

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Erfurt
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. H. GÜTHERT)

Zum topochemischen Quecksilbernachweis in der Niere bei experimenteller Sublimatvergiftung

Von

W. WÖCKEL, H.-E. STEGNER und W. JÄNISCH

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Juni 1961)

Die Wirkungsweise des Quecksilbers bei der Entstehung der Sublimatnephrose ist auch heute noch umstritten. Durch zeitlich abgestufte histotopochemische Untersuchungen mittels der Sulfidsilbermethode von TIMM (1, 2), die an den Nieren sublimatvergifteter Ratten durchgeführt wurden, haben wir versucht, Einblicke in den dynamischen Ablauf der Quecksilberausscheidung bzw. -speicherung zu gewinnen.

Material und Methode

Als Versuchstiere verwendeten wir Albinoratten beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 170—340 g. Sie erhielten pro 100 g Körpergewicht 0,3 ml einer 1%igen Sublimatlösung = 0,3 mg $HgCl_2$ intraperitoneal. Je zwei bis drei Tiere wurden durch Nackenschlag getötet nach 5, 10, 15, 30, 35, 60 und 90 min sowie nach 2, 3, 12, 24 und 48 Std. Die unmittelbar danach entnommenen Organteile wurden in H_2S -gesättigtem Alkohol fixiert und in Paraffin eingebettet. Von den Nieren wurden etwa 5 μ dicke Schnitte hergestellt, physikalisch entwickelt (etwa 30 min) und mit Kernechtrot gegengefärbt (zur Methode siehe STEGNER und FISCHER). Die von TIMM und ARNOLD sowie STEGNER und FISCHER angegebenen Möglichkeiten zur selektiven Erfassung eines bestimmten Metalles haben wir bei unseren Untersuchungen außer acht gelassen, da erfahrungsgemäß die mit der Sulfidsilbermethode in normalen Rattenieren nachweisbaren Schwermetalle so spärlich sind, daß sie hier vernachlässigt werden können.

Ergebnisse

Bereits nach 5 min zeigen sich in der Niere die ersten Veränderungen, und zwar im Interstitium, besonders an der Markrindengrenze und in der Marksubstanz. Man sieht eine der Quecksilberablagerung entsprechende feinkörnige, schwärzliche Pigmentierung zahlreicher Zellen, wobei es sich überwiegend um Capillarendothelien handeln dürfte (Abb. 1). Diese Veränderungen sind auch im weiteren Verlaufe nachweisbar, jedoch in unterschiedlicher Menge. Nach 10 min kommen zu den beschriebenen Quecksilberablagerungen weitere hinzu, und zwar im Bereich der Glomeruli und der Tubuli. Dabei sind die kapselnahen Anteile bevorzugt. In den Tubuli, d. h. in den proximalen Abschnitten der Hauptstücke, sind die Ablagerungen in Form eines lumennahen Saumes zu erkennen (Abb. 2).

Nach 15 min hat sich das Bild nicht nennenswert geändert. Nach 30 min sind die Quecksilberablagerungen in größeren Abschnitten der Hauptstücke nachzuweisen. Dabei herrscht wieder der lumennahe Saum vor. Stellenweise macht sich jedoch außerdem eine stäbchenartige radiäre Strukturierung der Hauptstückepithelien bemerkbar (Abb. 3). Die Glomeruli weisen ebenfalls wieder eine feinkörnige Pigmentierung auf. Nach 60 min (Abb. 4) tritt die bereits erwähnte

feinstreifige Struktur der Hauptstückepithelien besonders deutlich hervor. Die lumennahen Anteile sind aber weiterhin stärker beteiligt. Nach 3 Std beginnen sich die Zellstrukturen bereits aufzulösen. Manche Epithelien sind schon nekrotisch und abgestoßen. Neben der intraepithelialen Ablagerung, die nicht mehr so geordnet erscheint, kommt jetzt z. T. die Basalmembran der Hauptstücke infolge Quecksilberablagerung zur Darstellung. Nach 12, 24 und 48 Std sind die

Bilder weitgehend gleich. Anstelle der Hauptstückepithelien sieht man jetzt nur noch intensiv schwarz pigmentierte Klumpen und schollige Massen.

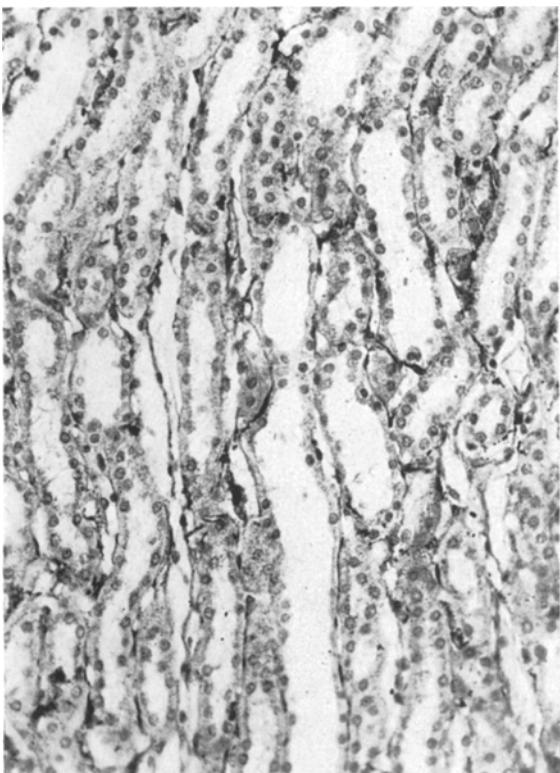


Abb. 1. Rattenniere. Sublimatvergiftung (10 min nach intraperitonealer Verabfolgung). Physische Entwicklung, Kern-echtrot. Hg-Ablagerungen am Capillarufer, vorwiegend in Capillarendothelien. Vergr. 280:1

darunter auch in der Niere, abgefangen wird, ohne daß gröbere morphologische Veränderungen dieser Zellen auftreten. Zu diesen Fragen sind jedoch weitere Untersuchungen erforderlich. Über das endgültige Schicksal des hier abgelagerten Quecksilbers können wir keine Aussage machen. Bemerkenswert ist aber, daß gerade in späteren Stadien die Menge der dargestellten Quecksilberablagerungen sehr unterschiedlich ist. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß das Sulfid-silberverfahren keine quantitative Methode darstellt.

Wenig später als im Interstitium tritt auch in den Glomeruli Quecksilber auf. Wahrscheinlich sind es auch hier Capillarendothelien und Epicyten, die das Metall enthalten. REBER fand ebenfalls geringe Quecksilbermengen in den Glomeruluscapillaren. Nach VOIGT ist es außer in den Capillarwandungen besonders in der Bowmanschen Kapsel lokalisiert. Diesen letzten Befund können wir nicht

Besprechung

Die ersten in der Niere nachweisbaren Quecksilberablagerungen finden sich nicht am glomerulären oder tubulären System, sondern im Interstitium. Sie betreffen Capillarendothelien im Bereich des Markes und der Markrindengrenze. Welche Zellen das von REBER in sehr geringer Menge im Markgebiet dargestellte Sublimat enthalten, ist nicht zu erkennen. VOIGT wies es in den Kupfferschen Sternzellen der Leber nach, erwähnt aber nichts von den interstitiellen Nierencapillaren. Es ist zu vermuten, daß ein kleiner Teil des Quecksilbers am Capillarufer verschiedener Organe,

bestätigen, jedoch ist zu bedenken, daß VOIGT seine Untersuchungen nicht an der Ratte, sondern am Goldhamster vornahm. Zur gleichen Zeit wie in den Glomeruli sind auch die ersten Quecksilberablagerungen im tubulären System nachzuweisen. Sie treten in Form eines feinen lumennahen Saumes auf, der allmählich deutlicher sichtbar wird. Ähnliche Befunde erhob auch REBER. Zunächst sind die glomerulusnahen Anteile der Hauptstücke beteiligt, was VOIGT gleichfalls erwähnt, doch werden bald auch seine übrigen Abschnitte betroffen. In Übereinstimmung mit VOIGT ist jedoch festzustellen, daß nicht alle Nephrone beteiligt sind, sondern zu mindest einzelne frei von Quecksilberablagerungen bleiben.

Im weiteren Verlauf zeigt sich neben dem lumennahen Saum eine stäbchenartige radiäre Strukturierung der basalen Abschnitte der Hauptstückepithelien. Derartige feinstreifige Veränderungen der basalen Teile dieser Zellen erwähnen auch TIMM und ARNOLD. REBER vertrat hingegen die Meinung, daß solche Befunde bei der Sublimatvergiftung kaum zu beobachten sind. Er erklärt es damit, daß die betreffenden Epithelien mit zunehmender Speicherung der Vergiftung erliegen und ihre (Speicher-)Funktion einstellen. Der Nachweis derartiger Veränderungen scheint

jedoch vielmehr eine Frage der Methodik zu sein. Wir stimmen mit TIMM und ARNOLD überein, daß diese Form der Quecksilberablagerung bei der Sublimatvergiftung in engem Zusammenhang mit den Mitochondrien steht, worauf einer von uns (WÖCKEL) bereits hingewiesen hat. Nach TIMM und ARNOLD werden die Basalstäbchen gleichsam vitalimprägniert. Die Bedeutung des Mitochondriensystems der Tubulusepithelien für die Speicherung bestimmter Substanzen steht außer Zweifel. Die in Übereinstimmung mit REBER sowie TIMM und ARNOLD geäußerte Vermutung, daß auch die Quecksilberspeicherung in enger Beziehung zu den Mitochondrien steht, wird durch andere Untersuchungen gestützt. Die Lokalisation des Quecksilbers in der Niere entspricht nach REBER weitgehend der anderer Speichersubstanzen wie verschiedener

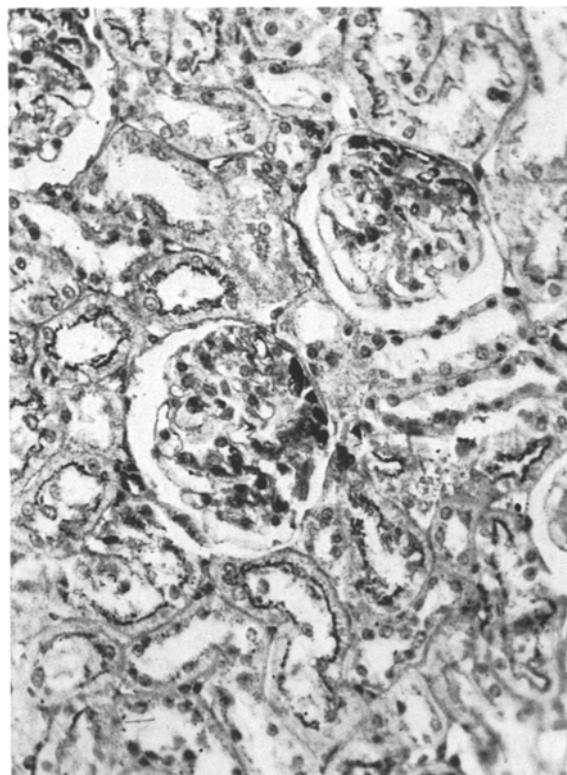


Abb. 2. Ratteniere. Sublimatvergiftung (10 min nach intraperitonealer Verabfolgung). Physikalische Entwicklung, Kern-echtrot. Hg-Ablagerungen im glomerulären Apparat sowie in Form eines lumennahen Saumes im Bereich der Tubulusepithelien. Vergr. 350:1

Farbstoffe, Hämoglobin und Rohrzucker. Außerdem wird im Experiment durch Blockierung der Speicherfunktion der Niere, z. B. durch Rohrzucker, die Toxicität von Sublimat herabgesetzt (REBER). Zudem fanden MOORE, GOLDSTEIN und CANOWITZ bei Sublimatvergiftung Mitochondrienveränderungen, und zwar zunächst eine perinucleäre Anordnung dieser Zellbestandteile, der dann eine fortschreitende Agglutination und Fragmentierung folgt.

Während die feinstreifige Struktur der Hauptstückepithelien mit beginnendem Zerfall der Zellen einer ungeordneten Quecksilberablagerung weicht und die nekrotischen Epithelien nur noch intensiv schwarz pigmentierte Schollen darstellen, wie sie auch VOIGT beschreibt, tritt gleichzeitig damit die Basalmembran mancher Harnkanälchen durch Quecksilberimprägnation deutlich in Erscheinung.

Daß bereits innerhalb der ersten Stunde nach Verabfolgung des Sublimates Quecksilber in den Tubulusepithelien nachzuweisen ist, läßt sich gut in Einklang bringen mit den histoenzymatischen Untersuchungen BRUNCKS. Bereits nach 10 min fand er bei der Darstellung der Carbonathydratase charakteristische Veränderungen des Bürstensaumes, d. h. an der Stelle, wo nach unseren Befunden auch das Quecksilber



Abb. 3. Ratteniere. Sublimatvergiftung (30 min nach intraperitonealer Verabfolgung). Physikalische Entwicklung, Kernechtrot. Stäbchenartig angeordnete Hg-Ablagerungen in den basalen Anteilen der Tubulusepithelien. Imprägnierung der Basalmembran. Vergr. 350:1

im tubulären System zuerst auftritt. Bezüglich der Phosphataseaktivität sind die Ergebnisse bei der Sublimatvergiftung hingegen unterschiedlich. Während STAEMMLER (1, 2) auch bei schweren morphologischen Nierenveränderungen keine Änderung der Enzymaktivität feststellen konnte, fanden SACHS und DULSKAS bei Eintritt des Todes 7 Std nach Verabfolgung hoher Sublimatdosen eine Abschwächung der alkalischen Phosphatase am Bürstensaum. LAPP und SCHAFÉ beobachteten nur eine geringgradig abgeschwächte Phosphatase- und eine etwas stärker herabgesetzte Succinodehydrogenaseaktivität der Tubulusepithelien, während die aus nekrotischen Hauptstückepithelien bestehenden Zellzyliner eine unvermindert positive Phosphatasereaktion gaben.

Wenn es auch bereits mit anderen Methoden gelang, bei Sublimatvergiftungen Quecksilber in der Niere nachzuweisen [BERGSTRAND, FRIBERG u. ODEBLAD; LIPPMAN, FINKLE und GILLETTE; NEUMANN; REBER; STAEMMLER (1, 2)], so erlaubt doch das Sulfidsilberverfahren tiefere Einblicke und gestattet zudem, durch ein zeitlich abgestuftes Vorgehen die verschiedenen Phasen der Quecksilberausscheidung und -speicherung zu verfolgen. Aus diesen einzelnen morphologischen Zustandsbildern sind zwar nur mit Vorbehalt Rückschlüsse auf das funktionell-dynamische Geschehen erlaubt. Eine zwanglose Deutung unserer Befunde ergibt sich, wenn man annimmt, daß zunächst ein geringer Teil des Quecksilbers am Capillarufer der Niere abgefangen wird, während weiterhin eine Ausscheidung durch die Glomeruli mit nachfolgender Rückresorption durch die Hauptstückepithelien stattfindet. Dabei schreitet die Quecksilberspeicherung im Tubulusepithel vom Lumen zur Basis hin fort und führt schließlich nach Überschreiten einer gewissen Konzentration zur völligen Zellnekrose. Das primäre Auftreten von Quecksilber im Glomerulusapparat und das Sichtbarwerden einer intracellulären Transportrichtung im sukzessiven Nachweis von erst apikalen und später basalen Ablagerungen in den Tubulusepithelien machen in hohem Maße wahrscheinlich, daß zumindest ein wesentlicher Teil des Quecksilbers über den Glomerulus ausgeschieden und aus dem Filtrat rückresorbiert wird. Diese Ansicht wurde schon von KOSUGI vertreten. Dafür spricht auch, daß die Ligatur des Ureters durch weitgehende Herabsetzung der glomerulären Filtration die Niere eindeutig gegen die Giftwirkung des Sublimates zu schützen vermag [ELBE; STAEMMLER (1, 2)]. Es bleibt jedoch offen, ob es sich bei dem skizzierten Ablauf, den wir nach unseren Befunden annehmen, um substratgebundene gesetzmäßige Transportwege und -richtungen handelt. Es ist denkbar, daß die Höhe des Quecksilberspiegels im arteriellen Schenkel den Eliminationsmodus grundsätzlich beeinflußt, insbesondere wenn die Quecksilberbindungskapazität der Bluteiweiße durch unphysiologisch große Metallangebote überfordert ist. Niedrige Konzentrationen

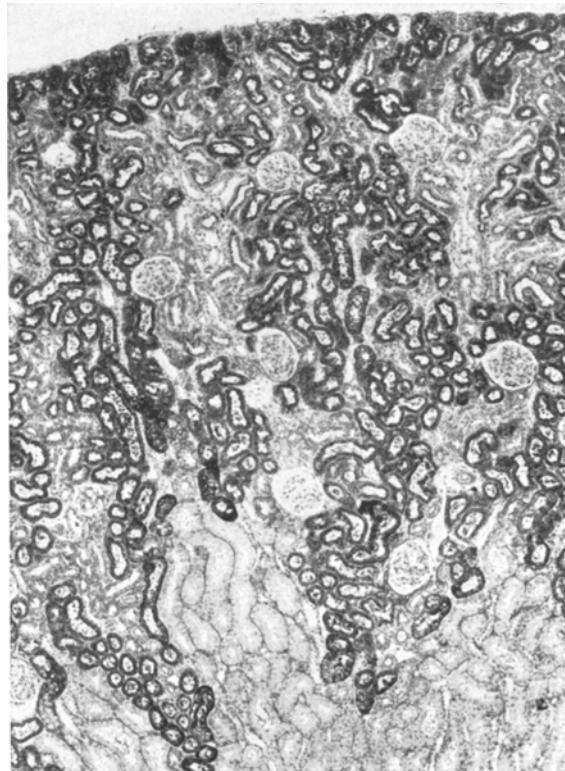


Abb. 4. Ratteniere. Sublimatvergiftung (60 min nach intraperitonealer Verabfolgung). Physikalische Entwicklung, Kernechtrot. Starke Hg-Ablagerung in den Hauptstücken zahlreicher Nephrone. Vergr. 60:1

(Quecksilberdiuretica in therapeutischen Dosen) führen möglicherweise durch hohe Proteinbindung zu sehr geringer oder zu gar keiner glomerulären Quecksilberfiltration, so daß nach BORGHGRAEF et al. die weitaus größte Menge des im Urin nachweisbaren Quecksilbers das Ergebnis tubulären Sekretion ist.

Obwohl mit unseren Befunden ein weiterer Beweis dafür erbracht wird, daß im Experiment die Sublimatnephrose durch direkte toxische Wirkung des Quecksilbers auf die Tubulusepithelien entsteht, so braucht dennoch die Nierenschädigung bei der Sublimatvergiftung des Menschen nicht unbedingt auf die gleiche Weise zustande zu kommen. Um dies zu beweisen, sind analoge Untersuchungen an menschlichen Nieren bei Sublimatvergiftungen erforderlich.

Zusammenfassung

Die Nieren von Ratten, die mit Sublimat (0,3 mg pro 100 g Körpergewicht) intraperitoneal vergiftet worden waren, wurden in zeitlicher Abstufung (zwischen 5 min und 48 Std nach der Injektion) mit dem Sulfidsilberverfahren untersucht. Die ersten Hg-Ablagerungen finden sich in den Endothelien interstitieller Capillaren, dann im glomerulären Apparat. Schließlich wird das Quecksilber in den Epithelien der Hauptstücke nachgewiesen, wobei die Ablagerung, die apikal beginnt und nach der Zellbasis fortschreitet, im Zusammenhang mit den basal angeordneten Mitochondrien steht. Auf Grund der Befunde wird die Ansicht vertreten, daß zumindest der wesentliche Teil des Quecksilbers über den Glomerulus ausgeschieden und aus dem Filtrat rückresorbiert wird. Die Untersuchungen sind ein weiterer Beweis dafür, daß im Experiment die Sublimatnephrose durch direkte toxische Wirkung des Quecksilbers auf die Tubulusepithelien entsteht.

Summary

Rats were poisoned by intraperitoneal mercuric chloride (0.3 mgm/100 gm body weight). Their kidneys were examined at intervals (from 5 minutes to 48 hrs. after injection) with the silver sulfide technic. The first deposits of mercury were found in the endothelial cells of the interstitial capillaries, then in the glomerular tufts. Finally, the mercury was disclosed within the epithelium of the proximal tubule, whereby the deposits, beginning apically and progressing towards the base of the cell, were in association with the basally situated mitochondria. On the basis of the findings it is postulated, that at least the essential part of the mercury is filtered through the glomerulus and re-absorbed from the filtrate. The studies indicate further, that experimentally the mercuric chloride nephrosis probably develops by direct toxic action of the mercury on the tubular epithelium.

Literatur

- BERGSTRAND, A., L. FRIBERG and E. ODEBLAD: Localization of mercury in the kidneys after subcutaneous administration. A study on rabbits with mercuric chloride and phenylmercuric acetate. Arch. industr. Health **17**, 253 (1958). Ref. Ber. Path. **39**, 231 (1958).
- BORGHGRAEF, R. R. M., R. H. KESSLER, R. F. PITTS, M. E. PARKS, W. VAN WOERT and M. B. MACLEAD: Plasma regression distribution and excretion of radiomercury in relation to diuresis following the intravenous administration of Hg^{203} labelled chlormerodrin to the dog. J. clin. Invest. **35**, 1055 (1956).
- BRUNCK, H. J.: Histoenzymatische Veränderungen bei tubulären Nierenschäden. Zbl. allg. Path. path. Anat. **102**, 107 (1961).

- ELBE, A.: Die Nieren- und Darmveränderungen bei der Sublimatvergiftung des Kaninchens in ihrer Abhängigkeit vom Gefäßnervensystem. *Virchows Arch. path. Anat.* **182**, 445 (1905).
- KOSUGI, T.: Beiträge zur Morphologie der Nierenfunktion. *Beitr. path. Anat.* **77**, 1 (1927).
- LAPP, H., u. K. SCHAFÉ: Morphologische, histochemische und Speicherungs-Untersuchungen über den Verlauf der Sublimatnephrose bei der Ratte. *Beitr. path. Anat.* **123**, 77 (1960).
- LIPPMAN, W., R. D. FINKLE and D. GILLETT: Effect of proteinuria on localization of radio-mercury in rat kidney. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **77**, 68 (1951).
- MOORE, R. A., S. GOLDSTEIN and A. CANOWITZ: *Arch. Path. (Chicago)* **8**, 930 (1929). Zit. nach REBER.
- NEUMANN, K.-H.: Röntgenhistospektroskopische Untersuchungen über die Verteilung und Ausscheidung von Schwermetallen in der Niere. *Verh. Anat. Ges.* **54**. Verslg. 1957, 216.
- REBER, K.: Blockierung der Speicherfunktion der Niere als Schutz bei Sublimatvergiftung. *Schweiz. Z. Path.* **16**, 755 (1953).
- SACHS, H. W., u. A. DULSKAS: Die alkalische Phosphatase der Niere bei einigen Vergiftungen. *Virchows Arch. path. Anat.* **329**, 466 (1956).
- STAEMMLER, M.: (1) Die akuten Nephrosen. 1. Mitt.: Die Sublimatnephrose. *Virchows Arch. path. Anat.* **328**, 1 (1956).
— (2) Die Harnorgane. In E. KAUFMANN, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 11. u. 12. Aufl., Bd. II/1. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1957.
- STEGNER, H.-E., u. W. FISCHER: Das Sulfidsilberverfahren zum topochemischen Schwermetallnachweis. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 608 (1957).
- TIMM, F.: (1) Zellmikrochemie der Schwermetallgifte. *Habil.-Schr. Leipzig* 1932.
— (2) Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfidsilberverfahren. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **46**, 706 (1957/58).
—, u. M. ARNOLD: Der celluläre Verbleib kleiner Quecksilbermengen in der Rattenniere. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **239**, 393 (1960).
- VOIGT, G. E.: Histochemische Untersuchungen über die Verteilung des Quecksilbers bei experimenteller Sublimatvergiftung. *Acta path. microbiol. scand.* **43**, 321 (1958).
- WÖCKEL, W.: Zum Quecksilbernachweis bei der experimentellen Sublimatvergiftung. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **102**, 107 (1961).

Dr. W. WÖCKEL

Pathologisches Institut der Med. Akademie Erfurt, Nordhäuser Str. 74