

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Basel (Direktor: Prof. Dr. A. WERTHEMANN) und der Abteilung für experimentelle Pathologie der medizinisch-biologischen Forschung der Sandoz AG, Basel (Direktor: Dr. A. CERLETTI)

Untersuchungen über primäre Alterationen am distalen Nierentubulus der Ratte mit Störung des Haarnadelgegenstromsystems

Von

WILLIAM MEIER-RUGE

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. August 1963)

Die patho-physiologischen Veränderungen am distalen Nierentubulus sind bis heute noch weitgehend unbekannt, und die Lower nephron nephrosis ein vergessenes Krankheitsbild (KIMMELSTIEL). Demgegenüber ist auf physiologischer Seite eine große Zahl grundlegender Arbeiten zur Funktion des distalen Tubulus zu finden (GOTTSCHALK und MYLLE; HARGITAY und KUHN; KUHN und MARTIN; ULLRICH u. Mitarb.; WIRZ u. Mitarb.). In den vorliegenden Untersuchungen wurde mit Hilfe von halogenierten Chinolin- und Chinaldin-Derivaten eine Veränderung am distalen Nierentubulus der Ratte erzeugt, welche keine Interferenz mit Zylinderbildungen und Zellnekrosen (ANTOPOL u. Mitarb.; GEISER; STAEMMLER und KARHOFF) zeigt und damit eine klare Verfolgung der sich vom Sammelrohr bzw. der Henleschen Schleife ausbreitenden Prozesse gestattet.

Untersuchungsgut und Methodik

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an 454 Albinoratten durchgeführt (Weibchen, 4 Monate alt: 170—190 g schwer; Männchen 4 Monate alt: 190—230 g schwer, bei Versuchsbeginn). Alle Versuche hatten eine gleiche Anzahl von Tieren beiderlei Geschlechts. Die Tiere stammten aus einheitlichen Würfen und waren gleichaltrig. Die Tiere wurden in Makrolonkäfigen (GÖNNERT und SPIEGEL, SPIEGEL und GÖNNERT) unter konstanten Raumlüftungs- und Temperaturverhältnissen gehalten. Das Futter bestand in einer „Altromin R“-Trockendiät (BROCK und WILK). Beschränkungen von Futter- und Wasserzufuhr bestanden nicht.

Es wurden insgesamt fünf Versuchsgruppen gebildet, denen verschiedene halogenierte Chinolin- und Chinaldinderivate durch Magensonde gegeben wurde: 1. 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin (415 mg pro kg Körpergewicht). 2. 5,7-dibrom-8-benzoxychinaldin (200 mg pro kg Körpergewicht). 3. Ein Gemisch von 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin (83 g ad 100 g Substanzgemisch) und 5,7-dibrom-8-benzoxychinaldin (17 g ad 100 g Substanzgemisch). Von diesem Gemisch wurden 500 mg, 120 mg und 60 mg pro kg Körpergewicht mit der Sonde den Tieren gegeben. 4. 5-chloro-8-hydroxy-7-jodochinolin (500 mg pro kg Körpergewicht). 5. 5,7-dichloro-8-hydroxychinaldin (200 mg pro kg Körpergewicht).

Die Versuchsintervalle betrugen 0,5, 1 und 4 Wochen. Bei dem Gemisch aus 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin und 5,7-dibrom-8-benzoxychinaldin wurde eine Versuchsreihe über 4 Wochen ausgedehnt; und zwar wurden Untersuchungen vorgenommen bei 8, 16 und 32 Wochen.

Eine weitere Versuchsgruppe, welche das gleiche Substanzgemisch erhielt, erfuhr eine dahingehende Änderung der Versuchsanordnung, daß die Tiere die Gesamtdosis von 500 mg pro kg Körpergewicht nicht in einer einheitlichen Dosis erhielten, sondern in Form von vier Dosen zu je 125 mg pro kg Körpergewicht in 3stündigen Intervallen über den Tag verteilt.

Die den Tieren verabfolgten Substanzen wurden unmittelbar vor der Sondierung in 1%iger Gelatinelösung suspendiert. Die Suspension war so eingerichtet, daß jedes Tier 2 ml Gelatinelösung mit der entsprechenden Substanzmenge erhielt.

Die ermittelte Toxicität für das Gemisch 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin/5,7-dibrom-8-benzoxychinaldin, 5-chloro-8-hydroxy-7-jodochinolin sowie 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin lag mit der DL 50 oberhalb 5000 mg pro kg Körpergewicht. Die DL 50 für 5,7-dichlor-8-hydroxychinaldin wurde bei 1150 mg pro kg Körpergewicht ermittelt.

Histochemische Technik. Die zur Fermenthistochemie herangezogenen Schnitte wurden in einem Kryostaten nach Dittes-Duspiva hergestellt. Es wurde darauf geachtet, daß jeweils fünf Tiere zu gleicher Zeit getötet und ebenfalls zu gleicher Zeit die Nieren mit der Kontrolle auf dem Gefriertisch aufgefroren wurden. Durch diese Anordnung war es möglich, analog früheren Untersuchungen (MEIER und SIMON; SIMON, BENEKE und MEIER), ein aktuelles Bezugssystem zwischen Kontrolle und Versuchstieren zu schaffen.

Folgende Fermente kamen zur Untersuchung: saure und alkalische Phosphatase (GÖSSNER), 5-Nucleotidase (PEARSE und REIS), ATPase (PADYKULA und HERMAN pH 7,2 sowie WACHSTEIN und MEISEL pH 9,4), Bernsteinsäuredehydrogenase, Lactatdehydrogenase, Glutaminsäuredehydrogenase, Cholindehydrogenase (GLOGNER und GÖSSNER), α -Naphthylesterase, β -Hydroxybuttersäuredehydrogenase (HESS, SCARPELLI und PEARSE), Leucinaminopeptidase (NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN) sowie die Glucuronidase.

Daneben wurde eine Fettfärbung, eine PAS-Reaktion sowie eine SS- und SH-Gruppendarstellung (BARNETT und SELIGMAN) durchgeführt. Außerdem kam für die konventionelle Histologie jeweils die zweite Niere eines jeden Tieres in Susa zur Fixierung. Der Teil, welcher nicht bei der Histochemie Verwendung fand, wurde in 5%igem Formalin fixiert. Histologische Färbungen: HE, van Gieson, Azan, Trichrom.

Ergebnisse

Die unter Einfluß der halogenierten Chinolin- und Chinaldinderivate beobachteten Nierenveränderungen sind abhängig von der Höhe der verabfolgten Dosis und der Dauer der täglichen Gaben. Bei 120 mg pro kg Körpergewicht des Gemisches 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin/8-benzoxychinaldin liegt etwa die Grenze, in deren Bereich nicht alle Tiere innerhalb des Zeitraumes von 4 Wochen erkranken. Der primäre Nierenschaden tritt im distalen Tubulus auf und ascendiert rasch. Alle untersuchten Substanzen erzeugten gleichartige Nierenveränderungen. Die halogenierten Chinaldine erwiesen sich im Vergleich zu den analog gebauten Chinolinderivaten als nephrotoxischer (CHRISTENSEN und DAM).

1. Distaler Tubulus. Die eindruckvollsten und frühesten Veränderungen zeigen die weiblichen Tiere. Hier kommt es bereits innerhalb der ersten 4 Tage nach Gabe von 500 mg pro kg Körpergewicht des Gemisches 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin/8-benzoxychinaldin zu leichten Stoffwechselalterationen in den distalen Tubulusabschnitten. Mit der klassischen Histologie ist zu diesem Zeitpunkt in der Regel noch kein Befund zu erheben. Histochemisch fällt indessen eine nach dem Ferment verschiedene, diffuse, die gesamte Niere erfassende Reduktion der Dehydrogenasen (Abb. 1) auf. Bereits 2 Tage später kommt es zu einer fleckförmigen, überaus deutlichen Verminderung der alkalischen Phosphatase im Mittelstreifen der Niere.

Diese Reduktion der alkalischen Phosphatase erfaßt in den nächsten Tagen ascendierend einen größeren Teil des proximalen Tubulus. Zugleich ist eine streifen- bis keilförmig angeordnete Hemmung der Dehydrogenasen in den Sammelrohrepihelien und Henleschen Schleifen zu beobachten (Abb. 2).

Etwa gleichzeitig mit diesen Fermentänderungen beginnt eine Dilatation der Lumina von Henlescher Schleife und Sammelrohr zusammen mit den distalen Tubuli contorti (7.—9. Tag) (Abb. 3). Diese erweiterten Tubuli zeigen weder Zylinderbildung noch einwandernde Leukozyten oder abgeschilferte bzw. nekrotisierte Tubulusepithelien.

Nach 10—14 Tagen haben sich beim weiblichen Tier ein oder mehrere markante keilförmige Herde gebildet, in denen die Phosphataseaktivität und die Dehydrogenasen reduziert sind. Die Tubulusdilatation breitet sich scheinbar gleichzeitig vom Sammelrohr und von der Henleschen Schleife nach proximal aus. Während die distalen Tubuli contorti der befallenen Nephrone völlig dilatiert werden, nimmt die Tubuluserweiterung im proximalen Tubulus meist nur die der Schleife nahe liegenden Anteile ein.

Der Schwund der alkalischen Phosphatase in den dilatierten proximalen Tubuli ist nahezu total. Demgegenüber findet man eine zumeist noch recht gut erhaltene, aber doch deutlich reduzierte Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase, der Milchsäuredehydrogenase, der Glutaminsäuredehydrogenase sowie auch der anderen untersuchten Dehydrogenasen. Am frühesten fallen die Dehydrogenasen aus, die nicht dem nutritiven Energiestoffwechsel zu gehören, wie die β -Hydroxybuttersäuredehydrogenase, Leucinaminopeptidase und die Cholindehydrogenase. Speziell die Cholindehydrogenase zeigt sehr frühzeitig eine Verminde rung ihrer Aktivität. Der Schwund der β -Hydroxybuttersäuredehydrogenase hängt wahr-



Abb. 1

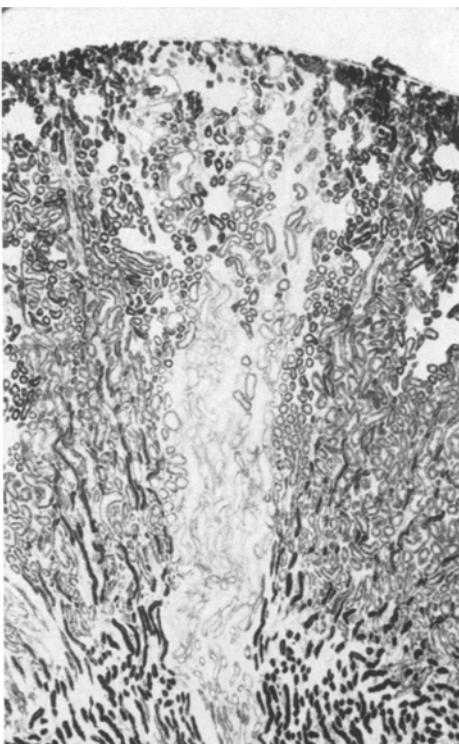


Abb. 2

Abb. 1. Reduktion der Cholindehydrogenase (obere Bildhälfte) nach mehr tägiger Gabe des Gemisches 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin/-benzoxychinaldin. In der unteren Bildhälfte die zugleich geschnittene und inkubierte Niere des Kontrolltieres. (Vergr. 280fach)

Abb. 2. Lokalisierte Hemmung der von distal nach proximal fortschreitenden Tubuluserweiterung mit Schwund der Dehydrogenasen (SDH). Im Rindenbereich beobachtete man die stark erweiterten Schlingen der distalen Tubuli contorti. (Vergr. 70fach)

scheinlich auch z.T. mit ihrer Lokalisation in Henlescher Schleife und Sammelrohranteilen der Ratteniere zusammen.

Während 4—5 Wochen, wenn bereits interstitielle Vernarbungsprozesse einsetzen, die Dehydrogenasen des Citronensäurecyclus noch histochemisch eben ausreichend nachweisbar sind, beobachtet man bei der Cholinhydrogenase einen nahezu totalen Aktivitätsschwund (Abb. 4).

Das Rattenmännchen, welches normalerweise eine bedeutend geringere Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Niere besitzt, lässt innerhalb der ersten Woche bei ausreichender Wasserzufuhr noch keine Nierenveränderung erkennen. Hier finden sich erst nach einem Versuchsintervall von 14 Tagen bis 3 Wochen erste Nierenveränderungen. Nach 4 Wochen ist ein Stadium erreicht, wie es beim Rattenweibchen bereits nach 1— $1\frac{1}{2}$ Wochen erkennbar ist. Sowohl die fermenthistochemischen als auch die histologischen Veränderungen des peripheren Tubulus sind jedoch beim Männchen die gleichen wie beim weiblichen Tier.

Gibt man 500 mg des Chinolin/Chinaldingemisches, über den Tag verteilt, in vier Dosen zu je 125 mg pro kg, so sind auch beim Männchen bereits früher, allerdings noch früher beim Weibchen, Nierenveränderungen zu beobachten.

Makroskopisch erscheint die Niere im Zeitpunkt der Dilatation des distalen Tubulus undeutlich hell gefleckt. Auf der Schnittfläche erkennt man gelbliche keilförmige Streifen, welche tief im Mark beginnen und mit der Keilbasis bis in die Rinde reichen. Besteht die Erweiterung des dilatierten Tubulus bereits längere Zeit, so beobachtet man, durch eine excessive Erweiterung der distalen Tubulusschleife, ein deutliches Vorspringen derselben über die Nierenoberfläche (Abb. 6). Die Niere erscheint jetzt geringgradig gehöckert.

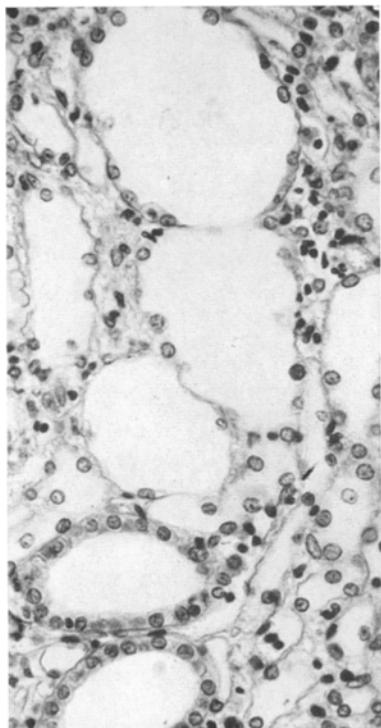


Abb. 3

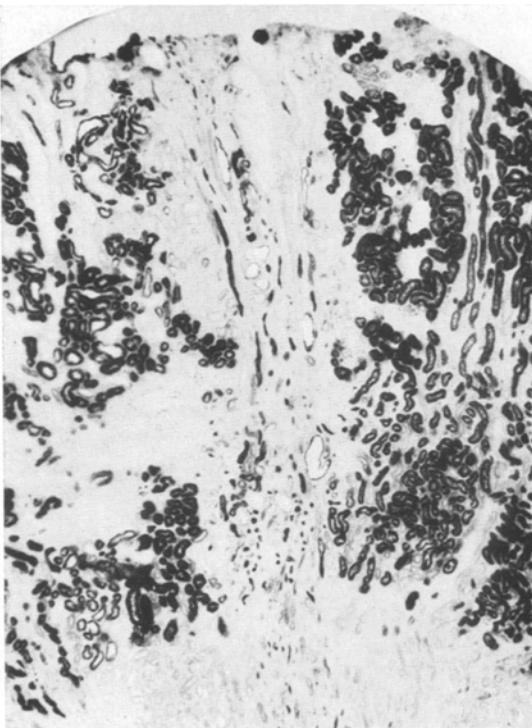


Abb. 4

Abb. 3. Nebeneinander von dilatierten Henleschen Schleifen und Sammelrohren im Nierenmark.
(v. Gieson, Vergr. 400fach)

Abb. 4. Totaler Schwund der Cholindehydrogenase in einem breiten Herd dilatierter Tubuli nach 4wöchiger Gabe halogenierter Chinolinderivate. Die Dehydrogenasen der anaeroben Glykose und des Citronensäurecyclus sind im gleichen Schnitt noch ausreichend darstellbar. (Vergr. 70fach)

2. Proximaler Tubulus. Das Übergreifen des Nierenprozesses vom distalen Tubulus auf den proximalen Tubulus scheint ein ausgesprochen sekundäres Phänomen darzustellen. Der Stäbchensaum ist unabhängig von der Dilatation zunächst noch gut erhalten, und man findet das Lumen häufig ausgefüllt von großen, vakuoligen Gebilden, die wahrscheinlich doch — entgegen anderen Auffassungen — als Resorptionsvacuolen des Stäbchensaumes aufzufassen sind (Abb. 5). Mit dem Fortbestand der Tubuluserweiterung nehmen Zahl und Größe dieser Vacuolen zu, und der Stäbchensaum wird immer flacher bis man ihn kaum noch erkennt. Mit dem Schmälerwerden des Stäbchensaumes fällt auch die PAS-Reaktion immer schwächer aus. Sowohl die distalen wie proximalen Tubulusanteile zeigen in den Nierenabschnitten, welche den nephro-hydrotisch veränderten Anteilen benachbart sind, eine Aktivierung sowohl der Dehydrogenasen als auch der alkalischen Phosphatasen. Auch der PAS-Gehalt der Stäbchen in den proximalen Tubuli ist deutlich heraufgesetzt.

Bei 5,7-dichlor-8-hydroxychinraldin, welches bei Männchen wie Weibchen nahezu gleich massiv wirkt — allerdings beim Weibchen immer noch stärker als beim Männchen —, ist die Dilatation des proximalen Tubulus bedeutend ausgedehnter (Abb. 6).

3. Glomerulum. Um die 3.—6. Woche hat die Nephrohydrose vereinzelt das Glomerulum erreicht (Abb. 6). In dem weiten Kapselraum findet sich ein der 5-Nucleotidase-Reaktion undeutlich färbender Inhalt, welcher auch im anschließenden Tubulusanteil zu erkennen ist. Das Glomerulum selbst ist meist kollabiert und blutarm. Bleibt die Nephrohydrose längere Zeit bestehen, infolge eines langsamen Fortschreitens proliferativer Prozesse im Interstitium, so tritt um die 8.—16. Woche eine Fermentaktivierung in den Deckepithelien

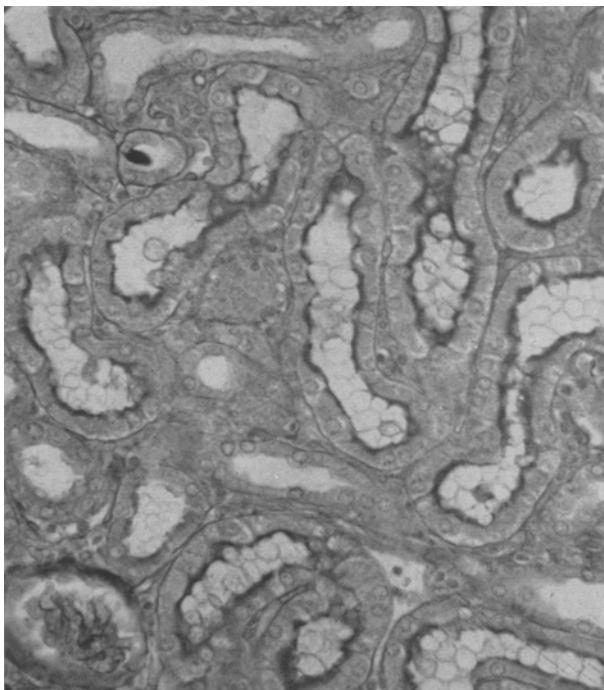


Abb. 5. Dilatierte proximale Nierentubuli mit schmalem Bürstensaum und großen Resorptionsvacuolen des Bürstensaumes. (PAS-Reaktion, Vergr. 400fach)

der Glomerulumschlingen sowie dem Kapselendothel des Glomerulum auf. Es findet sich eine geringgradige Aktivität der alkalischen Phosphatase, die in der Regel hier nicht zu beobachten ist, sowie eine ausgeprägte Aktivität der Milchsäuredehydrogenase, die in Glomerula unter normalen Verhältnissen histochemisch ebenfalls nicht zu beobachten ist (Abb. 7). Die Deckepithelien sind hinsichtlich Kern sowie Cytoplasmaleib eindeutig vergrößert. Die Aktivierung der Milchsäuredehydrogenase im Glomerulum bleibt schließlich auch noch zu Zeiten erhalten, wenn bereits durch narbige Prozesse der angeschlossene Tubulus weitgehend atrophiert ist.

4. Interstitium. Im Verlaufe der 1.—2. Woche kommt es in der Regel zu keinerlei Veränderungen im Interstitium. Nur ganz selten finden sich kleine Rundzellenansammlungen. Mustert man einen Schnitt mit länger bestehenden nephrohydrotischen Veränderungen, so findet sich je nach Dauer der Gabe von halogenierten Chinolinen bzw. Chinaldinen in sehr unterschiedlichem Maße eine Vermehrung von Histiozyten, Angioblasten, Rundzellen und Fibroblasten im Interstitium. Die ersten derartigen Vorgänge finden sich vereinzelt um die 4. Woche. Nach 16—32 Wochen ist die Niere von streifenförmigen, narbigen Feldern durchsetzt (Abb. 8). Hier sind dann alle Grade der Nierenveränderungen nebeneinander zu beobachten.

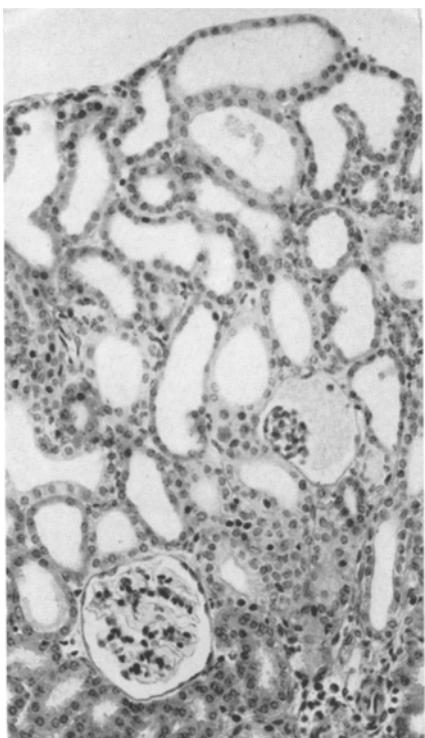


Abb. 6

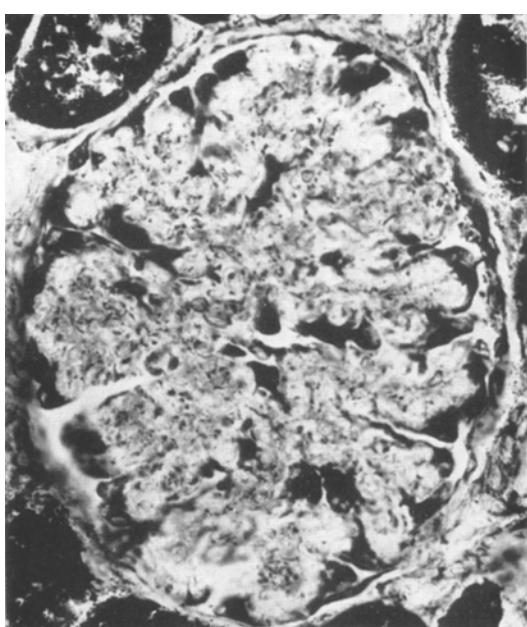


Abb. 7

Abb. 6. Ausgeprägte Tubulusdilatation nach 3wöchiger Gabe von 5,7-dichlor-8-hydroxychinolin. Harnaufstauung bis zum Glomerulum (v. Gieson, Vergr. 400fach)

Abb. 7. Aktivierung der Milchsäuredehydrogenase in den Podocyten der Glomerulus-Schlingen sowie dem Kapselendothel nach 13wöchiger Behandlung.

(Vergr. Ölimmersion 1500fach)

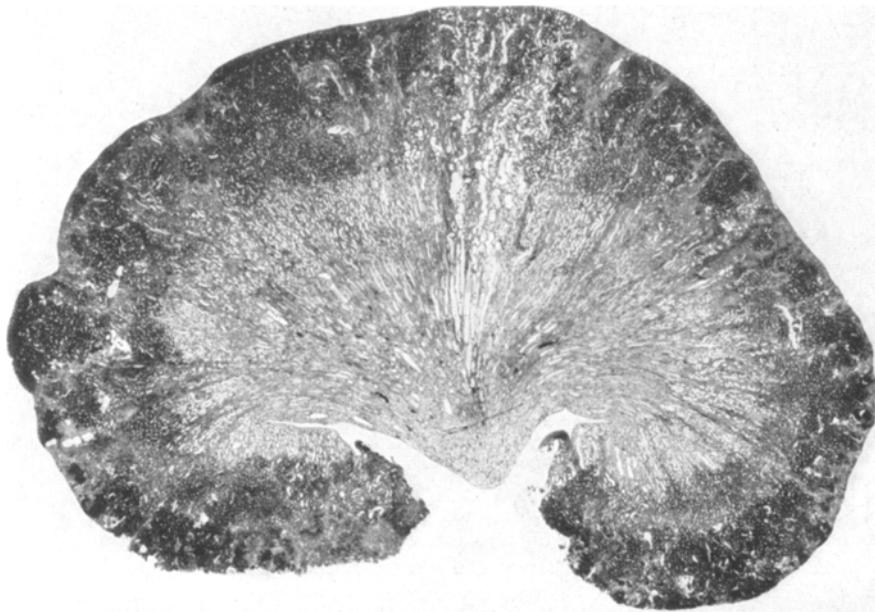


Abb. 8. Längsschnitt durch die Niere des behandelten weiblichen Tieres von Abb. 9. Narbige Prozesse neben dilatierten Nierenanteilen im Nierenparenchym

Man erkennt sowohl ganz akut dilatierte Nierenanteile ohne wesentliche Beteiligung des Interstitium als auch bereits fortgeschrittene narbige Prozesse mit ausgeprägter Bindegewebsvermehrung und atrophischen Tubuli. Schließlich beobachtet man inmitten der narbigen

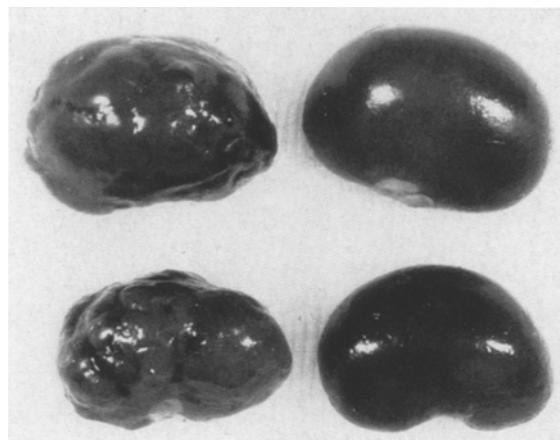


Abb. 9. Schrumpfnierenbildung nach 32 Wochen der Behandlung mit halogenierten Chinaldinen. Links Versuchstiere, rechts Kontrolltiere. Obere Reihe: Männchen; untere Reihe: Weibchen

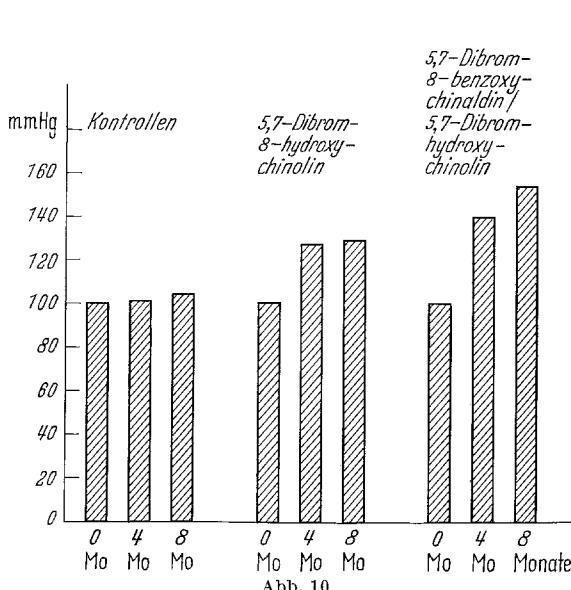


Abb. 10. Änderung der Blutdruckwerte in Abhängigkeit von der Versuchszeit. Zunahme des Blutdrucks mit Fortschreiten der Vernarbungsprozesse in der Niere der Ratte

Abb. 11a—d. Änderung der Coecumvolumina der Ratten nach 4wöchiger Gabe verschiedener halogenierter Chinolinderivate. a Kontrolle; b 5,7-dibrom-8-benzyloxychininaldin; c 5,7-dibrom-8-hydroxy-chinolin; d 5,7-dibrom-8-benzyloxychininaldin/5,7-dibrom-8-hydroxychinolin

Bezirke nur noch einzelne dilatierte Harnkanälchen oder durch Narbengewebe komprimierte Tubuli mit noch gering erhaltener Fermentaktivität.

Nach 32wöchiger Gabe des Chinolin-Chinaldingemisches findet sich infolge der ausgeprägten Vernarbungen das Bild einer pyelogenen Schrumpfniere. Da der Prozeß fleckförmig Gruppen von Nephren befällt, finden sich auf der Oberfläche breitfleckige, eingesunkene

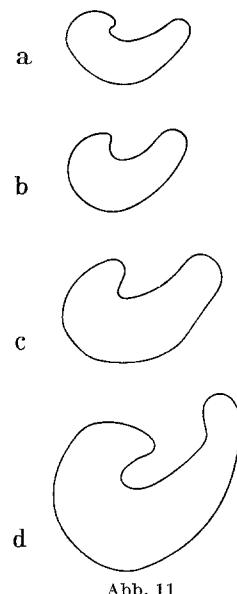


Abb. 11

Narbenfelder (Abb. 9). Auf der Schnittfläche ist der Mittelstreifen blaß, die Rinde deutlich verschmälert und die Mark-Rindegrenze undeutlich.

Von einem bestimmten Ausmaß der Schrumpfnierenbildung an entwickelt sich eine Erhöhung des Blutdruckes (Abb. 10). Diese Messungen verdanke ich Herrn Dr. R. HUMMEL, Sandoz AG, Basel.

Nicht immer führt der Prozeß der interstitiellen Bindegewebsproliferation bis zur völligen Atrophie der Tubuli, sondern häufig sieht man um dilatierte Tubuli mit einem sehr niedrigen Tubulusepithel nur eine Verbreiterung des interstitiellen Bindegewebes.

Die histologische Untersuchung der anderen Organe ließ keinen Befund erheben. Auch konnten wir über ein Versuchsintervall von 32 Wochen keine Leberveränderung mit den untersuchten Substanzen beobachten. Demgegenüber fand sich im Bereich des Darmes nach Gabe von halogenierten Chinolinen ein auffälliger Befund. Es zeigte sich eine enorme Dilatation des Coecum, welche so ausgeprägt war, daß zwei Drittel der Bauchhöhle durch das enorm erweiterte, mit Konsistenzverminderter Inhalt gefüllte Coecum angefüllt war (Abb. 11). Das halogenierte Chinaldin ließ niemals eine solche Veränderung beobachten. Das nichthalogenierte 8-Hydroxy-chinolin zeigte nur eine geringe ausgeprägte Erweiterung des Coecum. Beim Gemisch aus halogeniertem Chinolin und Chinaldin zeigte sich, daß der Chinaldinzusatz eine Potenzierung der Coecumdilatation von seiten des Chinolins hervorruft.

Diskussion

Die vorliegenden Befunde sind zunächst durch eine allgemein geringe Reduktion der Dehydrogenasen und alkalischen Phosphatasen charakterisiert (Abb. 1), die gefolgt ist von einem fleckförmigen, später keilförmigen Ausfall der Dehydrogenasen (Abb. 2 und 4) im Bereich des distalen Tubulus und einer nachfolgenden Tubulusdilatation (Abb. 3 und 6), welche vom proximalen Anteil des Sammellohres und der Henleschen Schleife scheinbar gleichzeitig einerseits über das Schaltstück auf den distalen Tubulus contortus übergreift und andererseits den proximalen Tubulus rectus erfaßt. Der Erweiterung des proximalen Tubulus rectus geht ein Schwund der alkalischen Phosphatase parallel.

Während im distalen Tubulus die Verminderung der Dehydrogenaseaktivität der Tubulusdilatation vorausgeht, sind die Verhältnisse im Bereich des proximalen Tubulus umgekehrt. Besonders eindrucksvoll eilt die Dilatation dem Fermentschwund bei der alkalischen Phosphatase voraus, was wir als Zeichen für eine sekundäre Reaktion halten.

Es hat sich gezeigt, daß dieser Prozeß sehr wesentlich von der Wasserzufuhr abhängig ist. Tiere, welche zuweilen keine ausreichende Wasserzufuhr bekommen, können ein sehr rasches Einsetzen von proliferativen Prozessen mit interstitieller Vermehrung von Fibroblasten sowie Einwandern von Histiocyten und Rundzellen zeigen. Unter diesen Bedingungen können Vernarbungsprozesse beschleunigt ablaufen.

Bezüglich der primären Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Niere bestehen deutliche Geschlechtsunterschiede. Es zeigt sich, daß die weibliche Ratte eine höhere Aktivität an alkalischer Phosphatase besitzt als die männliche. Die Höhe der alkalischen Phosphataseaktivität soll für die Konzentrationsfähigkeit der Niere maßgebend sein. So steigt im Stadium der Antidiurese die Phosphataseaktivität der Niere signifikant an (GEYER). Allein diese Befunde machen verständlich, wieso infolge einer höheren Konzentrationsfähigkeit der Niere die weiblichen Tiere eine viel frühere und ausgeprägtere Nierenveränderung zeigen als die männlichen: Mit der Zunahme der Konzentrationsfähigkeit der Niere steigt

die Konzentration der Chinolinmetaboliten, wodurch ein stärkerer und früher einsetzender toxischer Effekt von seiten dieser Substanzen zu erwarten ist.

Unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen kam es keilförmig zu Tubuluserweiterungen bis in den proximalen Tubulus hinein (Abb. 6). Hierbei fand sich eine Verschmälerung des Stäbchensaumes und eine Abnahme der PAS-Reaktion (Abb. 5), während in benachbarten Teilen, in denen noch gut erhaltene funktionierende Tubuli vorhanden waren, die PAS-Reaktion in den nicht veränderten Tubuli contorti mit regulär hohem Stäbchensaum gegenüber den Kontrollen gering zunahm. Die weiten Tubuli waren dann ausgefüllt mit großen, offenbar vom Stäbchensaum ausgehenden Resorptionsvacuolen, während die Tubuluszellen selbst unauffällig erschienen und infolge des innertubulären Druckes eher abgeflacht waren.

Versucht man die *Kausalgenese* der beschriebenen Bilder zu erfassen, muß man auf Untersuchungen von HARGITAY und KUHN, WIRZ, ULLRICH u. Mitarb. sowie GOTTSCHALK und MYLLE zurückgreifen. Wie diese demonstrierten, erfolgen Rückresorption und Exkretionsprozesse im Nierenmark auf der Basis eines Haarnadelgegenstromprinzips. NETTER weist darauf hin, daß die vom Haarnadelgegenstromsystem erforderlichen zusätzlichen elektroosmotischen Kräfte nur aus einer intracellulären Energiebildung geliefert werden können. Diese Zusatzenergie wird aus stoffwechselenergetischen Umsetzungen der Dehydrogenasen und Phosphatasen zur Verfügung gestellt. Wenn wir auch heute den Mechanismus, der zum Bilde der Tubulusdilatation in unseren Untersuchungen führt, noch nicht restlos übersehen können, so scheint doch der Angriffspunkt im Sammelrohr bzw. der Henleschen Schleife zu liegen.

Legt man den beobachteten Nierenveränderungen das Prinzip des Haarnadelgegenstromsystems zugrunde, so könnte man vermuten, daß eine Hauptursache der Harnaufstauung im Sammelrohr in einer fehlenden Hyperosmie des Interstitium der Nierenmarksubstanz begründet liegt. Damit müßte aber nach den Vorstellungen von HARGITAY und KUHN eine Störung des Gegenstromsystems der Henleschen Schleife vorliegen, welche ja jene Steigerung der Elektrolytkonzentration und damit osmotischen Hypertonie des Markinterstitium bedingt. Gegen eine Änderung der ionalen Konzentrationsverhältnisse im Interstitium spricht indessen die Tatsache, daß die Tubulusveränderungen, entsprechend den betroffenen Sammelrohren, nur keilförmig und nicht diffus mit unscharfen Übergängen zum normalen Nierenparenchym auftreten. Allein daraus dürfte zu schließen sein, daß intratubulären Mechanismen ein entscheidender Einfluß für die Störung der Gegenstromkonzentration des Urins im Nierenmark zukommen dürfte. Wahrscheinlich ist der physiko-chemische Gegenstrommechanismus intakt, aber seine stoffwechselenergetische Anpassung an die jeweiligen Ausscheidungs- und Konzentrationsanforderungen gestört. Damit wird verständlich, daß es — wie auch an anderer Stelle dargestellt werden wird — zu keiner Hemmung der Ausscheidung kommt. Dies zeigt, daß allein der physiko-chemische Gegenstromprozeß nicht ausreicht, um eine optimale Harnkonzentration zu gewährleisten, sondern daß, wie bereits vermutet, eine zusätzliche Energiebildung von seiten der Zelle zur Verwirklichung der optimalsten Harnkonzentration im Mark erforderlich ist (DEETJEN und KRAMER).

Wenn auch die von uns vorgelegten Nierenveränderungen eng mit den von WIRZ, HARGITAY und KUHN, ULLRICH u. Mitarb., GOTTSCHALK u. Mitarb. demonstrierten Konzentrationsmechanismen im Nierenmark zusammenhängen, müssen doch weitere Untersuchungen erst zeigen, wie weit neben stoffwechselenergetischen auch noch andere Faktoren mit im Spiele sind. Vielleicht geben auch elektronenmikroskopische Untersuchungen, durch Einblick in die feineren Strukturelemente der Tubulusepithelien, weitere Hinweise auf Kausalfaktoren der beschriebenen Nierenschäden.

Die eigentliche *nephrotische Wirkung* der halogenierten Chinolin- und Chinaldinderivate beruht auf ihrer Eigenschaft, mit Metallen Komplexe zu bilden. Hier liegt wahrscheinlich auch eine entscheidende Quelle für die z.T. totale Inaktivierung der alkalischen Phosphatase, deren Funktion an das Vorhandensein von Magnesium- und Manganionen gebunden ist. Aber nicht nur die alkalische Phosphatase ist vom Magnesium abhängig, sondern auch eine größere Zahl anderer Fermente, wie die Bernsteinsäuredehydrogenase, die Isocitronensäuredehydrogenase, die Hexokinase, die Acetylcholinesterase sowie die Brenztraubensäurecarboxylase und andere Fermente. Im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase vermögen aber diese letzteren Fermente auch ohne Gegenwart von Magnesiumionen eine wenn auch geringere, so doch ausreichende Fermentaktivität zu entwickeln. Die stoffwechselinhibitorische Eigenschaft der halogenierten Chinolin- und Chinaldinderivate beruht somit nicht ausschließlich auf dem Entzug von Metallionen durch Komplexbildung. Auch der Metallchelatkomplex selbst, welcher zwischen den Magnesium- bzw. den Mangan- oder anderen Metallionen und dem Chinolinderivat entsteht, wirkt stoffwechseltoxisch (ALBERT u. Mitarb., ZENTMYER). Diese Toxicität läßt sich sehr rasch steigern, wenn man die Konzentrationsleistung der Niere durch Reduktion der Wasserzufluhr erhöht. Hierbei vermag man, je nach dem Ausmaß der Flüssigkeitsbeschränkung, alle Schädigungsgrade der Niere bis zur akuten Niereninsuffizienz zu erzeugen (MEIER-RUGE).

ANDERSON konnte *in vitro* zeigen, daß sowohl EDTA wie 8-Hydroxychinolin die alkalische Phosphatase durch Magnesiumentzug hemmen können und umgekehrt durch Magnesiumzusatz wieder die alte Aktivität zurückkehren kann. Auf der komplexbildenden Eigenschaft mit Metallen, vor allen Dingen mit Schwermetallen, beruht auch letzten Endes die bakteriostatische und fungostatische Wirkung dieser Verbindung in der Pharmakologie (ALBERT u. Mitarb., BRACK).

In diesem Zusammenhang drängt sich die Frage nach der Toxicität beim Menschen auf. Hier zeigt sich aber, daß in den therapeutisch verwendeten Dosen niemals eine so hohe Dosis an Chinolinderivaten oder auch Chinaldinderivaten über längere Zeit genommen wird, daß es zu nephrotoxischen Erscheinungen kommen könnte. Außerdem ist am vergleichenden Tierversuch zu demonstrieren, daß die Ratte eine bedeutend höhere Konzentrationsfähigkeit der Niere besitzt als Katze, Hund, Affe und Mensch. Dahingehende vergleichende physiologische Untersuchungen über die Konzentrationsgradienten der verschiedenen Tier-species wurden von FROSTER und GOLDSTEIN durchgeführt. Auch wir vermochten unter physiologischen Bedingungen bei Katze und Hund — auch im chronischen Versuch — keinen den Ratten analogen Schaden der Niere zu erzeugen.

Zusammenfassung

Mittels halogenierter Chinolin- und Chinaldinderivate des Typs 5,7-dibrom-8-hydroxychinolin bzw. 5,7-dichloro-8-hydroxychinaldin gelingt es, bei der Ratte stoffwechselenergetische Ausfälle am distalen Nierentubulus zu erzeugen. Die daraus resultierende Störung des Haarnadelgegenstromprinzips zwischen Sammelerohr und Henlescher Schleife führt zu einer intratubulären Harnaufstauung mit Dilatation der übergeordneten Harnkanälchen. Die Schädigung befällt zumeist ein oder zwei Sammelerohre. Dadurch kommt es zu keilförmigen Herden erweiterter Tubuli, die den funktionsgeschädigten Sammelerohren angeschlossen sind. Nach 16—32 Wochen hat sich eine pyelogene Schrumpfniere ausgebildet.

Studies of the Primary Alterations of the Distal Renal Tubule of the Rat with Disturbance of the Hair-Pin Counter Current System

Summary

By means of halogenated derivatives of quinoline and quinaldine (5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline and 5,7-dichloro-8-hydroxyquinaldine), it is possible to produce a loss of metabolic energy in the distal renal tubule of the rat. The resulting disturbance in the hair-pin counter-current principle between the collecting tubule and Henle's loop leads to an intratubular damming up with dilatation of the preceding tubules. The damage occurs mostly in one or two collecting tubules. Consequently, wedge-shaped groups of dilated tubules are formed which connect with the functionally disturbed collecting tubule. After 16—32 weeks a pyelogenic contracted kidney is formed.

Literatur.

- ALBERT, A., M. I. GIBSON, and S. D. RUBBO: The influence of chemical constitution on antibacterial activity. Part VI: The bactericidal action of 8-Hydroxyquinoline (Oxine). Brit. J. exp. Path. **34**, 119—130 (1953).
- S. D. RUBBO, R. J. GOLDACRE, and B. G. BALFOUR: The influence of chemical constitution on antibacterial activity. Part III: A study of 8-hydroxyquinoline (oxine) and related compounds. Brit. J. exp. Path. **28**, 69—82 (1947).
- ANDERSON, A. B.: Inhibition of alkaline phosphatase by adrenaline and related dihydroxyphenols and quinones. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **54**, 110—114 (1961).
- ANTOPOL, W., D. LEHR, J. CHURG, and H. SPRINZ: Changes in the urinary tract and other organs after administration of three sulfonamid derivates. Arch. Path. **31**, 592—602 (1941).
- BRACK, A.: Antimikrobielle Wirkung von 8-Hydroxychinolin-Derivaten, besonders von einigen neuen Estern. Arzneimittel-Forsch. **12**, 133—144 (1962).
- BROCK, N., u. W. WILK: Zur Ernährung der Laboratoriumstiere. 1. Mitt.: Altromin R — eine Standard-Diät für Ratte und Maus. 2. Mitt.: Altromin Ms und Altromin-K-Standard-Diäten für Meerschweinchen und Kaninchen. Arzneimittel-Forsch. **11**, 1071—1086 (1961); **12**, 64—79 (1962).
- CHRISTENSEN, F., and H. DAM: Kidney damage in hamsters receiving an artificial diet containing 5,7-dichloro-8-hydroxy-chinaldine. Acta pharmacol. (Kbh.) **18**, 249—254 (1961).
- DEETJEN, P., u. K. KRAMER: Die Abhängigkeit des O₂-Verbrauches der Niere von der Na-Rückresorption. Pflügers Arch. ges. Physiol. **273**, 636—650 (1961).
- FORSTER, R. P., and L. GOLDSTEIN: Relationship between succinoxidase activity and maximal transport rates of p-aminohippurate ($T_{m_{PAH}}$) in various representative vertebrates. J. cell. comp. Physiol. **58**, 247—252 (1961).

- GEISER, W.: Experimentell erzeugte chronisch-interstitielle Nephritis. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 463—482 (1957).
- GEYER, G.: Histochemischer Nachweis funktioneller Veränderungen an Tubulusepithelzellen in der Niere der Maus. *Acta histochem. (Jena)* **10**, 1—10 (1960).
- GLOGNER, P., u. W. GöSSNER: Histochemischer Nachweis von Cholinhydrogenase in tierischen Geweben. *Histochemie* **2**, 435—441 (1962).
- GÖNNERT, R., A. SPIEGEL: Neue Käfige für Mäuse und Ratten. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.* **184**, 93—96 (1962).
- GÖSSNER, W.: Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode. *Histochemie* **1**, 48—96 (1958).
- GOTTSCHALK, C. W., and M. MYLLE: Evidence that the mammalian nephron functions as a countercurrent multiplier system. *Science* **128**, 594 (1958).
- — Micropuncture study of the mammalian urinary concentrating mechanisms; evidence for the countercurrent hypothesis. *Amer. J. Physiol.* **196**, 927—936 (1959).
- HARGITAY, B., u. W. KUHN: Das Multiplikationsprinzip als Grundlage der Harnkonzentrierung der Niere. *Z. Elektrochem.* **55**, 539—558 (1951).
- KIMMELSTIEL, P.: Die akute tubuläre Nephrose. *Münch. med. Wschr.* **102**, 1459—1462 (1960).
- KUHN, W., u. H. MARTIN: Temperaturabhängigkeit der Adsorbierbarkeit als Mittel zur laufenden Fraktionierung oder Konzentrierung von Lösungen. *Z. physik. Chem.* **189**, 317—326 (1941).
- MEIER, W., u. H. SIMON: Über eine Möglichkeit zur halbquantitativen Auswertung histochemicaler Fermentnachweise und anderer histochemicaler Reaktionen. *Acta histochem. (Jena)* **8**, 1—8 (1959).
- MEIER-RUGE, W.: Der Metall-Chinolinkomplex als nephrotoxisches Wirkungsprinzip halogenierter Chinolinderivate. *Z. ges. exp. Med.* **138**, 99—104 (1964).
- NETTER, H.: Theoretische Biochemie, S. 731. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- SIMON, H., G. BENEKE u. W. MEIER: Über die Brauchbarkeit einer einfachen, halbquantitativen histophotometrischen Methode. *Acta histochem. (Jena)* **10**, 271—275 (1960).
- SPIEGEL, A., u. R. GÖNNERT: Neue Käfige für Mäuse und Ratten. *Z. Versuchstierk.* **1**, 38—46 (1961).
- STAEMMLER, M.: Die akuten Nephrosen. I. Die Sublimatnephrose. *Virchows Arch. path. Anat.* **328**, 1—17 (1956).
- Die akuten Nephrosen. III. Mitt.: Die Crush-Niere im Tierverwuch. *Virchows Arch. path. Anat.* **329**, 245—266 (1956).
- Die akuten Nephrosen. IV. Mitt.: Tubuläre Schädigung und Wiederherstellung. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 139—155 (1957).
- Die Harnorgane. In: E. KAUFMANN u. M. STAEMMLER, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. II/1, S. 591. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1957.
- , u. B. KARHOFF: Die akuten Nephrosen. II. Mitt.: Nierenschaden durch Antibiotica (Neomycin und Viomycin). *Virchows Arch. path. Anat.* **328**, 481—502 (1956).
- , M. HERINK u. I. LINGENBERG: Die akute Nephrose. V. Mitt.: Die Bedeutung von Kreislaufstörungen für die Entstehung nephrotischer Veränderungen. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 296—315 (1957).
- ULLRICH, K. J.: Über die Funktion des Nierenmarkes. *Dtsch. med. Wschr.* **84**, 1197—1202 (1959).
- F. O. DRENCKHAHN, u. K. H. JARAUSCH: Untersuchungen zum Problem der Harnkonzentrierung und -Verdünnung. Über das osmotische Verhalten von Nierenzellen und die begleitende Elektrolytanhäufung im Nierengewebe bei verschiedenen Diuresezuständen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 62—77 (1955).
- , u. H. JARAUSCH: Untersuchungen zum Problem der Harnkonzentrierung und Harnverdünnung. Über die Verteilung von Elektrolyten (Na, K, Ca, Mg, Cl, anorganischem Phosphat), Harnstoff, Aminosäuren und exogenem Kreatinin in Rinde und Mark der Hundenniere bei verschiedenen Diuresezuständen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **262**, 537—550 (1956).
- K. KRAMER, and J. W. BOYLAND: Present knowledge of the countercurrent system in the mammalian kidney. *Progr. cardiovasc. Dis.* **3**, 395 (1961).

- WEINIG, E., u. W. SCHWERD: Nil nocere! Gefahren bei der Behandlung der Bleiintoxikation mit Calciumversenat („Mosatil Komplexon“). Münch. med. Wschr. **100**, 1788—1789 (1958).
- WIRZ, H.: Druckmessung in Capillaren und Tubuli der Niere durch Mikropunktion. Helv. physiol. pharmacol. Acta **13**, 42—49 (1955).
- Der osmotische Druck in den corticalen Tubuli der Ratteniere. Helv. physiol. pharmacol. Acta **14**, 353—362 (1956).
- B. HARGITAY u. W. KUHN: Lokalisation des Konzentrationsprozesses in der Niere durch direkte Kryoskopie. Helv. physiol. pharmacol. Acta **9**, 196—207 (1951).
- ZIMMERMANN, H.: Experimentelle histologische, histochemische und funktionelle Untersuchungen zur Frage der Nierenschädigung nach temporärer Ischämie. Beitr. path. Anat. **117**, 65—84 (1957).

Dr. WILLIAM MEIER-RUGE,
Pathologisches Institut der Universität,
Basel (Schweiz), Hebelstr. 24