

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Universitätsinstitut in Debrecen, Ungarn
(Vorstand: Prof. Dr. P. ENDES)

Experimentelle Beeinflussung der granulierten Zellen des juxtaglomerulären Apparates durch Heminephrektomie und bilaterale Ureterligatur

Von

P. ENDES, I. DÉVÉNYI und Sz. GOMBA

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. März 1962)

Vom juxtaglomerulären Apparat der Niere wurden am häufigsten die in der Wandung der afferenten Arteriole liegenden Zellen epitheloiden Charakters, die juxtaglomerulären granulierten Zellen (JGZ), untersucht; deren Cytoplasma sich nach bestimmten Methoden intensiv färbende Granula enthält.

Nach den Untersuchungen von DUNIHUE und ROBERTSON, HARTROFT und HARTROFT (1953, 1955) u. a. ist es bekannt, daß Hyperplasie und Hypergranulation dieses Zellsystems dem Natriumspiegel des Serums sowie der Breite der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde umgekehrt proportional sind. Der Zusammenhang zwischen der Zahl der granulierten Zellen und der Höhe des Blutdruckes wurde in den letzten Jahren von GROSS u. Mitarb., HARTROFT (1957), TOBIAN u. Mitarb. (1958), sowie BOHLE u. Mitarb. untersucht. Nach ihren Feststellungen wächst die Zahl und verstärkt sich die Granulation dieser Zellen in der ischämischen Niere, wogegen bei Hypertonie ihre Degranulierung erfolgt. Es wurde festgestellt, daß die Menge des aus der Niere extrahierbaren Pressor-Stoffes der Zahl der granulierten Zellen proportional ist, und durch Anwendung von mit einem fluorescenz-farbstoffmarkierten Antirenins hat man eine Stütze der von GOORMAGHTIGH bereits 1939 geäußerten Ansicht geliefert, wonach die Granula dieser Zellen mit dem Pressor-Stoff der Niere, mit dem Renin, identisch sind.

I.

In der Literatur über diese Zellen fanden wir Angaben, wonach die Zahl derselben nach *einseitiger Nephrektomie* in der zurückbleibenden Niere keine Änderung erfährt (TOBIAN u. Mitarb. 1958). Abweichende quantitative Daten wurden nur von TVERDY mitgeteilt, der das Verhalten der granulierten Zellen nach halbseitiger Nephrektomie an 17 Albinomäusen untersuchte. Die verbliebenen Nieren wurden hauptsächlich 28—32 Tage nach der Heminephrektomie verarbeitet; TVERDY fand im Vergleich zu den operativ entfernten Nieren in 75% derselben eine wesentliche Vermehrung der Granulierung. Wir haben an Albinoratten zu verschiedenen Zeitpunkten nach der einseitigen Nephrektomie die JGZ untersucht, um die Frage zu klären, ob auch unmittelbar nach dem Eingriff eine Veränderung der granulierten Zellen zu sehen ist.

Wir haben nebst 76 Kontrollen die Nieren von 59 operierten, an gemischter Kost gehaltenen Tieren verarbeitet. Von den beiden Nieren wurden je Tier im Durchschnitt 900 Glomeruli untersucht; wir haben sowohl die prozentuale Frequenz der granulierten Zellgruppen berechnet, wie nach der Methode HARTROFTs auch den Grad ihrer Granuliertheit berücksichtigt und den sog. juxtaglomerulären Zell-Index bestimmt (HARTROFT und HARTROFT 1953). Zur Darstellung der granulierten Zellen wurde unsere kombinierte Trichromfärbung herangezogen, welche die Granula in blauer bzw. bläulich-violetter Farbe elektiv aufscheinen läßt (ENDES). In leichter Äthernarkose wurde in einem nur wenige Minuten dauernden Ein-

griff jeweils die linke Niere entfernt. Der Index der zurückgelassenen rechten Niere wurde immer mit dem Index der operativ entfernten linken Niere verglichen, nach der Formel: $\frac{\text{JGZ der rechten Niere}}{\text{JGZ der linken Niere}} \times 100$. Die Untersuchung der rechten Niere erfolgte zwischen der 6. Std und dem 180. Tag nach der Operation; zu jedem einzelnen Zeitpunkt wurden Gruppen von 3—12 Tieren verarbeitet.

Zur Wertung der gewonnenen Zahlendaten mußten zu allererst zwei Momente geklärt werden. In erster Linie, ob bei der Albinoratte normalerweise ein Unterschied zwischen dem Granulationsindex der linken und rechten Niere besteht. Bei den Kontrolltieren fanden wir im allgemeinen einen höheren Indexwert in der linken Niere; im Durchschnitt ist der Index der rechten Niere um 4,6% geringer als der linken. Daher haben wir in unserer Abb. 1 als Vergleichsbasis nicht den 100%-Wert, sondern den 95,4%-Wert gewählt.

Es war weiterhin zu klären, ob die JGZ durch die Narkose und den operativen Eingriff eine Änderung erleiden. Wir haben daher bei sieben Tieren die linke Niere freipräpariert, aber an Ort und Stelle unberührt zurückgelassen und die Operationswunde wieder verschlossen. 24 Std nach dem Eingriff war die Indexzahl bei fünf Tieren in der linken, bei zwei in der rechten Niere größer. Der Unterschied zugunsten der linken Niere beträgt im Mittel 6,2%. Dieser Wert weicht nicht wesentlich von dem bei den Kontrollen gefundenen ab. Narkose und operativer Eingriff scheinen also keinen Einfluß auf den JGZ-Index zu haben.

Die Daten der nephrektomierten Tiere sind in Abb. 1 zu sehen. Auf der Abszisse ist die Zeitspanne zwischen Operation und Tötung der Tiere eingetragen. In der Ordinate sind die Indexwerte der rechten Niere als Ringe eingetragen. Die Werte entsprechen Prozenten der in der linken Niere gefundenen Zahlen. Die Durchschnittswerte einer Tiergruppe sind mit \times gekennzeichnet; miteinander durch eine unterbrochene Linie verbunden.

6, 12 und 24 Std nach der linksseitigen Nephrektomie fanden wir in der rechten Niere durchschnittliche Indexwerte von 41,6, 55,1 bzw. 64,6%, also eine wesentliche Abnahme. 7, 15 und 30 Tage nach der linksseitigen Nephrektomie sind die Indices der zurückgebliebenen rechten Niere 111,0, 128,5 bzw. 111,9% also erhöht, nach 60, 90 bzw. 180 Tagen waren sie wiederum auf 90,8, 69,2 und 49,5% abgefallen. Diese Abnahme kann nicht mehr als eine physiologische Reaktion angesehen werden. Vom 30. Tage an sind nämlich in der zurückbleibenden Niere immer schwerer werdende pathologische Veränderungen wahrzunehmen. Sie bestehen in einer graduellen Verdickung der Schlingenmembran, in einer

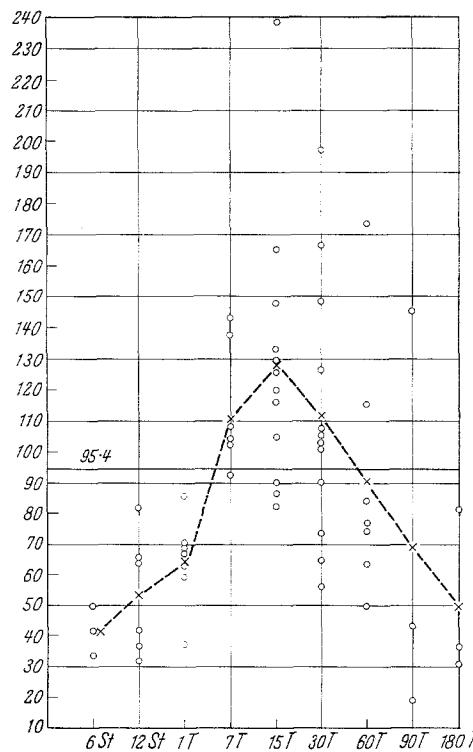


Abb. 1. Abszisse: Zeit in Stunden bzw. Tagen nach der Heminephrektomie. Die Indexwerte der rechten Niere der einzelnen Tiere sind als \circ eingetragen; die Werte sind als Prozente des in der linken Niere gefundenen Indexes ausgedrückt. Der durchschnittliche Indexwert einer Tiergruppe ist mit \times gekennzeichnet. Unterbrochene Linie zeigt den Verlauf der Indexänderungen während der Versuchsperiode

Lobulation des Glomerulum, in einer auf Proteinurie hinweisenden hyalintropfigen Veränderung der tubulären Epithelzellen und in einer hyalinen Verdickung der Arteriolen. In Ermangelung entzündlicher Phänomene sind diese Veränderungen als Glomerulosklerose — wahrscheinlich hypertonischen Ursprungs — zu werten. Bekanntlich entsteht bei der Ratte nach der Heminephrektomie in einem beträchtlichen Prozentsatz der Tiere eine Hypertonie (GROLLMAN und HALPERT, KOLETSKY und GOODSITT). Bei diesen Versuchen erhielten die Tiere nicht die Larsensche Standarddiät, sondern eine verhältnismäßig salzreichere Kost. Es ist aber aus zahlreichen Experimenten bekannt, daß eine salzreiche Diät sowie Hypertonie in gleicher Weise die Granulation der JGZ verringern.

Die kurze Zeit (6—24 Std) nach der Nephrektomie beobachtete Indexabnahme kann auf den gesteigerten Blutdruck zurückgeführt werden; in diesem Sinne sind wohl auch die Perfusionsversuche von TOBIAN u. Mitarb. (1959) zu deuten. Es ist aber auch möglich, daß unter diesen Umständen der hormonartige Stoff der granulierten Zellen vom Organismus vermehrt verbraucht wird. Unseres Erachtens würde der nachfolgende kompensatorische Indexanstieg noch länger anhalten und sich verstärken, wenn dies nicht durch die eingetretene Hypertonie verhindert worden wäre.

II.

Der Effekt der *einseitigen Ureterligatur* auf die juxtaglomerulären Zellen wurde an Ratten von PH. M. HARTROFT (1957) untersucht. Am 24. Tag nach der Ureterligatur fand sie eine hochgradige Hydronephrose; die granulierten Zellen waren erhalten geblieben; auch der ihren Granulationsgrad ausdrückende Indexwert war 21, also gleich den an Kontrollen festgestellten Werten. In der kontralateralen Niere sank indessen der Indexwert auf 4; zugleich stieg der Blutdruck der Tiere auf 118 mm Hg — im Gegensatz zu 98 mm Hg Blutdruck der Kontrollen. HOLLE und SCHNEIDER haben am Meerschweinchen nach einseitiger Ureterligatur in der Niere nach anfänglichem Spasmus der Gefäße das Wiedereinsetzen der Zirkulation und eine nach 1—2 Wochen einsetzende Rindenischämie und Markzirkulation beobachtet. Wir haben nun das Verhalten der granulierten Zellen im akuten Versuch nach beidseitiger Ureterligatur untersucht.

Aus je sechs Tieren bestehende Gruppen von Wistar-Ratten wurden in den Versuch genommen. Färbung und Wertung wie vorgehend. Die Tiere der ersten Versuchsserie wurden mit der Larsenschen Standarddiät verköstigt; um die Harnproduktion und den mechanischen Effekt der Harnstauung zu verringern, wurde den Tieren in der Versuchsperiode und in den dieser vorangehenden letzten 2 Wochen gesondert kein Trinkwasser gegeben. Der Durchschnittswert des Index beträgt an sechs unter gleichen Bedingungen gehaltenen Kontrolltieren 34,5. 12 Std nach der bilateralen Ureterligatur fanden wir bei sechs Tieren einen Durchschnittswert von 12,7; nach 24 Std jedoch nur mehr 6,4. Den niedrigsten Wert fanden wir an den 48 Std nach der Ligatur getöteten Tieren mit 5,3.

Wir hielten es für angebracht, den Versuch an Tieren zu wiederholen, die zur Larsen-Diät Wasser ad libitum zu sich nehmen konnten, wobei wir nur eine Versuchsgruppe mit sechs Tieren eingestellt haben, die nach 48 Std getötet wurden. Der Durchschnittswert des Index war an 12 unter gleichen Bedingungen gehaltenen Kontrollen 21,2, an den Versuchstieren hingegen 13,1. Die Verringerung des Indexwertes war also geringer, aber dennoch recht deutlich ausgeprägt (Abb. 2).

Der Zusammenhang der Verringerung des Indexwertes mit der Harnleiterunterbindung geht aus den in der Tabelle nicht angeführten Fällen hervor, in welchen nach Spontanlösung der Abbindung der Ureter auf der einen Seite bzw.

an beiden Seiten wieder durchgängig geworden ist. Nach mißlungener Ureterligatur haben wir an keinem Tier gleich niedrige Werte gefunden wie an Tieren mit abgebundenen Harnleitern.

Den Blutdruck der Tiere vor und nach der Operation konnten wir nur in den beiden 48 Std-Versuchen registrieren, an insgesamt 10 Tieren. Bei keinem war er höher als 100 mm. Nach der Operation trat also keine Blutdruckerhöhung ein — unabhängig davon, ob die Tiere wasserarm ernährt wurden bzw. Wasser ad libitum zu sich nehmen konnten.

Die beidseitige Ureterligatur bewirkt also in der Ratteniere eine bedeutende Verringerung der Zahl der granulierten Zellen und eine Verminderung ihrer

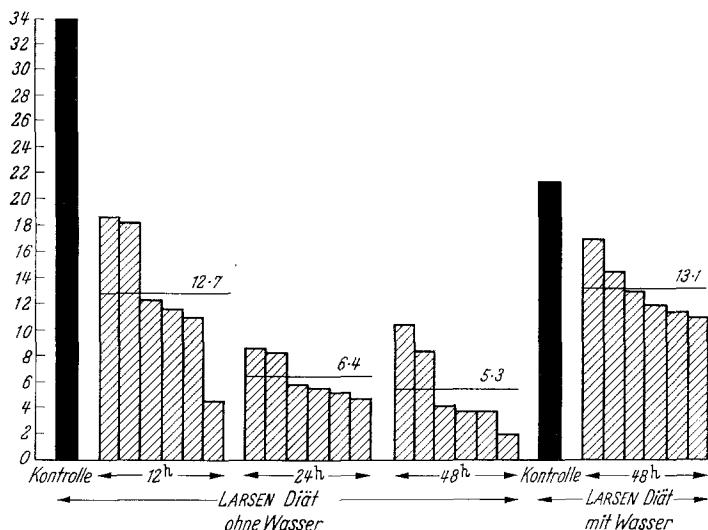


Abb. 2. ■ Durchschnitts-Index der Kontrollgruppen. ▨ Indexwerte der einzelnen Tiere. Horizontale Linien bedeuten Durchschnittswerte der einzelnen Tiergruppen

Granula. Bei Tieren mit wasserarmer Diät ist die Abnahme stark ausgeprägt; nach 48 Std beträgt sie 84,5 %. Aber auch bei unbeschränkter Wasseraufnahme erfolgt eine Abnahme um 38,3 %. Beim Zustandekommen der unterschiedlichen Degranulierung der beiden Gruppen dürfte der differente ADH-Spiegel eine Rolle spielen. Auf Grund der Arbeiten, welche die Substanz der Granula als Renin identifizieren, hätten wir parallel mit der hochgradigen und raschen Degranulierung eine Blutdruckerhöhung erwartet, die aber nicht eingetreten ist. Möglicherweise sind die Granula doch nicht identisch mit dem Renin; möglicherweise ist auch bloß aber die Umwandlung des Reningehaltes der Granula in Hypertensin gehemmt. Dieser Annahme widersprechen aber unsere eigenen Erfahrungen: in der dem Schock folgenden akuten Niereninsuffizienz, wobei ebenfalls Anurie und Urämie bestehen, zeigt sich eine deutliche Vermehrung und Hypergranulation der juxtaglomerulären granulierten Zellen.

Für die Degranulierung möchten wir eher der Änderung der Nierendurchblutung eine wichtige Rolle zuerkennen. Nach Obstruktion des Harnleiters wird die glomeruläre Filtration, wenn auch im verringerten Maße, aber dennoch fortgesetzt (BABICS und RÉNYI-VÁMOS, JANCSÓ, weiterhin GÖMÖRI u. Mitarb.). In unseren Versuchen sprechen die Entstehung der Hydronephrose und die

ausgeprägten Zeichen einer mikroskopischen Nephrohydrose in diesem Sinne. Unter diesen Bedingungen erfolgt die fortlaufende Filtration gegen den enorm erhöhten Stauungsdruck des Urins; dies geht mit einer verstärkten Kontraktion der efferenten Arteriolen einher. Wenn wir uns die Ansicht zu eigen machen, daß die Granula der juxtaglomerulären Zellen einen Pressor-Stoff enthalten, dann müssen wir — in Ermangelung einer Blutdrucksteigerung — einen Zusammenhang zwischen Degranulierung und der Kontraktion der Nierenarteriolen annehmen. Hierfür spricht, daß in unseren Versuchen bei einer Degranulierung um 84,5 bzw. 38,3% die Blutdruckerhöhung nicht eingetreten ist, wogegen die Filtration gegen den erhöhten Urindruck fortgesetzt wurde. Über die Identität der Granula in den juxtaglomerulären Zellen und des Renins geben also unsere Versuche keine eindeutige Auskunft; sie weisen indessen auf die Rolle dieses Zellsystems in der Steuerung der intrarenalen Durchblutung hin.

Zusammenfassung

I. An scheinoperierten, *linksseitig nephrektomierten Albinoratten* und unoperierten Kontrollen wurden die prozentualen Änderungen des juxtaglomerulären Indexwertes der zurückgelassenen rechten Niere — bezogen auf den Index der linken Niere — untersucht. Kurze Zeit nach der Operation (6—24 Std) ist eine Abnahme des Indexes in der rechten Niere zu sehen, welche entweder die Folge einer Erhöhung des intrarenalen Blutdruckes oder des gesteigerten Verbrauches ist. Nach 7—30 Tagen sind in der rechten Niere erhöhte Indexwerte festgestellt worden, die als Zeichen einer kompensatorischen Hypertrophie bzw. Hyperplasie gewertet werden. Nach dem 30. postoperativen Tag erfolgt neuerlich eine Abnahme der Indexwerte bis zum 180. Versuchstag; zugleich entwickeln sich die histologischen Zeichen einer Hypertonie, die offenbar die Ursache der Indexabnahme darstellt.

II. 12, 24 und 48 Std nach *beidseitiger Ureterligatur* wurde an wasserarm ernährten bzw. Wasser ad libitum trinkenden Tieren eine starke zahlenmäßige Abnahme und Degranulierung der granulierten Zellen des juxtaglomerulären Apparates beobachtet, welche von keiner Hypertonie begleitet war. Verfasser nehmen an, daß der in den Granulis enthaltene Stoff in der Steuerung der intrarenalen Durchblutung eine Rolle spielt.

Die Befunde weisen darauf hin, daß die granulierten Zellen des juxtaglomerulären Apparates auch einer in wenigen Stunden manifest werdenden Reaktion fähig sind.

The influence of heminephrectomy and ligation of both ureters on the juxtaglomerular granulated cells

Summary

I. In sham-operated and left-sided nephrectomized albino rats, and in unoperated controls the percentage-change of the juxtaglomerular index of the remaining right kidney — as compared to the index of the left kidney — was investigated. Shortly after the operation (6—24 hours) a decrease of the index in the right kidney was evident. This was either due to a rise of the intrarenal blood pressure or to increased utilization. After 7—30 days in the right kidney increased indices were detectable; these were interpreted as evidence of a compensatory hypertrophy or hyperplasia. After the 30th post-operative day a

decrease in the index occurred lasting to the 180th experimental day. At the same time a hypertension developed apparently representing the cause for the fall in the index.

II. 12, 24, and 48 hours after bilateral ureteral ligation of dehydrate animals and of those with water ad libitum, there was a degranulation of the granular cells of the juxtaglomerular apparatus and a sharp reduction in their number. These changes were not accompanied by hypertension. The authors postulate, that the substance in the granules partakes in the control of the intra-renal blood-flow.

Literatur

- BABICS, A., u. F. RÉNYI-VÁMOS: Das Lymphgefäßsystem der Niere und seine Bedeutung in der Nierenpathologie und Chirurgie. Budapest: Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften 1957.
- BOHLE, A., M. KOHLER u. U. TOMSCHE: Über das Verhalten der epitheloiden Zellen der Vasa afferentia einseitig nephrektomierter Ratten bei renaler Hypertonie durch Einkapselung einer Niere. Beitr. path. Anat. **113**, 414—427 (1953).
- DUNIHUE, F. W., and W. V. B. ROBERTSON: The effect of desoxycorticosterone acetate and of sodium on the juxtaglomerular apparatus. Endocrinology **61**, 293—299 (1957).
- ENDES, P.: Kombinált trichrom festés. Kisér. Orvostud. **6**, 479—481 (1954).
- GÖMÖRI, P., E. LÁNG and L. TAKÁCS-NAGY: Renal function in hydronephrosis. Acta med. Acad. Sci. hung. **13**, 101—109 (1959).
- GOORMAGHTIGH, N.: Existence of an endocrine gland in the media of the renal arterioles. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **42**, 688—689 (1939).
- GROLLMAN, A., and B. HALPERT: Renal lesions in chronic hypertension induced by unilateral nephrectomy in the rat. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **71**, 394—398 (1949).
- GROSS, F., P. LOUSTALOT u. F. SULSER: Die Bedeutung von Kochsalz für den Cortexon-Hochdruck der Ratte und den Gehalt der Nieren an pressorischen Substanzen. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **229**, 381—388 (1956).
- HARTROFT, PH. M., and W. S. HARTROFT: Studies on renal juxtaglomerular cells. I. Variations produced by sodium chloride and desoxycorticosteron-acetate. J. exp. Med. **97**, 415—427 (1953).
- — Studies on renal juxtaglomerular cells. II. Correlation of the degree of granulation of juxtaglomerular cells with width of the zona glomerulosa of the adrenal cortex. J. exp. Med. **102**, 205—212 (1955).
- — Studies on renal juxtaglomerular cells. III. The effects of experimental renal diseases and hypertension in the rat. J. exp. Med. **105**, 501—508 (1957).
- HOLLE, G., u. H. J. SCHNEIDER: Über das Verhalten der Nierengefäße bei einseitiger experimenteller Hydronephrose. Virchows Arch. path. Anat. **334**, 475—488 (1961).
- JANCSÓ, N.: Speicherung. Budapest: Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften 1955.
- KOLETSKY, S., and A. M. GOODSLITT: Natural history and pathogenesis of renal ablation hypertension. Arch. Path. **69**, 654—662 (1960).
- TOBIAN, L., J. THOMPSON, R. TWEDT and J. JANACEK: The granulation of juxtaglomerular cells in renal hypertension, desoxycorticosterone and postdesoxycorticosterone hypertension, adrenal regeneration hypertension and adrenal insufficiency. J. clin. Invest. **37**, 660—671 (1958).
- A. TOMBULLAN and J. JANACEK: The effect of high perfusion pressures on the granulation of juxtaglomerular cells in an isolated kidney. J. clin. Invest. **38**, 605—610 (1959).
- TVERDY, G.: Le comportement de la cellule musculaire afibrillaire granuleuse au cours de l'hypertrophie renale compensatrice. Rev. belge Path. **24**, 209—212 (1955).