

Aus dem Pathologischen Institut des Kantonsspitals St. Gallen/Schweiz
(Chefarzt: Prof. Dr. H. U. ZOLLINGER)

Oxalose

II. Teil: Experimentelle Untersuchungen an der Ratte *

Von

FELIX LARGIADÈR

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Mai 1960)

Der Oxalose des Menschen liegt eine Oxalsäurediathese zugrunde (s. I. Teil). Alle bei dieser Krankheit gefundenen Veränderungen lassen sich durch einen erhöhten Oxalsäureblutspiegel erklären. Der sichere Beweis für diese Anschauung konnte allerdings bisher noch nicht erbracht werden, da erst sehr wenige, noch nicht endgültig beurteilbare Bestimmungen des Oxalsäuretiters im Blut vorliegen (s. I. Teil). Wenn die Anschauung aber richtig ist, müssen die pathologisch-anatomischen Veränderungen im Tierversuch durch künstliche Erhöhung des Oxalsäureblutspiegels reproduzierbar sein. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Richtigkeit dieser Gedankengänge nachzuprüfen und genauere Aufschlüsse über die Pathogenese der Calciumoxalat-Schrumpfniere zu erhalten.

Allgemeine Methodik und Vorversuche¹

Verwendet wurden 200—300 g schwere, nicht voll ausgewachsene Ratten aus eigener Zucht. Futter und Trinkwasser standen während des ganzen Versuches in normaler Zusammenstellung und beliebigen Mengen zur Verfügung. Den Tieren wurde Oxalsäure in Form einer 2,5%igen Lösung von Natriumoxalat in Äthernarkose subcutan verabreicht. Wir machten dabei die Erfahrung, daß sorgfältig subcutan gespritzt werden muß, da bei teilweiser intracutaner Applikation gelegentlich umschriebene Ulcerationen der Haut auftraten. Bei größeren Dosen gelegentlich entstehende Infiltrate konnten durch Verteilen der Dosis auf mehrere Stellen vermieden werden. Die Kontrolle der Tiere während der Versuchsdauer erstreckte sich auf allgemeines Aussehen, Gewicht, Blutdruck und Albuminurie. Von getöteten Tieren wurde das Blut zum Teil chemisch untersucht. Von getöteten und spontan gestorbenen Tieren wurden die Organe gewogen und Nieren, Nebennieren, Leber, Milz, Myokard, Lunge, Femur und zum Teil auch Rippen in Formalin fixiert. Von Knochen und zur Fettfärbung der Nieren wurden Gefrierschnitte angefertigt, für die übrigen Organe und Färbungen die Paraffineinbettung verwendet.

Vorversuche: Je drei weiblichen Tieren wurden je 15, 25, 37 $\frac{1}{2}$, 50, 75, 100 und 125 g Calciumoxalat pro Kilogramm Körpergewicht fünfmal in Abständen von 3 Tagen injiziert. Drei Wochen nach Versuchsbeginn wurden alle noch lebenden Tiere getötet.

Ergebnisse der Vorversuche. Alle Tiere mit 125 mg starben nach der zweiten, eines mit 100 mg nach der dritten und eines mit 37,5 mg nach der vierten Injektion. Die Überlebenden lassen sich in 2 Gruppen einteilen:

* Mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

¹ Das Natriumoxalat wurde uns von Herrn Dr. J. KESSLER, Kantonsapotheker St. Gallen, zur Verfügung gestellt.

Für die Ausführung der blutchemischen Untersuchungen sind wir Herrn BERNEGGER vom Kantonalen Laboratorium St. Gallen zu Dank verpflichtet.

1. Tiere mit 15 und 25 mg/kg: Körpergewicht vermehrt, Nierengewicht um 1% des Körpergewichtes. Nieren makroskopisch und mikroskopisch unverändert.

2. Tiere mit 37,5 mg/kg und mehr: Körpergewicht stationär oder vermindert, Nierengewicht bedeutend über 1% des Körpergewichtes, Nieren mikroskopisch und oft auch makroskopisch verändert.

Hauptversuche

a) *Akute und subakute Oxalsäurevergiftung.* Männlichen und weiblichen Tieren wurde 75 mg Natriumoxalat je Kilogramm Körpergewicht zweimal wöchentlich injiziert. Je 3 Tiere wurden am 2., 4., 6., 11., je eines am 14., 15., 17., je drei am 21., 28., 40. und 60. Tage getötet. Weitere, während dieser Zeit spontan gestorbene Tiere werden hier nicht berücksichtigt. Zur Prüfung der Wirksamkeit der obigen Dosierung wurden 3 Tiere über den 60. Tag hinaus weiter behandelt, vom 6. Monat an mit drei wöchentlichen Injektionen. Sie starben nach 4 Monaten 26 Tagen, 7 Monaten 4 Tagen und 7 Monaten 13 Tagen.

b) *Zeitlich beschränkte Oxalsäurevergiftung.* Vier weibliche Ratten wurden bis zum 60. Tag genau gleich behandelt wie die obigen, dann wurden die Oxalatinjektionen abgesetzt. Ein Tier wurde nach einem, eines nach 3 und zwei nach 4½ Monate langem injektionsfreiem Intervall getötet.

c) *Chronische Oxalsäurevergiftung.* 30 weibliche Ratten erhielten zweimal wöchentlich 37,5 mg Natriumoxalat je Kilogramm Körpergewicht. Um nicht zuviel Tiere in den ersten Monaten zu verlieren, mußte vorübergehend auf eine Injektion zurückgegangen werden; später ermöglichte Gewichtszunahme und besserer Allgemeinzustand eine Vermehrung und Vergrößerung der Dosierung bis auf dreimal 75 mg ab 33. Woche. Nach jeder Bestimmung des Körpergewichtes wurde die Dosis dem neuen Wert angepaßt. 10 Tiere, welche vor dem Ablauf des 4. Monats starben, werden hier nicht berücksichtigt. Von den anderen 20 starben 8 spontan. Die restlichen wurden in gewissen Abständen getötet, die letzten 2 Überlebenden nach 9 Monaten.

Ergebnisse

Körpergewichte bei den akuten Vergiftungen siehe Abb. 1. Nach Absetzen der Injektionen bei der 2. Serie nahm das Körpergewicht ausnahmslos langsam zu; bei chronischer Intoxika-

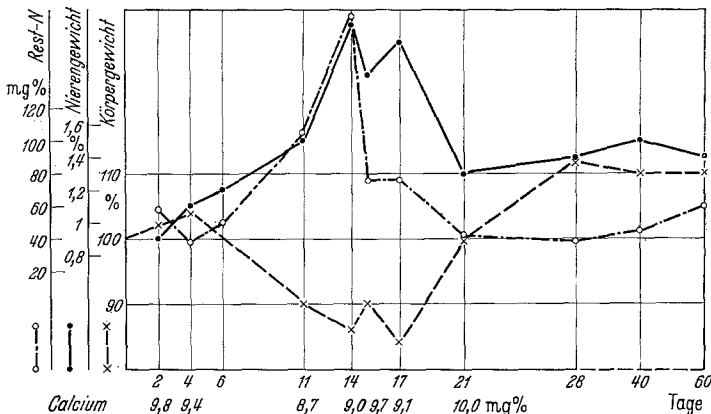


Abb. 1. Verhalten von Körpergewicht, Nierengewicht (in Prozent des Ausgangskörpergewichtes), Rest-N und Blutcalcium bei akuter und subakuter Oxalsäurevergiftung

tion ebenfalls, um nach Vermehrung der Injektionen wieder abzusinken. Bei den getöteten Tieren lag es zwischen 68 und 96%, bei den spontan gestorbenen oder in moribundem Zustand getöteten zwischen 58 und 88% des Ausgangsgewichtes. Das Haar wurde meist struppig und rauh; starker *Haarausfall* erwies sich neben starkem Gewichtsabfall als zuverlässiges Zeichen des baldigen Todes. Andere Zeichen waren Abnahme der Lebhaftigkeit, terminal tiefe acidotische Atmung und Nachschleppen der Hinterpfoten. Die Tiere entwickelten eine zunehmende *Albuminurie*. Am Ende der Kurzzeitversuche war sie nur in einem Drittel, in

Tabelle. Serumwerte und Albuminurie der nach chronischer Oxalsäureintoxikation getöteten Tiere

Versuchsdauer	Rest-N ¹ mg- %	Alkali- reserve Vol.-%	Anor- ganischer Phosphor mg- %	Alkalische Phosphate BE	Chloride mg- %	Gesamt- eiweiß g- %	Albumin- urie ante exitum
4 Monate	31					6,2	+
6 Monate	50						++
7 Monate	120				362		Spur
7 Monate (moribund) . .	321	8,0			372		+
8 Monate	59	30,0					+
8 Monate	75	17,6					++
8 Monate, 10 Tage.	78	29,0					negativ
8 Monate, 20 Tage. (moribund) . .	342	8,8			362		+
8 Monate, 23 Tage (moribund) . .	315	5,4			355		+
8 Monate, 24 Tage (moribund) . .	443	5,4	21,0	18,2			+
9 Monate	82	32,4	5,3	38,3			++
9 Monate	155	18,3		Cholesterin 105 mg- %		5,6	+

¹ Durchschnittlicher Normalwert für diesen Rattenstamm: 38,5 mg- % (BAUMANN).

den Langzeitversuchen nach 4 Monaten bei der Hälfte, ab 7. Monat bei fast allen Tieren vorhanden (Tabelle), ebenso bei Serie b, wo sie nach Absetzen der Injektionen progredient verlief und bei einem Tier den sonst nicht erreichten Wert von 1,7 g- % aufwies. *Blutserumwerte* für akute und subakute Intoxikation siehe Abb. 1, für chronische siehe Tabelle, für die beiden nach 6½ Monaten getöteten Tiere mit auf die ersten 60 Tage beschränkten Injektionen:

Ratte 3: Cholesterin 79 mg- %, Gesamteiweiß 7,1 g- %, Albumine 39,0% α_1 9,4%, α_2 12,6%, β_1 19,3%, γ 19,7%. Ratte 4: Cholesterin 171 mg- %, Gesamteiweiß 7,1 %, Albumine 39,0%, α_1 14,8%, α_2 7,4%, β_1 7,4%, β_2 17,1%, γ 14,3%.

Bei den chronischen Vergiftungen betrug der *Blutdruck* nach 2½, 6 und 8 Monaten ausnahmslos zwischen 65 und 120 mm Hg. Bei der Sektion zeigten die Kurzzeitversuche ein deutliches Ansteigen der *Nierengewichte* mit Maximum um den 15. Tag (s. Tabelle), bei den zeitlich begrenzten Versuchen beträgt es 0,8—0,95, bei den Langzeitversuchen 1,1—1,8 % des Körpergewichtes (bei Abfall des letzteren); die anderen Organe lassen keine signifikanten Gewichtsveränderungen erkennen.

Makroskopisch weisen nur die Nieren Veränderungen auf (Abb. 2). In den ersten Tagen keine Abweichung von der Norm: Normale Größe, Oberfläche glatt, braunrot-grau. In der 2. Woche, parallel zum Anstieg des Rest-N, starke Vergrößerung mit Maximum am 14. Tag. Oberfläche glatt, etwas gelblich. Am 21. Tag Größe vermindert, oberflächlich unscharf begrenzte, braunrote, seichte Narben. Am 28. Tag ist das Bild ungefähr gleich, am 40. Tag sind die Narben schärfer begrenzt und tiefer eingezogen, die erhaltenen Partien weißlich. Am 60. Tag lassen letztere teilweise eine deutliche Aufteilung in kleine, weißliche, erhabene Knötchen erkennen. Nach Absetzen der Injektionen sind die Befunde vorerst gleich (später zeigen die Nieren nur noch vereinzelte ganz kleine Narben), ebenso bei den chronischen Vergiftungen, wenn sie hier oft auch geringgradiger

sind; vom 8. Monat an hingegen zeigen diese Nieren ausnahmslos sehr schwere Veränderungen: Oberfläche diffus fein granuliert oder häufiger Oberfläche von großen Narben durchsetzt mit Aufsplitterung des dazwischen liegenden Gebietes in grobe weißliche Granula. Beim Schneiden deutliches Kratzen des Messers, Rinde radiär weißlich gestippt, Mark sehr blaß (Abb. 3). Das Röntgenbild läßt eine ganz feine radiäre schattendichte Streifung der Rinde erkennen.



Abb. 2. Akute und subakute Oxalsäurevergiftung. Von links nach rechts: Nieren am 6., 15., 21. und 40. Tag

Mikroskopisch: Die im folgenden erwähnten *Kristalle* bestehen aus Büscheln, Rosetten und Garben von plumpen Nadeln und kleinen abgerundeten, teils wetzsteinähnlichen Stäbchen mit schwach gelblicher Eigenfarbe und starker Doppelbrechung. Auch die übrigen Eigenschaften entsprechen völlig dem im I. Teil beschriebenen Calciumoxalat-Monohydrat. In fortgeschrittenen Stadien weisen sie oft einen bläulichen Schimmer auf und sind dann nach Kossa färbbar.

In den Nieren stehen Veränderungen an *Tubuli* und *Interstitium* im Vordergrund. Am 2. Tag finden sich in Hauptstücken und vereinzelt Mittelstücken ziemlich

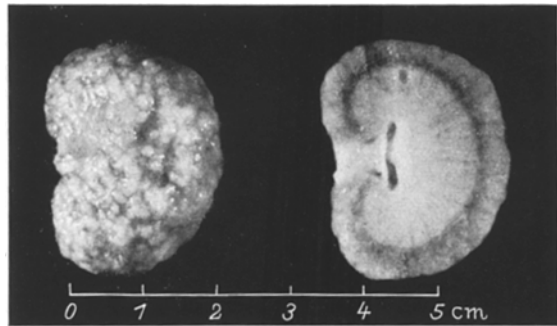


Abb. 3. Calciumoxalat-Schrumpfniere einer nach 8 Monaten 20 Tagen getöteten Ratte mit Urämie

viele Kristalle bei unverändertem Epithel. Beträchtliche Kristallmengen in den distalen Abschnitten der Sammelröhren, hier zum Teil intraepithelial; die kristallumschließenden Zellen springen oft pilzförmig in das Lumen vor. Das Lumen derjenigen Tubuli, in welchen alle Kristalle intraepithelial liegen, ist oft mit roten, homogenen Cylindern ausgefüllt. Epithelien feintropfig verfettet, gelegentlich hyalintropfig verändert. Capillaren prall mit polynucleären Leucocyten angeschoppt, vereinzelte der letzteren auch im Interstitium. Am 4. Tag auch in den Hauptstücken gelegentlich intraepitheliale Kristalle (Abb. 4); Epithelien hier im übrigen oft geschwollen, teilweise mit großen Vacuolen, Lumen

eng. In den Papillenspitzen viel stärkere, angedeutet sektorförmige polynucleäre Infiltrate. Die Polynucleären dringen oft in die kristallhaltigen Epithelzellen ein

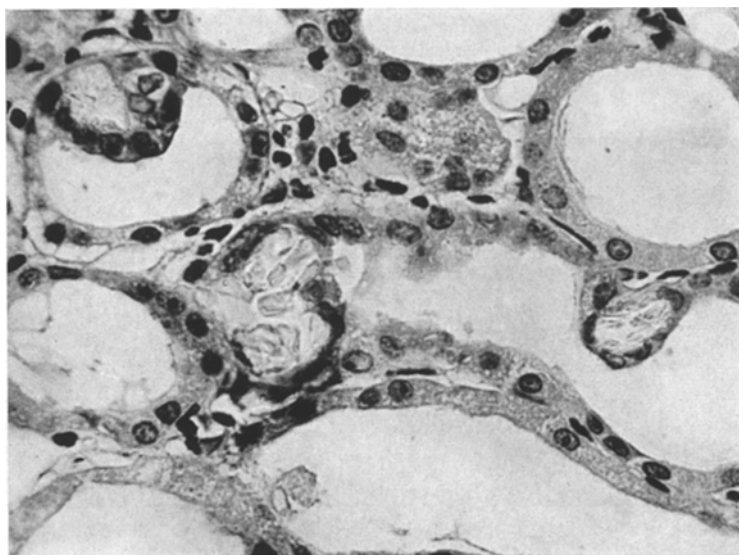


Abb. 4. Akute Oxalsäurevergiftung, 4. Tag: Intraepitheliale Calciumoxalat-Ablagerungen in den Tubuli contorti. Vergr. 300fach

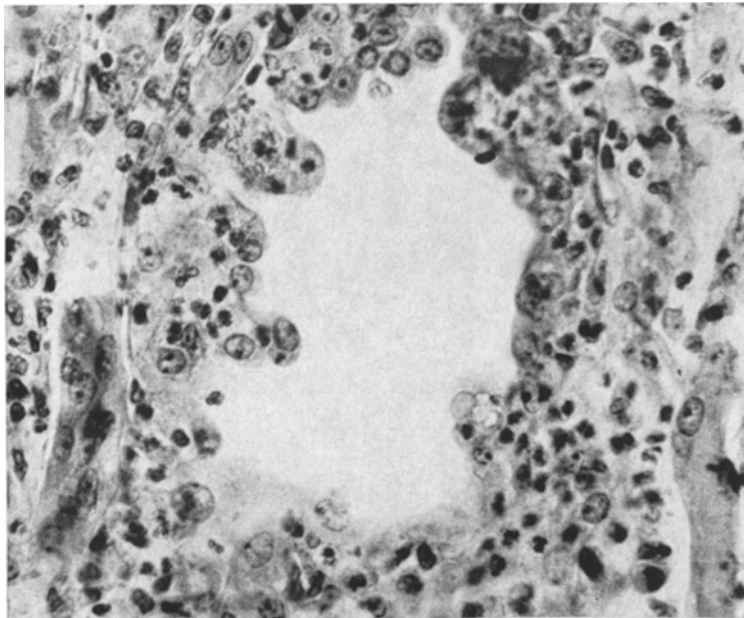


Abb. 5. Akute Oxalsäurevergiftung, 4. Tag: Infiltration der kristallhaltigen Sammelröhrenepithelien durch polynucleäre Leukocyten. Vergr. 300fach

(Abb. 5); diese werden zum Teil abgestoßen, so daß viele Tubuluslumina ausgefüllt sind mit Cylindern aus Leukocyten, Epitheldetritus und Kristallen. Am 6. Tag

sind die Sammelröhren meist etwas ausgeweitet, ihr Epithel abgeflacht und weniger verfettet. Am 11. Tag erstreckt sich diese Tubulusdilatation bis in die subkapsuläre Zone, das Stroma ist etwas ödematös. In den Papillen fallen wieder die weitgehende Epithelzerstörung in vielen Tubuli, sowie die in diesen Lumina steckenden Leukocytenzylinder und die hyalintropfige Veränderung der erhaltenen Epithelzellen auf. Am 14.—17. Tag ist im Mark das Ödem viel stärker, die celluläre Entzündung geringer. Sie besteht aus wenigen Polynucleären und vereinzelt Lymphocyten und Plasmazellen. Ganze Nephronen sind proximal der verschlossenen Tubuli collectivi ausgeweitet, so daß ein radiäres Bild entsteht;

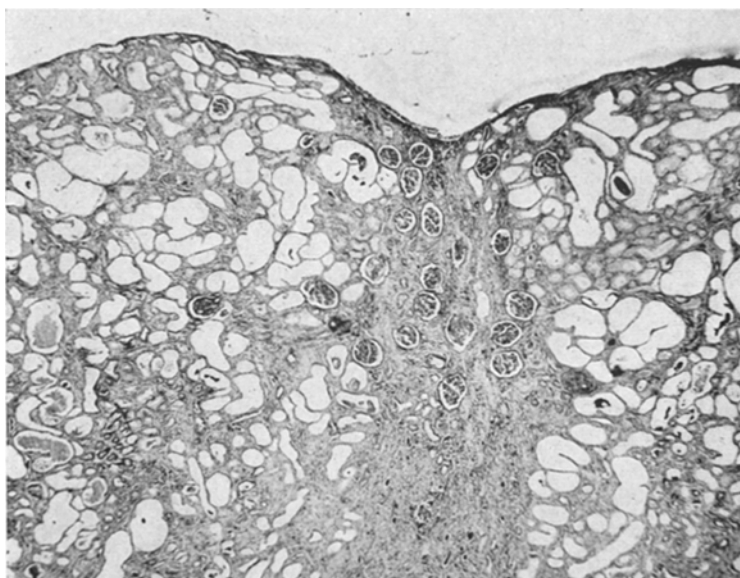


Abb. 6. Chronische Oxalsäurevergiftung nach 4 Monaten 20 Tagen: Eingezogene radiäre Narbe, Nephrohydropy der Umgebung. Vergr. 32fach

Kristalle reichlich. Am 21. Tag ist das Ödem fast völlig verschwunden; im Mark herdförmige Vermehrung der kollagenen Fasern und diskrete lymphocytäre Infiltration, hingegen praktisch keine Kristalle. In der Rinde sind die ehemals stark dilatierten Tubuli wieder enger, ihr Epithel aber weiter ganz flach, die Nierenoberfläche ist über diesen Bezirken etwas eingezogen, das Stroma locker lymphocytär infiltriert, die kollagenen Fasern etwas vermehrt.

Am 28. Tag und besonders am 40. Tag und bei einem Tier des 60. Tages sind diese Veränderungen noch deutlicher. Den eingezogenen Narben der Oberfläche entsprechen radiäre Parenchymnarben. Im Mark bestehen diese aus fibrosiertem Stroma und lumenlosen Epithelsträngen, in der Rinde aus leicht dilatierten Tubuli mit ganz flachem Epithel und verdickter Basalmembran. Stroma verbreitert, fibrosiert, lymphocytär infiltriert. Zwischen diesen Narben liegen gut erhaltene Rindenbezirke, Tubulusepithel hier hoch, geringgradig sudanophil, Kristalle auffallenderweise vor allem in Haupt- und Mittelstücken dieser Abschnitte. Das erste Tier nach dem Absetzen der Injektion zeigt das gleiche Bild (die späteren nur noch unbedeutende Narben und sonst unverändertes Parenchym ohne Kristalle), ebenso 5 der zwischen 4 und 7½ Monate getöteten Tiere aus den

Langzeitversuchen. Die zwei restlichen am 60. Tag getöteten Tiere sowie 7 mit chronischer Vergiftung, zwischen 4 Monaten, 20 Tagen und 8 Monaten 10 Tagen

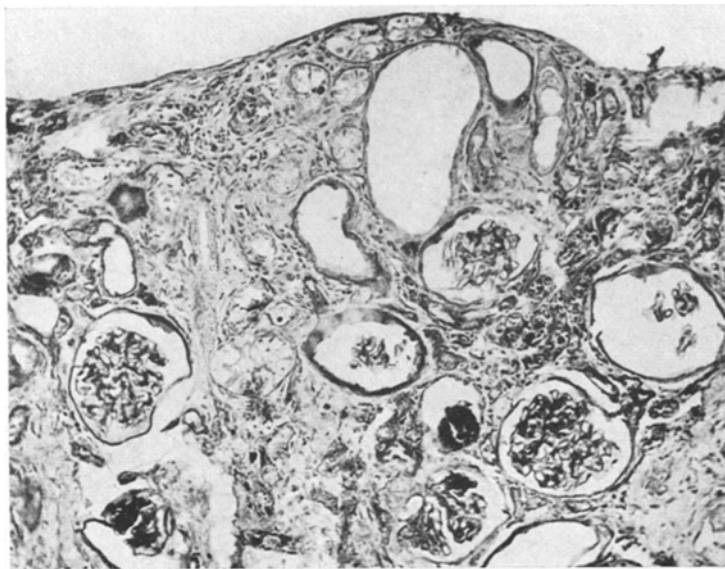


Abb. 7. Calciumoxalat-Schrumpfniere. (4 Monate 20 Tage) Die Veränderungen betreffen vorwiegend Tubuli und Interstitium. Vergr. 100fach

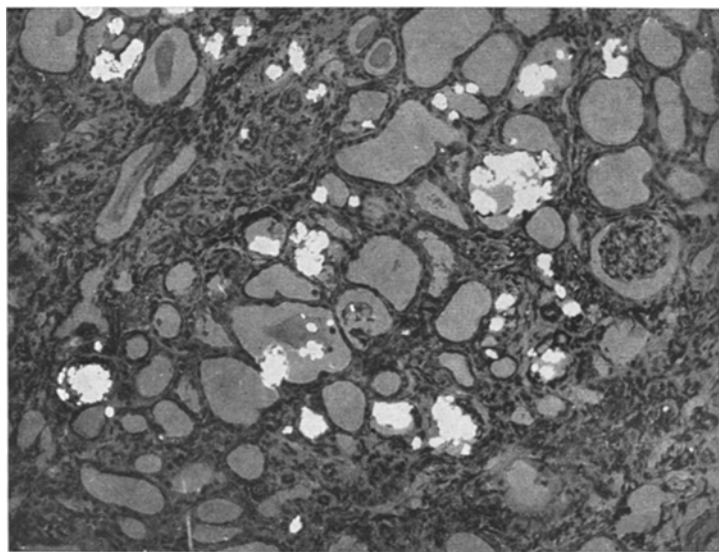


Abb. 8. Calciumoxalat-Schrumpfniere einer nach 8 Monaten 20 Tagen getöteten Ratte mit Urämie: massenhaft Calciumoxalatkristalle in der Rinde, teilweise intratubulär, teilweise im Stroma, von Riesenzellen umschlossen. Vergr. 100fach

zeigen weitergehende Veränderungen (Abb. 6). Die eben beschriebenen Narben sind meist größer und weniger scharf begrenzt und vor allem sind die dazwischen liegenden Gebiete verändert. Oft besteht eine sehr starke, die Oberfläche emporwölbende Nephrohydropse, daneben sind diese Bezirke oft durch kleine zusätzliche

Narben aufgesplittert. Kristalle sind in den besser erhaltenen Rindenpartien und im Mark meist häufig.

Die restlichen Tiere mit chronischer Oxalsäurevergiftung, nämlich je ein nach 4 Monaten 10 Tagen, 7 Monaten 15 Tagen und 8 Monaten spontan gestorbenes und 5 zwischen 8 Monaten 20 Tagen und 9 Monaten, teilweise in moribundem Zustand getötete, zeigen schwerste Nierenveränderungen. Diese lassen angedeutet noch radiäre Intensitätsunterschiede erkennen, sind im übrigen aber ganz diffus. Größere Tubulusgruppen, besonders von Haupt- und Mittelstücken, sind ganz eng mit flachem Epithel und stark verdickter Basalmembran; andere sind sehr

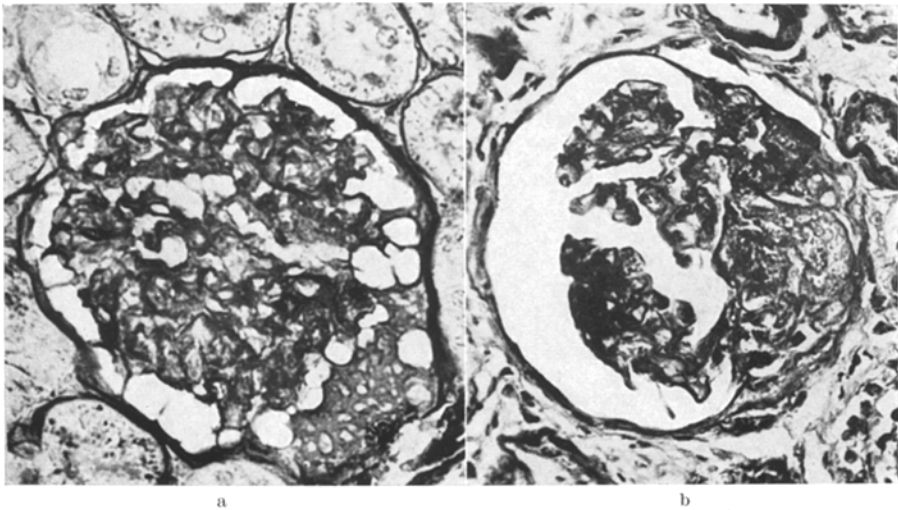


Abb. 9a u. b. Glomerulonephrose, a einer nach 6½ Monaten getöteten Ratte mit auf die ersten 60 Tage beschränkten Injektionen, b einer Ratte mit chronischer Intoxikation und Calciumoxalat-Schrumpfnieren. Plumpe Schlingen mit verdickten und verquollenen Basalmembranen. Bei b Schlingensynechien und bei a Eiweißstoffe im Kapselraum. PAS-Färbung. Vergr. 300fach

stark ausgeweitet und mit blaß-eosinophiler Flüssigkeit gefüllt und nur vereinzelte sind wenig oder gar nicht verändert (Abb. 7). In den Tubuli contorti, besonders den nicht ganz atrophischen, liegen sehr viele Kristalle und Kristallagglomerate, und zwar fast ausschließlich intraepithelial. Weitere finden sich im Interstitium, aber auch hier von Riesenzellen umgeben (Abb. 8). Oft sind auch blaue, nach Kossa anfärbbare Kalkcylinder nachweisbar. Die Sammelröhren des Markes sind durch Bindegewebe ersetzt oder wie die Henleschen Schleifen in solide Zellstränge umgewandelt, die erhaltenen Sammelröhren sind stark dilatiert und distal von Kristallhaufen und gelegentlich auch von Zelldetritus verstopft.

Das Stroma ist im allgemeinen sehr stark und diffus verbreitert, fibrosiert und locker lympho-plasmo-histiocytär infiltriert mit größeren Lymphocytenhäufchen, im Mark mit einigen polynucleären Leukocyten.

Die *glomerulären Veränderungen* sind weniger stark ausgeprägt. Sie beginnen am 11. Tag mit sektorförmiger Verquellung der Basalmembranen in vereinzelten Glomerula. Am 15. Tag ist eine Veränderung am stärksten, welche zum Teil schon vorher, später aber nicht mehr beobachtet werden kann: Das Kapselepithel einzelner Glomerula ist in der Umgebung des Tubulusabganges cylinderzellig

umgewandelt, sieht aus wie Tubulusepithel. Zwischen dem 28. und 60. Tag zeigen viele Glomerula plumpe Schlingen mit verdickten Basalmembranen, aber

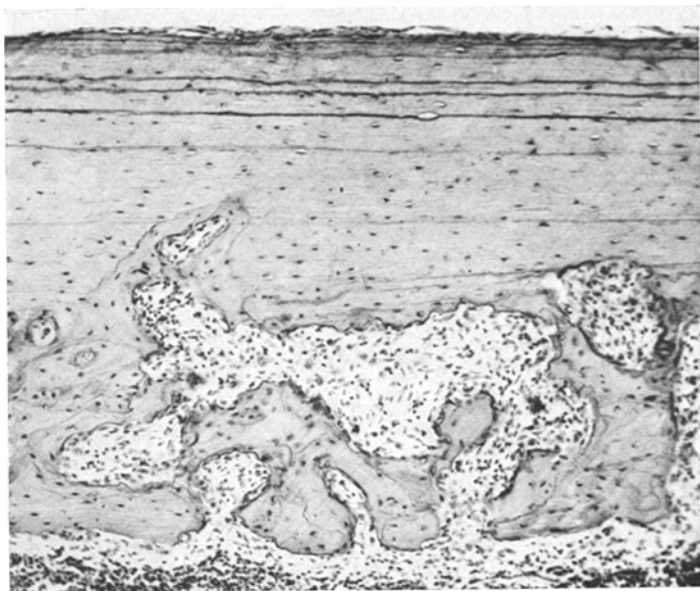


Abb. 10. Femur nach chronischer Oxalsäurevergiftung von 4 Monaten 10 Tagen: Schwere dissezierende Fibroosteoklasie. H.E. Vergr. 150fach

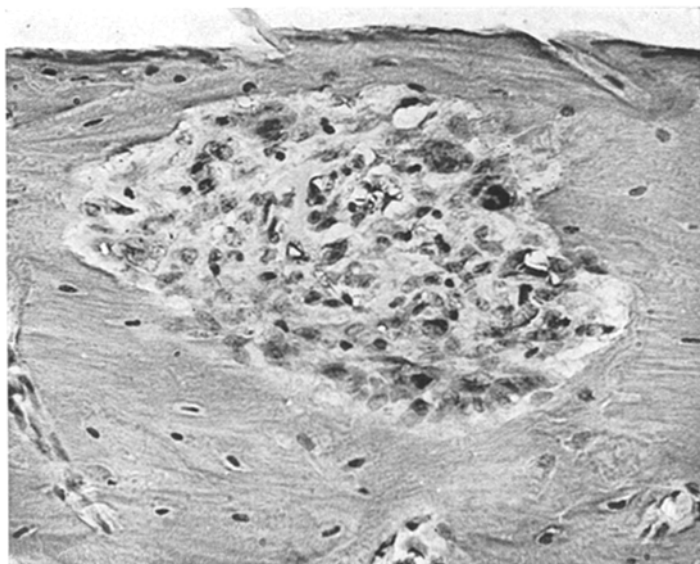


Abb. 11. Femurschaft nach chronischer Oxalsäurevergiftung von 8 Monaten 10 Tagen: Dissezierende Fibroosteoklasie mit von Riesenzellen umschlossenen Calciumoxalatkristallen. Vergr. 180fach

zartem Mesangium; am 60. Tag finden sich vereinzelte Kapselsynechien. Die Veränderungen sind in Narbenbezirken stärker als in sonst wenig veränderten Nephronen, was auch später noch gilt. In der Folge entwickeln sich die glomeru-

lären Veränderungen mit und ohne weitere Oxalatinjektionen sowohl qualitativ wie quantitativ ganz gleich (Abb. 9a u. b). In den Schlußstadien findet man in beiden Fällen alle Übergänge von nur wenig veränderten bis leicht verkleinerten Glomerula mit plumpen Schlingen, sehr stark verdickten, verquollenen Basalmembranen und in einigen Fällen sogar Imprägnation der Schlingen mit sudanophilen, isotropen, körnigen Massen. Aufsplitterung der Basalmembranen, proliferative Veränderungen sowie Kristalle im Kapselraum fehlen durchwegs. Ergänzend sei erwähnt, daß die letztgenannten Fälle auch im Interstitium, besonders den Capillarendothelien, feinkörnige, sudanophile Substanzen erkennen lassen; hingegen fehlen doppelbrechende Lipoiden.

In allen Versuchen sind *Arteriolen* und *Arterien* völlig zart. Von Anfang an findet man in Tubulusepithelien und Stroma gelbbraunes, grobkörniges *Pigment*. Zum Teil handelt es sich um typisches Hämosiderin mit positiver Eisenreaktion; es ist hauptsächlich in den Makrophagen des Stromas lokalisiert und tritt in Narbenbezirken gehäuft auf. Beim Pigment der Haupt- und Mittelstückepithelien handelt es sich um Aposidiern, das Abnutzungspigment der Niere (ISLER); es behält in Eisen-, Lepehne-, Ziehl-Neelsen- und Sudanfärbung seine gelbbraune Eigenfarbe.

Die *anderen Organe* lassen nur in den Langzeitversuchen wichtige Veränderungen erkennen. Von diesen zeigen die Knochen in 12 Fällen, worunter in allen mit den schwersten Nierenveränderungen, eine sehr deutliche dissezierende Fibroosteoklasie (Abb. 10). In einem Fall enthalten diese Herde sehr viele kleine bis mittelgroße Kristalle mit den typischen Eigenschaften des Calciumoxalates (Abb. 11). Extrarenale Kristallablagerungen sind sonst nur noch in 2 Fällen zu finden, und zwar ebenfalls nur bei chronischer Vergiftung, nämlich einmal in intrapulmonalen Lymphknötchen und einmal in Milzfollikeln. Ein konstanter Nebebefund ist von Anfang an eine schwere Hämosiderose der Milz und eine ganz geringgradige von Lunge und Leber.

Diskussion

Die Befunde bei den Vorversuchen, welche für die Dosiswahl bei den späteren Versuchen begleitend waren, entsprechen ungefähr den Angaben der Literatur, indem die Dosis letalis von subcutan injizierter Oxalsäure beim Menschen 0,5 bis 0,6 g, beim Kaninchen 0,25 g und bei der Katze 0,4 g beträgt (MACKENZIE und McCOLLUM). Beim Kaninchen wurden zu Versuchszwecken intravenöse Einzeldosen von 20—25 mg Natriumoxalat pro Kilogramm Körpergewicht verwendet (STUDER et al., DUNN et al.). Angaben über die Dosierung bei Ratten sind nicht zu finden. Injektionen in Abständen von 2—4 Tagen genügen, da die Halbwertszeit der Oxalsäure im Organismus mit 50—60 Std angegeben wird (JUST; CURTIN und KING).

Es ist bekannt, daß die Nieren bei Oxalsäurevergiftung das Haupterfolgsorgan sind. Ausnahmen bilden das akute Stadium bei peroraler Oxalateinnahme, wobei der Verdauungstrakt im Vordergrund steht (PETRI; SMITH), und die durch massive Calciumbindung bedingte rasch tödliche Wirkung sehr hoher Dosen (JODLBAUER; JEGHERS und MURPHY). Die Bevorzugung der Nieren wird dadurch erklärt, daß die Oxalsäure ein Stoffwechselendprodukt ist, welches vom animalen Organismus nicht mehr weiter abgebaut werden kann, sondern vorwiegend durch

die Nieren ausgeschieden (HEUBNER und HÜCKEL; ORZECOWSKI et al.) und zu einem kleinen Teil von der Darmflora zu CO_2 abgebaut wird (CURTIN und KING; s. auch I. Teil). JUST sowie BRUBACHER et al. (I) fanden innerhalb 26 Tagen nach einmaliger Injektion von radiomarkiertem Oxalat 66,5% der Aktivität wieder im Harn, 14,6% in den Faeces und 8,4% im Ausatmungs- CO_2 .

Das in den Kurzzeitversuchen erzeugte Bild kann als *akute Oxalsäurenephritis* bezeichnet und mit früheren Tierversuchen mit Oxalsäure (ARNOTT und KELLAR; DOMANSKI; DUNN et al.; EBSTEIN und NICOLAÏER; HEUBNER und HÜCKEL) und Glykolen, in der Humanpathologie mit Kleesalz- und Glykolvergiftungen verglichen werden. Letztere wirken vor allem durch Umwandlung in Oxalsäure (von 2% nach ROSS, 10% nach ALLEN). Dabei ist allerdings zu beachten, daß noch andere, direkte Glykoleffekte zu finden sind, wie Vacuolisierung der Epithelzellen von Leber und Nieren und bilaterale Nierenrindennekrosen (ALLEN; CHIRAY et al.; CHRISTIAENS et al.; ROSS; SMITH). Auch liegt meist eine einmalige Gifteinnahme vor; der Verlauf scheint aber nach unseren Versuchen durch mehrfache Intoxikationen qualitativ nicht wesentlich verändert zu werden.

Einige Angaben der Literatur decken sich mit unseren Befunden, so das Fehlen von Kristallen in den Glomerula und die Verstopfung von Tubuli mit Zelldetritus und Kristallen (DOERR; HEUBNER und HÜCKEL; SMITH). Frühere Diskussionen über Fehlen (KRÜGER; PETRI) oder Vorkommen (SUZUKI; FAHR) von Epithelnekrosen scheinen uns mit der Feststellung erledigt, daß es sich hierbei nur um eine Frage der Konzentration des toxischen Stoffes handelt. Gleicherweise erklären wir die Beschränkung der Epithelnekrosen in unseren Versuchen auf die distalen Tubulusabschnitte. HEUBNER und HÜCKEL sahen bei höheren Dosen (ungefähr 220 mg/kg entsprechend) auch Nekrosen der Tubuli contorti, während wir hier, wie auch DUNN et al., nur eine Nephrose geringeren Grades fanden. Andere Autoren sprechen von Epithelnekrosen, ohne genauer zu lokalisieren (BERMAN et al.; TÖBBEN); hingegen ist nicht ganz verständlich, warum ALLEN sowie ARNOTT und KELLAR nur die Nekrosen der proximalen Tubuli contorti erwähnen. Die Beobachtung eines interstitiellen Ödems wird von anderen Autoren (DUNN et al.; ROSS; SMITH) bestätigt. Durch Abdrosselung der Tubuli und besonders der Gefäße ist es die Hauptursache der um den 14. Tag auftretenden Urämie; in schweren Fällen können Epithelnekrosen auftreten (DOMANSKI). Es handelt sich hierbei um einen für die akute interstitielle Nephritis ganz typischen Vorgang (ZOLLINGER 1945). Früher wurde die Urämie mit einem zentralnervösen Vasoconstrictorenkrampf (KRÜGER), den Epithelnekrosen (BERMAN et al.) oder einer tubulären Insuffizienz (ROSS) erklärt. Die um den 15. Tag beobachtete sektorförmige Umwandlung des Bowmanschen Kapselepipithels in ein tubulusähnliches Cylinderepithel ist eine unspezifische Begleiterscheinung der Glomerulonephrose (ISLER).

Bei der *chronischen Intoxikation* fehlen Vergleichsmöglichkeiten mit tierexperimentellen Oxalsäurevergiftungen; wir haben nämlich in der Literatur keine über ähnlich lange Zeit fortgesetzte Versuche gefunden. Hingegen stimmen die Veränderungen mit denjenigen überein, welche GERSHOFF et al. bei der Katze durch Vitamin B_6 -Defizit erzeugen konnten. ANDRUS et al. konnten im gleichen Versuch bei der Ratte nach 6 Wochen nur Calciumoxalat-Kristallbildung in Nierenpapillen und Harnwegen nachweisen, sowie ein Narbenbild, welches große Ähn-

lichkeiten mit dem Schlußstadium unserer Kurzzeitversuche aufweist. Die Zusammenhänge zwischen Vitamin B₆ und Oxalsäurestoffwechsel sind noch unklar.

Vergleicht man die schwersten Stadien unserer chronischen Oxalsäureintoxikationen mit der *Oxalose* des Menschen (s. I. Teil), so stellt man sowohl im klinischen Verlauf (progressive Niereninsuffizienz, Entwicklung einer acidotischen Urämie) wie in der pathologischen Anatomie (Calciumoxalat-Schrumpfniere, gelegentlich Oxalatablagerungen in den anderen Organen) eine fast völlige Identität der Befunde fest. Die Resultate der Versuche scheinen uns damit die Richtigkeit der Annahme zu beweisen, daß der Oxalose ein erhöhter Oxalsäureblutspiegel zugrunde liegt. Wie im I. Teil dargelegt wird, sind Voraussetzungen und Bedingungen für extrarenale Kristallablagerungen noch ungeklärt; eventuell übersteigt einfach in der Mehrzahl der Fälle der Calciumoxalatspiegel die Löslichkeitsgrenze nicht. An Hand des vorliegenden Materials können wir darüber nichts weiteres aussagen.

Eine Hypertonie trat, wie die normalen Blutdruckwerte sowie das Fehlen einer hypertensiven Arteriopathia zeigen, nicht auf. Als schwere renal bedingte Allgemeinstörung entwickelten in unseren Versuchen praktisch alle fortgeschrittenen Fälle einen sekundären Hyperparathyreoidismus mit Hyperphosphatämie, erhöhter alkalischer Phosphatase und Fibroosteoklasie des Knochens (Abb. 10 u. 11). Auch dieser Befund, als Folge der Acidose bei distal-tubulärer Insuffizienz, steht in völliger Übereinstimmung mit der Oxalose.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß in den Nieren nach unseren Befunden grundsätzlich ein *akuter Prozeß verursacht wird* (Abb. 2 u. 5), *welcher um den 14. Tag sein Maximum erreicht, dann trotz Weiterführen der Oxalatinjektionen abklingt und um den 40. Tag mit der Ausbildung eines typischen Narbenbildes seinen vorläufigen Abschluß findet. Der nun chronisch gewordene Prozeß verläuft langsamer, aber progredient und führt schließlich zur Schrumpfniere* (Abb. 3 u. 7). Dieses morphologische Bild kann mit folgendem pathophysiologischen Vorgang erklärt werden: Die glomerulär ausgeschiedene Oxalsäure und das tubulär sezernierende Calcium verbinden sich in den proximalen Tubuli contorti; das Calciumoxalat präcipitiert zum Teil, wird aber bei Gelegenheit wieder gelöst. Der Großteil wird erst im Mark anläßlich der Urineindickung ausgefällt. Wenn auch die Oxalsäure eine Glomerulonephrose verursacht (Verdickung der Basalmembranen der Glomerula, sekundäre hyalintropfige Veränderung der Tubuli), so steht beim weiteren Verlauf der Prozeß im Mark, besonders an den Sammelröhren, doch im Vordergrund, indem durch Epithelzerstörungen und kristallhaltige Zelldetrituscylinder die Lumina verschlossen werden. Folge ist die proximale Dilatation der betroffenen Nephronen, die Nephrohydropse. Andererseits führt eine akute interstitielle Begleitnephritis infolge Vorherrschen der exsudativen, serösen Komponente ebenfalls im Mark zur Abdrosselung der Tubuli und besonders der Gefäße.

Nach Überleben des akuten Stadiums setzt die Harnflut wieder ein; wegen vorerst fehlender Urinkonzentration fehlen am 21. Tag im Mark auch die Kristalle. Die dilatierten Nephronen atrophieren progredient unter Narbenbildung; der spärliche Kristallgehalt zeigt ihre Funktionslosigkeit. Bei fortgesetzter Oxalsäurevergiftung wird die Oxalsäure vor allem in den gut funktionierenden Glomerula ausgeschieden; durch Kristallverstopfung der Sammelröhren werden diese Nephronen ihrerseits zu Dilatation und Atrophie gebracht (Abb. 6). So wird zwangsläufig

das normale Nierenparenchym immer weiter abgebaut. Ein weiteres auffallendes Faktum ist die allmähliche Verlagerung des Schwergewichtes des primären Prozesses vom Mark in die Rinde, indem bei fortgeschrittenen Fällen der Großteil des Calciumoxalates hier zurückgehalten wird und so in Kristallform teils in Tubulusepithelien, teils nach völliger Zerstörung der Tubuli im Interstitium liegend, direkt und durch gelöstes Calciumoxalat den chronisch entzündlichen Prozeß fördert. Fast unabhängig von den eben beschriebenen Vorgängen entwickelt sich die Glomerulonephrose, wie dies aus den Versuchen mit zeitlich begrenzten Injektionen hervorgeht. Auffallend war hier schon am Verlauf nach Absetzen der Injektionen die progrediente Albuminurie, welche bei Tier 4 den hohen Wert von 1,7 g-% erreichte. Gesamteiweiß und Elektrophorese des Serums zeigen allerdings keine signifikanten Abweichungen von der am gleichen Rattenstamm früher bestimmten Norm (BAUMANN). Histologischer Hauptbefund ist die Verdickung und Verquellung der Basalmembranen der Glomerulumschlingen (Abb. 9a). Einige Befunde von Tier 4 wie die Hypercholesterinämie von 171 mg-% (normal nach BAUMANN 76 mg-%) und die Fettablagerung im Interstitium erinnern an die Lipoidnephrose. Verfettung der Glomerulumschlingen hat auch ISLER bei der experimentellen Schwefelkohlenstoff-Glomerulonephrose der Ratte beobachtet. Das in späteren Stadien dieser Versuchsreihe völlige Fehlen von persistierenden Kristallablagerungen, der fast vollständige Rückgang der entzündlichen Veränderungen und die zu unbedeutender Größe erfolgte Schrumpfung der Narbenfelder einerseits, die fast ausschließlich in den Glomerula lokalisierten Veränderungen andererseits, lassen unschwer erkennen, daß es hier gelungen ist, eine Komponente des im vorhergehenden Abschnitt dargestellten Mechanismus der Calciumoxalatschädigung der Nieren rein darzustellen. Bei dieser Komponente handelt es sich um eine durch die Oxalsäure, ohne Mitwirkung des Calciumoxalats, verursachte Glomerulonephrose. Die bei der hier gewählten Intensität und Dauer der Oxalatapplikation gesetzten Schlingenschäden sind so stark, daß die Glomerulonephrose nach Absetzen der Injektionen irreversibel und progressiv ist.

Die *nosologische Stellung* des akuten Schädigungskomplexes kann mit den Begriffen Glomerulonephrose, nekrotisierende Tubulonephrose, akute interstitielle Nephritis und Nephrohydrose umschrieben werden.

Die *wirksamen Faktoren* dürften weniger die Kristalle sein, welche nur bei der Verstopfung der Tubuli eine direkte Rolle spielen, als vielmehr gelöstes Calciumoxalat und eventuell freie Oxalsäure; die Kristalle sind nur ein Indicator für das Vorliegen einer gesättigten Lösung des ersteren. Es können daher schon vor dem Auftreten von Kristallen Epithelveränderungen nachgewiesen werden (DUNN et al.; GOUGH). DOERF vermutet, daß die Oxalsäure ein Zellgift sei, welches durch Störung der Zellatmung zu einer primär cellulären serösen Entzündung führe, daß primär also keine klassische dyshorische Entzündung vorliege.

Es bleibt noch die Frage offen, warum das akute Stadium trotz Weiterführens der Injektionen abklingt und auch bei späteren Injektionen nicht mehr auftritt. Sie kann an Hand der vorliegenden Befunde nicht beantwortet werden; man kann nur vermuten, daß eventuelles Vorhandensein von freier Oxalsäure im Urin dabei eine Rolle spielt. Ihre Menge wäre bei schon geschädigten distalen Tubuli und entsprechender, zur Acidoseverhütung erhöhter Calciumausscheidung wegen vermehrter Oxalatbildung sicher kleiner. Die endgültige Lösung dieses Problems

muß aber späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Mit dem nur einmaligen Auftreten des akuten Stadiums hängen wahrscheinlich auch die notwendig gewordenen Dosiserhöhungen bei chronischer Intoxikation zusammen. Daneben spielt bei dieser „Resistenz“-Entwicklung vielleicht die Vermehrung der Ausscheidung in der Galle eine Rolle sowie sehr wahrscheinlich auch die Schädigung der distalen Tubuli, indem wegen geringerer Urinkonzentration weniger Kristalle wieder ausfallen. Jedenfalls konnten wir ja eine Abnahme der Kristallablagerungen im Mark beobachten.

Im Gegensatz zum akuten Stadium scheinen die Kristalle bei der *Calciumoxalat-Schrumpfniere* eine größere Rolle zu spielen, vor allem in der Rinde, sowohl direkt wie durch gelöstes Oxalat. Die *Nosologie* der Calciumoxalat-Schrumpfniere ist, analog zur akuten Oxalsäure-Nephritis, komplex; wie schon im I. Teil dargestellt wurde, handelt es sich um eine Calciumoxalat-Nephrokristallose mit Nephrohydropse, chronischer interstitieller Nephritis und chronischer Glomerulotubulonephrose.

Zusammenfassung

Es werden die bei der Ratte durch Natriumoxalat-Injektionen ausgelösten Oxalsäureschäden der Nieren untersucht. Im *akuten Vergiftungsstadium* wird durch Calciumoxalat und eventuell durch freie Oxalsäure ein Prozeß verursacht, der sich vor allem im Nierenmark abspielt: Durch nekrotisierende Tubulonephrose und Bildung von Kristalleylindern wird ein Teil der Nephrone distal verschlossen, zur Nephrohydropse und schließlich zur Atrophie gebracht; gleichzeitig entwickelt sich vorübergehend eine akute interstitielle Nephritis mit Urämie.

Das *chronische Vergiftungsstadium* ist durch langsame progrediente Zerstörung des restlichen Nierenparenchyms gekennzeichnet; der Schwerpunkt des Prozesses verlagert sich in die Rinde, wo die massenhaft retinierten Calciumoxalatkristalle eine chronische interstitielle Nephritis unterhalten. Unabhängig davon entwickelt sich eine allein durch die freie Oxalsäure verursachte Glomerulonephrose.

Im *Schlußstadium* findet man eine Calciumoxalat-Schrumpfniere. Die Übereinstimmung des erzeugten Krankheitsbildes mit der menschlichen Oxalose ist vollständig. Dadurch wird bestätigt, daß der Oxalose ein erhöhter Oxalsäureblutspiegel zugrunde liegt.

Summary

Oxalic acid injury to the rat kidney induced by the experimental injection of sodium oxalate is presented. In the acute toxic stage, a reaction taking place chiefly in the medulla is brought about by calcium oxalate and possibly by free oxalic acid. Morphologically, the process is characterized by the occlusion of a part of the nephrones in their distal portion as a result of a necrotic tubular nephrosis, and the formation of crystal cylinders which leads to nephrohydrosis and ultimately to atrophy.

The chronic toxic stage is characterized by a slow, progressive destruction of the remaining kidney parenchyma. In this stage, it is the cortex which is mainly involved wherein the enormous amounts of retained calcium crystals activate and maintain a chronic interstitial nephritis. Free oxalic acid independent of the calcium crystals, is itself responsible for the development of glomerulonephrosis. There is complete similarity between the experimentally produced diseased state in the rat and human oxalosis. Thereby the fact is confirmed that the cause of oxalosis lies in an increased blood level of oxalic acid.

Literatur

Es werden hier nur diejenigen Arbeiten angeführt, welche nicht bereits im Literaturverzeichnis zum I. Teil enthalten sind.

ALLEN, A. C.: *The Kidney*. New York: Grune & Stratton 1951.

ANDRUS, S. B., S. N. GERSHOFF, F. F. FARAGALLA and E. L. PRIEN: Production of calcium oxalate renal calculi in vitamin B₆-deficient rats. *Lab. Invest.* **9**, 7 (1960).

ARNOTT, W. M., and R. J. KELLAR: Hypertension associated with experimental oxalate nephritis. *Brit. J. exp. Path.* **16**, 265 (1935).

BAUMANN, U.: Histologische, blutchemische und elektrophoretische Untersuchungen über die Masuginephritis der Ratte bei gleichzeitiger bakterieller Infektion. *Schweiz. Z. Path.* **22**, 789 (1959).

BERMAN, L. B., G. E. SCHREINER and J. FEYS: The nephrotoxic lesion of ethylene glykol. *Ann. intern. Med.* **46**, 611 (1957).

CHIRAY, M., L. JUSTIN, G. ALBOT et J. DIERYCK: Aspects histologiques de la lithiase oxalique expérimentale par l'éthylène glycol. *Ann. anat. path.* **16**, 393 (1939).

CHRISTIAENS, L., A. et M. MARCHAND-ALPHANT, M. DELECOUR et G. FONTAINE: Hépatonéphrites toxiques professionnelles. *Rev. int. Hépat.* **3**, 707 (1953).

DOERR, W.: Pathologische Anatomie der Kleesalzvergiftung und des Alloxandibetes. S.-B. Heidelb. Akad. Wiss. **1949**, 245.

DUNN, J. S., A. HAWORTH and N. A. JONES: The pathology of oxalate nephritis. *J. Path. Bact.* **27**, 299 (1924).

EBSTEIN, W., u. A. NICOLAÏER: Über die Wirkung der Oxalsäure und einiger ihrer Derivate auf die Nieren. *Virchows Arch. path. Anat.* **148**, 366 (1897).

FAHR, TH.: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie* (Henke-Lubarsch), Bd. 6/1, S. 221. Berlin: Springer 1925.

GOUGH, J.: Mitochondrial changes in experimental oxalate and uranium nephritis. *J. Path. Bact.* **34**, 423 (1931).

ISLER, U. M.: Die Nierenveränderungen bei der chronischen Schwefelkohlenstoffvergiftung der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **128**, 314 (1957).

JODLBAUER, A.: Der Kalkverlust im Blute bei Vergiftungen mit Oxalaten und Fluoriden. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **164**, 464 (1932).

KRÜGER, R.: Über die Nierenveränderungen bei Vergiftungen mit Oxalsäure und oxalsaurem Kalium. *Virchows Arch. path. Anat.* **215**, 444 (1914).

MACKENZIE, C. G., and E. V. MCCOLLUM: Some effects of dietary oxalate on the rat. *Amer. J. Hyg.* **25**, 1 (1937).

ORZECZOWSKI, G., P. GÖMÖRI u. M. HUNDRIESER: Das Schicksal verfütterter Oxalsäure im Organismus des Hundes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **178**, 739 (1935).

PETRI, E.: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie* (Henke-Lubarsch), Bd. 10, S. 232. Berlin: Springer 1930.

ROSS, I. P.: Ethylene glykol poisoning with meningoencephalitis and anuria. *Brit. med. J.* **1956 I**, 1340.

SMITH, D. E.: Morphologie lesions due to acute and subacute poisoning with antifreeze (Ethylene glykol). *Arch. Path. (Chicago)* **51**, 423 (1951).

STUDER, A., G. ZBINDEN, K. SCHÄRER u. B. FUST: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der interstitiellen Nephritis bei Mißbrauch phenacethinhaltiger Schmerzmittel. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **14**, 154 (1958).

SUZUKI, S.: Zur Morphologie der Nierensekretion unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Jena: Gustav Fischer 1912. Zit. bei FAHR.

TÖBBEN, H.: Zur Frage der Nierenschädigung bei Oxalsäurevergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **302**, 246 (1938).

ZOLLINGER, H. U.: *Die interstitielle Nephritis*. Basel: S. Karger 1945.

Dr. FELIX LARGIADÈR, Pathologisches Institut
Kantonsspital, St. Gallen/Schweiz