechsels. *Klin. Wschr.* **34**, 409—418 (1956). — (2) Zink. In: Künstliche Radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie. Herausg. H. SCHWIEGK. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — WOLFF, H. P., u. R. AMANN: Der Serumzinkspiegel und seine klinische Bedeutung. *Klin. Wschr.* **29**, 316—318 (1951). — ZOLLINGER, H. U.: Durch chronische Bleivergiftung erzeugte Nierenadenome und -carcinome bei Ratten und ihre Beziehungen zu den entsprechenden Neubildungen des Menschen. *Virchows Arch. path. Anat.* **323**, 694—710 (1953).

Dr. MAGDALENE GESSWEIN

Pathologisches Institut der Universität Bonn a. Rh.-Venusberg