

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. P. GEDIGK)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an dem Tubulusapparat der Niere bei experimenteller chronischer Bleivergiftung der Ratte*

Von
V. TOROVIC

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. September 1964)

Seit langem ist es bekannt, daß bei der experimentellen Bleivergiftung besonders Schädigungen der Nieren, und zwar vor allem der Hauptstückepithelien, auftreten. Hier zeigen sich regressive Veränderungen am Cytoplasma, die u. U. bis zum Untergang einzelner Zellen führen können (FLURY; TÖNZ, dort weitere Literatur) sowie eigentümliche Einschlüsse in den Zellkernen (BLACKMAN; ZOLLINGER a, b; TÖNZ; MÜLLER u. v. RAMIN, dort weitere Literatur).

Trotz zahlreicher lichtmikroskopischer histochemischer und neuerdings auch elektronenoptischer (PORTE u. BATZENSCHLAGER; BEAVER; ANGEVINE u. Mitarb.) Arbeiten, die sich allerdings vornehmlich den Kernveränderungen widmeten, ist der Ablauf der Nierenschädigungen, insbesondere die Entstehung der Cytoplasma-Veränderungen in wesentlichen Punkten unklar geblieben. In eigenen Experimenten haben wir nunmehr versucht, durch eine chronische Bleivergiftung von Ratten mit Hilfe des Elektronenmikroskopes einen Einblick in die formale Genese der Tubulusepithelschädigungen zu bekommen und somit vielleicht auch Hinweise für den Angriffspunkt des toxisch wirkenden Bleis in der Niere zu gewinnen.

Versuchsanordnung und Methode

50 weiblichen Wistar-Ratten (Körpergewicht 190—260 g) wurden zweimal wöchentlich intraperitoneal 2 mg Bleiacetat pro 100 g Körpergewicht in Form einer 1%igen wäßrigen Lösung mit Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Als Kontrollen dienten fünf Ratten, denen zweimal wöchentlich 1 ml physiologischer Kochsalzlösung injiziert wurden, sowie weitere fünf normale, völlig unbehandelte Tiere. Die Fütterung der Tiere erfolgte mit Normal-(Altromin-Würfel)-Kost. Die Tiere wurden nach 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16 und 18 Wochen getötet. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden lebensfrische Gewebsstücke aus der Nierenrinde und dem Mark wie üblich in 1%iger gepufferter Osmiumsäure fixiert und in Methakrylat oder Vestopal-W eingebettet. Zusätzlich wurde ein Teil des Materials von vier Tieren in gepufferter Glutaraldehyd-Lösung vorfixiert, danach in gepufferter Osmiumsäure nach CAULFIELD nachfixiert und anschließend in Vestopal-W eingebettet. Die mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom angefertigten Dünnschnitte wurden teils unkontrastiert, teils nach einer Kontrastierung mit Uranylacetat oder Bleihydroxyd mit einem Siemens-Elmiskop I untersucht. Das restliche Nierengewebe wurde in 4%igem neutralen Formalin fixiert und für lichtmikroskopische und histochemische Kontrolluntersuchungen verwendet.

Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Befunde

Die Glomerula zeigten während der ganzen Versuchszeit keine pathologischen Veränderungen. Die Hauptbefunde waren, entsprechend den Arbeiten von TÖNZ u. a., am Tubulus-

* Herrn Prof. Dr. H. HAMPERL zum 12. 9. 64 gewidmet.

apparat, und zwar vor allem an Hauptstücken zu beobachten. Sie treten nach etwa 4 Wochen auf. Dabei erscheinen die Epithelzellen der proximalen Tubuli vergrößert. Sie besitzen große, oft unregelmäßig gestaltete Kerne. Das Cytoplasma ist in diesen Stadien etwas aufgehellt, feinkörnig; später lassen sich hier zunehmend hyaline Tropfen erkennen. In den basalen Zellabschnitten trifft man mitunter eine geringgradige fein- bis mittelgrobtropfige Verfettung. Zur gleichen Zeit findet man teils in den Epithelien und teils in den Tubuluseinbuchtungen kristalline mehr oder weniger kugelförmige Gebilde, die manchmal eine konzentrische Schichtung erkennen lassen. Die Zahl dieser Konkremente nimmt im Laufe der Zeit dauernd zu. Von der 5.—6. Versuchswoche an treten in den vergrößerten Kernen säurefeste, acidophile, runde Einschlüsse auf. Sie sind zunächst unscharf begrenzt, lassen sich aber

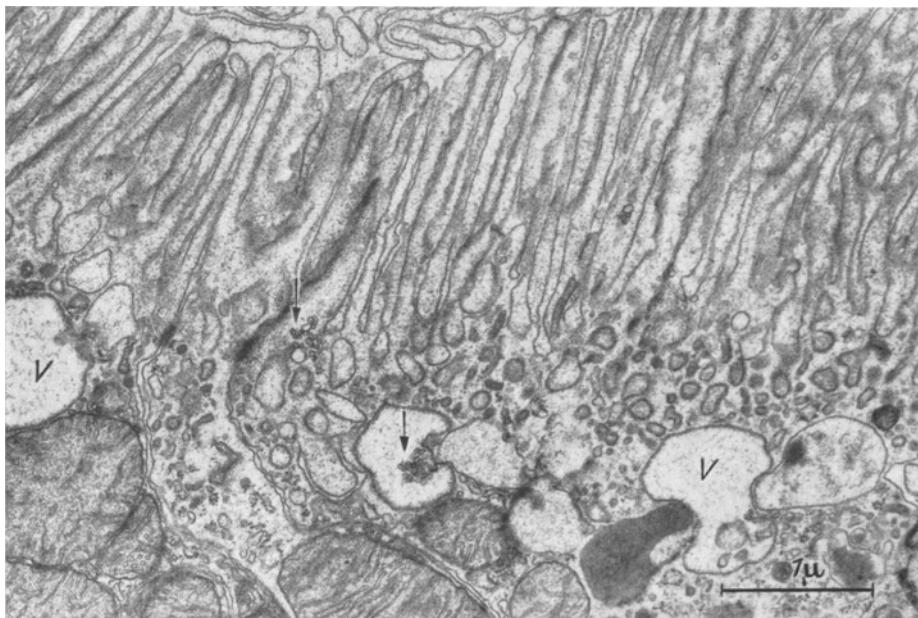


Abb. 1. Apikale Anteile von Hauptstückepithelzellen nach zweiwöchiger Bleiintoxikation mit Ausbildung zahlreicher Vesikel (↗) sowie kleinerer und größerer Vacuolen (V) im Cytoplasma unter dem Bürstensaum. Vergr.: 19 500fach

vom etwas vergrößerten, schwächer angefärbten Nucleolus unterscheiden. Im weiteren Verlauf nimmt die Zahl der Kerne mit Einschlüssen zu. Die Einschlüsse vergrößern sich und erreichen einen Durchmesser bis zu 6—8 μ . Sie sind dann scharf begrenzt, nehmen eine kugelige Form an und zeigen oft eine konzentrische Schichtung. Die Mittelstücke und Henlesche Schleifen sind vornehmlich in späten Versuchsstadien leicht erweitert. Cystenbildungen, wesentliche proliferative Veränderungen oder Tumorbildungen (ZOLLINGER b; TÖNZ) konnten wir in unserem Material nicht beobachten.

2. Elektronenmikroskopische Befunde

Während der glomeruläre Apparat in seiner submikroskopischen Struktur unverändert bleibt, findet man, entsprechend den lichtoptischen Befunden, auch elektronenmikroskopisch die Hauptveränderungen im Bereich der Hauptstückepithelien.

Schon nach 1—2 Wochen erscheint der *Bürstensaum* unregelmäßig und unruhig. Die Spalten zwischen den Mikrovilli sind etwas erweitert; die tubulären Invaginationen an der Basis des Bürstensaumes vertieft. Sie schnüren sich ab

und bilden im *Cytoplasma* des apikalen Zellpoles zahlreiche kleinere und größere Vacuolen, die z.T. konfluieren (Abb. 1). Bald kommt es zu einer diffusen Flüssigkeitseinlagerung in das Grundplasma, wobei die von Mikrovilli begrenzten apikalen Anteile einzelner Zellen aufgetrieben und in das Lumen vorgestülpt sein

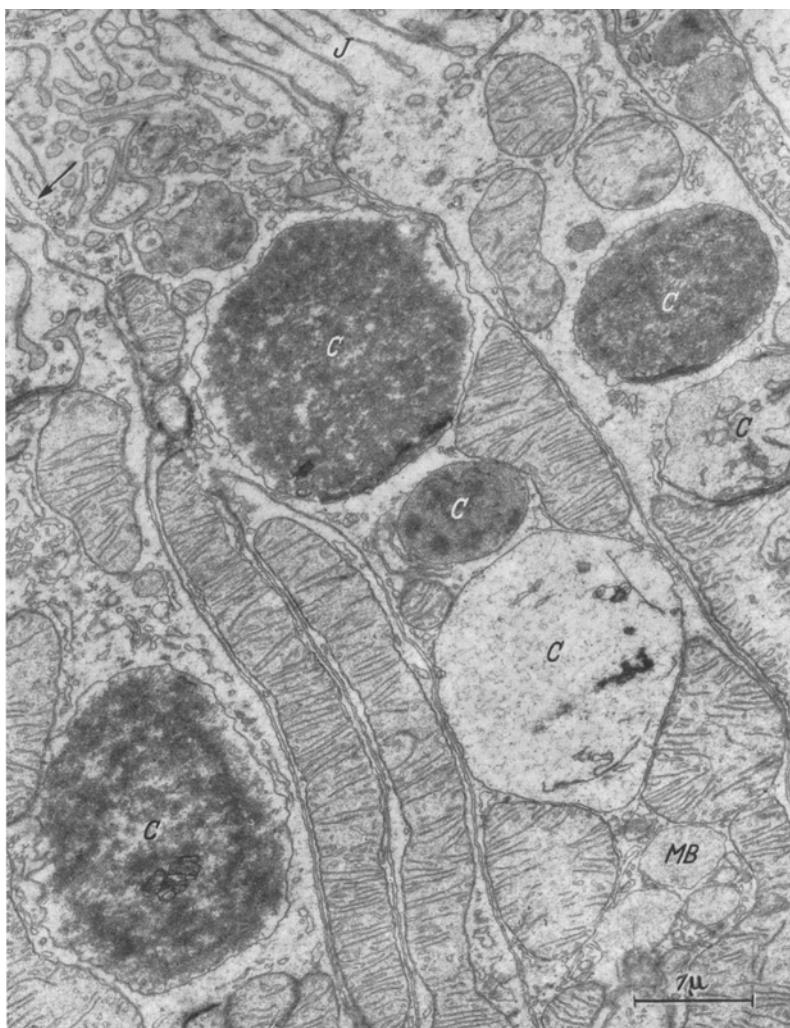


Abb. 2. Mehrere Cytosome (C) im Cytoplasma von Hauptstückepithelien mit unterschiedlich dichtem Inhalt. *I* Tubuläre Invaginationen an der Basis des Bürstensaumes, \nearrow Abschnürungen kleiner Bläschen, *MB* Microbody. Vergr.: 17000fach

können. Im Bereich solcher angeschwollenen apikalen Zellabschnitte sind die Mikrovilli — besonders in späteren Versuchsstadien — manchmal spindelig aufgetrieben, verkürzt oder völlig verschwunden. — Die basalen Labyrinth sind nur gelegentlich etwas erweitert. Die Basalmembran der proximalen Tubuli zeigt im allgemeinen eine regelrechte Dicke. Nur vereinzelt sind hernienartige Vorstülpungen in das basale Labyrinth zu beobachten.

Bereits in den ersten Versuchswochen treten im Cytoplasma reichlich runde bis ovale, von einer einfachen Membran begrenzte Körper auf, welche offenbar den *Cytosomen* entsprechen (Abb. 2). Sie nehmen im Laufe der Zeit an Zahl und Größe zu und liegen vornehmlich in zentralen und basalen Abschnitten der Zelle. Diese Gebilde besitzen eine unterschiedlich dichte, teils homogene und

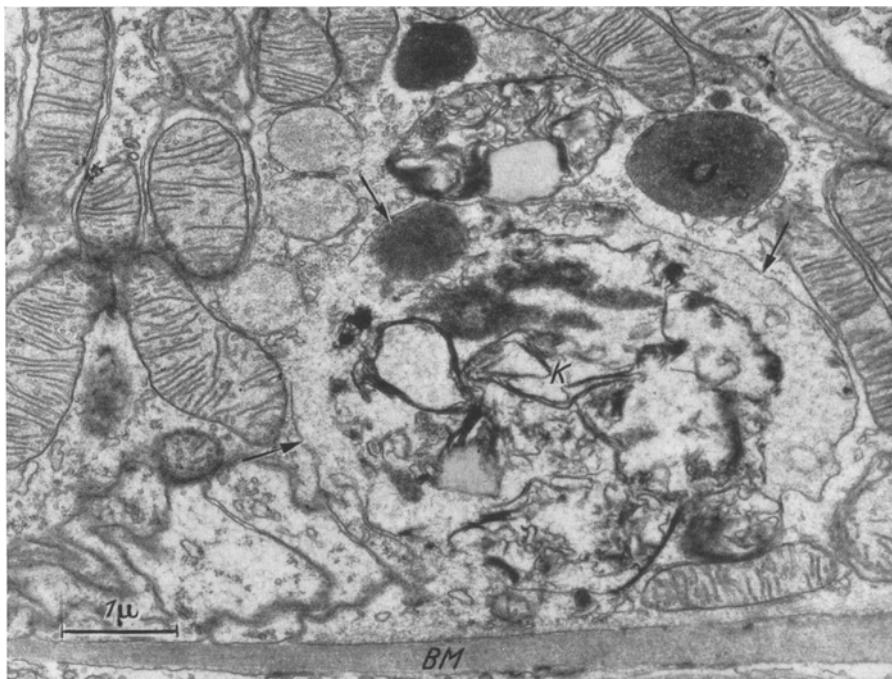


Abb. 3. Komplex gebauter Körper (K) mit einer einfachen Grenzmembran an der Peripherie (↗) in einer Hauptstückepithelzelle. BM Tubuläre Basalmembran. Vergr.: 14 000fach

teils feinstgranulierte Grundsubstanz, in der häufig ein körniges, fädiges oder lamelläres osmiophiles Material eingelagert ist. Manchmal enthalten sie reichlich Myelinfiguren; gelegentlich ist die Matrix vacuolig aufgehellt. Strukturen, die auf eine mitochondriale Genese hinweisen, konnten in ihnen nicht beobachtet werden.

Außer diesen einfachen Cytosomen trifft man häufig — und zwar besonders in späteren Versuchsstadien — größere, *komplex gebaute Körper* (Abb. 3—5). Sie liegen meistens in basalen Zellabschnitten und besitzen eine mehr oder weniger runde, häufig aber auch unregelmäßige Form. Fast immer erkennt man an ihrer Peripherie eine einfache Grenzmembran. Sie enthalten Einlagerungen von unterschiedlicher Dichte und Struktur. Häufig handelt es sich hierbei um konzentrisch geschichtete, osmiophile Lamellen oder um Tropfen und Schollen eines elektronendichten Materials. Gelegentlich sind auch doppelt konturierte membranartige Gebilde zu erkennen, die mehr oder weniger an Mitochondrienreste oder an veränderte Membranen des endoplasmatischen Reticulums erinnern (Abb. 4, 5).

Weiterhin findet man im Cytoplasma mitunter umschriebene, manchmal büschelartig angeordnete Ablagerungen feiner nadelförmiger *Kristalle* (Abb. 6). Diese kristallinen Ablagerungen erfolgen offenbar im Bereich der beschriebenen komplexen Körper und lassen oft an ihrer Peripherie noch eine einfache Grenzmembran erkennen (Abb. 6b). Sie vergrößern sich durch ein appositionelles



Abb. 4. Komplex gebauter Körper mit lamellären (L), tropfigen (T) und körnigen (G) Strukturen im Inneren sowie einfacher Grenzmembran an der Peripherie (↗). Vergr.: 30000fach

Wachstum und bilden dann die lichtmikroskopisch sichtbaren, eigentümlichen konzentrischen Konkremente, die durch Abstoßung oder durch den Zerfall der betreffenden Zelle in die Tubuluslichtung gelangen können (Abb. 7).

Die *Mitochondrien* scheinen während der ganzen Versuchszeit von den ultrastrukturellen Veränderungen am wenigsten betroffen zu sein. Auch in Stadien mit voll ausgebildeten Cytosomen sowie nach dem Auftreten der übrigen Cytoplasmaschädigungen weisen die Mitochondrien einen regelrechten Aufbau auf.

Nur in späteren Stadien trifft man ganz vereinzelt Mitochondrien, die Zeichen einer geringgradigen Schwellung mit einer Herauslösung der Matrixsubstanzen und einen partiellen Schwund der Cristae zeigen. Dann sind mitunter, meist auch degenerativ veränderte, Mitochondrien bzw. ihre Zerfallsprodukte in dem beschriebenen komplexen Körper zu erkennen.

Die Zellkerne der Hauptstückepithelien sind bereits nach 3—4 Wochen deutlich vergrößert und unregelmäßig gestaltet. Oft besitzen sie große, dichte Nucleo-

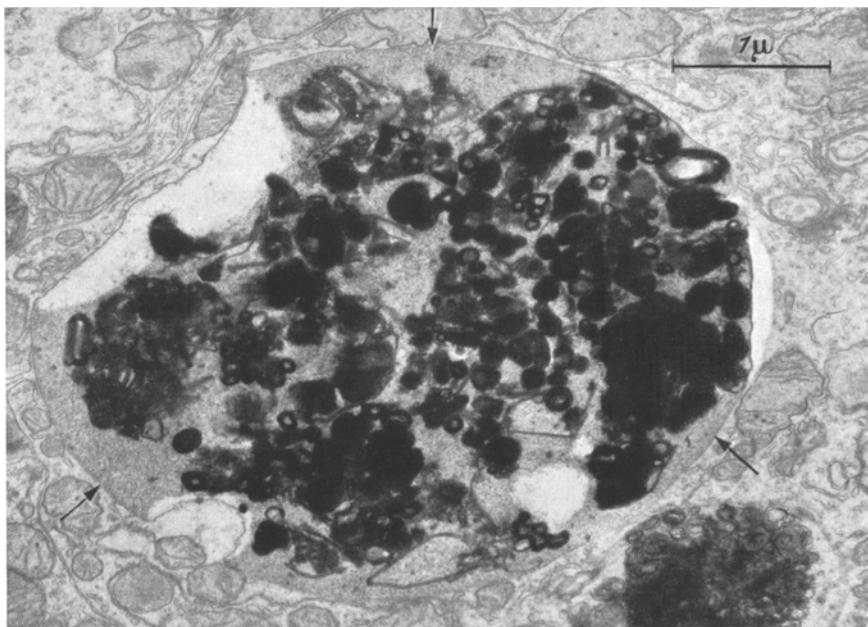


Abb. 5. Komplex gebauter Körper mit zahlreichen Myelinfiguren. ↗ Grenzmembran. Vergr.: 20000fach

len. Im weiteren Verlauf zeigt sich in vielen Kernen eine Aufhellung des Karyoplasmas und eine Ausbildung von charakteristischen Einschlüssen. In unseren Versuchen konnten wir elektronenoptisch *zwei Arten von Kerneinschlüssen* beobachten, die wir als *corpusculäre und cytoplasmatische Einschlüsse* bezeichnen möchten. Die *corpusculären Kerneinschlüsse* treten frühestens nach 1 Monat als kleine, rundliche bis ovale Ansammlungen eines feingranulären osmiophilen Materials zwischen dem Nucleolus und der Kernmembran auf (Abb. 8a). Sie vergrößern sich verhältnismäßig rasch, bis sie schließlich einen großen Teil des Kernes ausfüllen. Je nachdem ob die Einschlüsse monozentrisch oder multi-zentrisch innerhalb ein und desselben Kernes entstanden sind, besitzen sie in den Endstadien eine rundliche oder unregelmäßige Form (Abb. 8b, 9). In dem Aufbau eines voll entwickelten corpusculären Einschlusses lassen sich eine feingranuläre und eine fädige Komponente voneinander abgrenzen. Die granuläre Komponente bildet nach wie vor die zentralen Abschnitte des Einschlusses. Das fädige Material durchdringt einerseits streckenweise die granuläre Masse; andererseits bildet es an der Peripherie in Form eines verschiedenen breiten Saumes ein

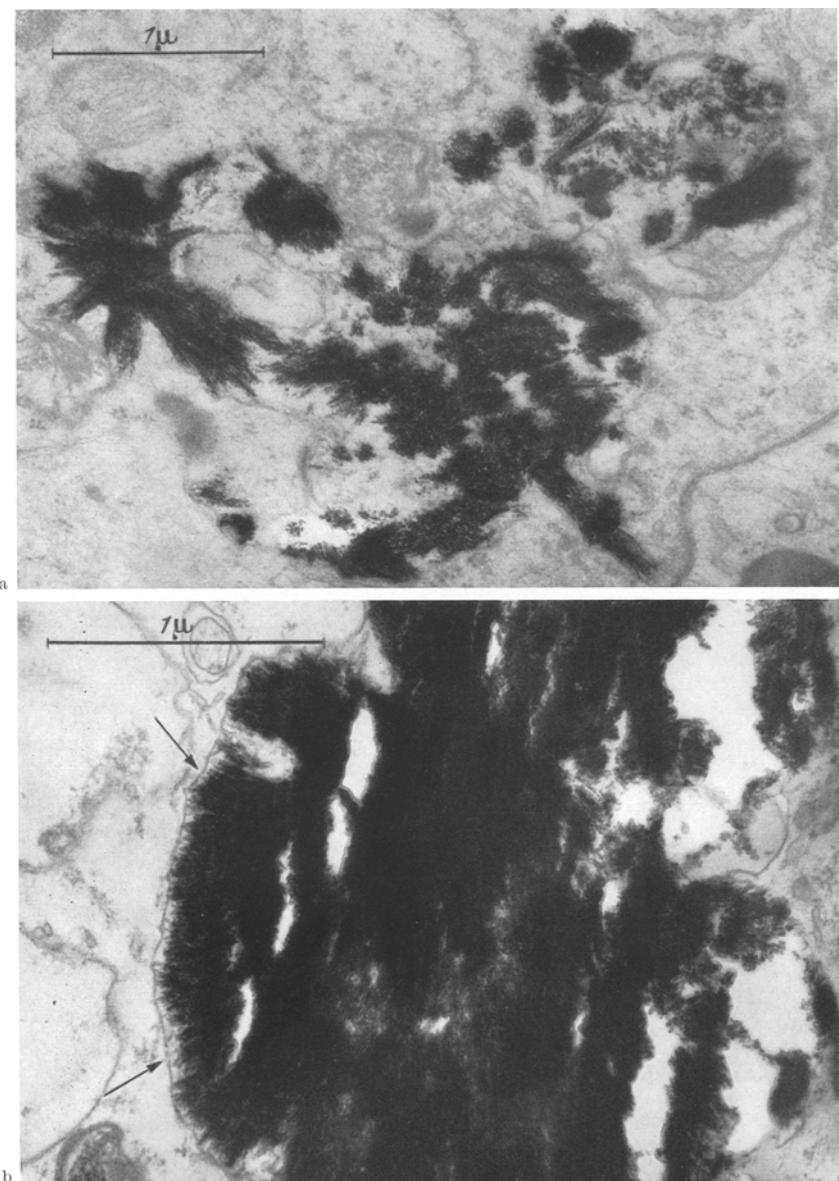


Abb. 6. a Büschelartige Ablagerungen feiner nadelförmiger Kristalle in der Tubulusepithelzelle. Vergr.: 30 000fach.
 b Kristalline Ablagerungen mit einer einfachen Grenzmembran (↗) an der Peripherie. Vergr.: 40 000fach

verhältnismäßig dichtes Filzwerk, dessen Fäden sich im angrenzenden Karyoplasma verlieren (Abb. 8 b, 9). In den nicht kontrastierten Schnitten konnten innerhalb der Einschlußkörper keine stärker elektronenstreuende, etwa einem Schwermetall entsprechende Partikel nachgewiesen werden. — Die *cytoplasmatischen Kerneinschlüsse*, die erst nach etwa 8—9 Wochen auftreten, fanden wir

bevorzugt in den Epithelien von distalen Hauptstückabschnitten. Sie bestehen aus Anteilen des Cytoplasmas und enthalten — meist degenerativ veränderte — Mitochondrien, Membranen des endoplasmatischen Reticulums, Ribosomen sowie Fetttröpfchen (Abb. 10). An ihrer Peripherie lässt sich sehr häufig eine noch mehr oder weniger erhaltene, von Poren durchsetzte, doppelt konturierte Kernmembran

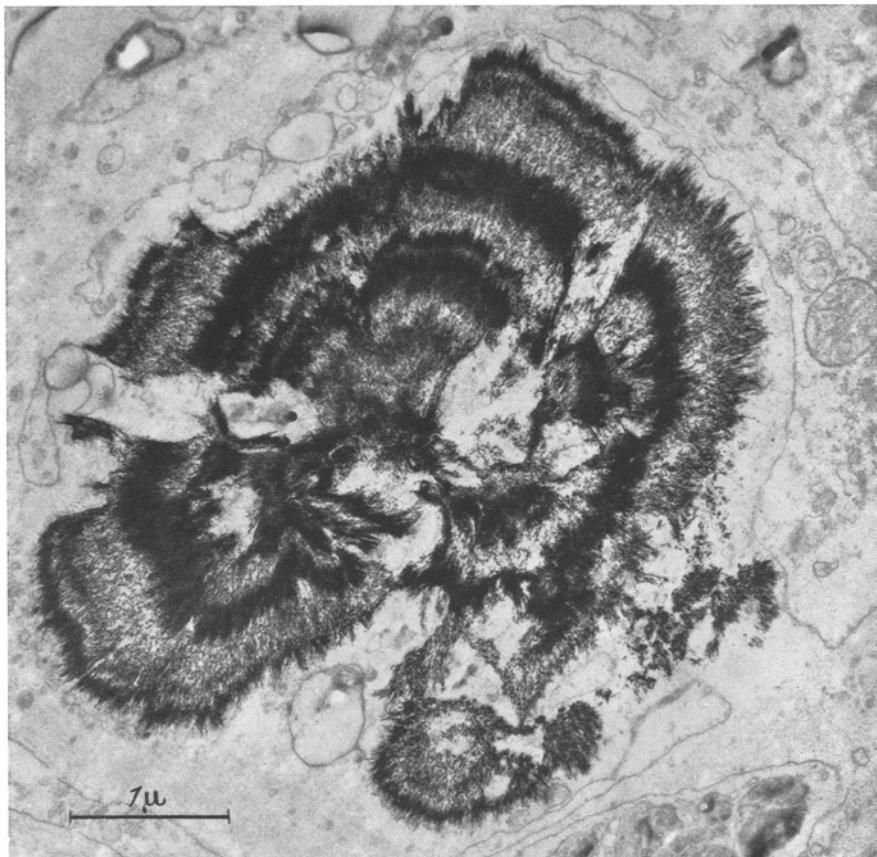


Abb. 7. Konzentrisch geschichtetes Blei-Calcium-Konkrement in der Tubuluslichtung. Vergr.: 20000fach

nachweisen. Bei einer geeigneten Schnittrichtung stellt sich nicht selten noch eine Verbindung solcher Einschlüsse mit dem übrigen Cytoplasma dar. Oft trifft man auf Kerne, die beide Arten von Einschlüssen enthalten (Abb. 10a).

Diskussion

1. Welche submikroskopischen Tubulusveränderungen treten bei der chronischen experimentellen Bleiintoxikation auf, und wie sind diese Schädigungen zu deuten?

Die nach 1—2 Wochen an den *Bürstensäumen* der Hauptstückepithelien erscheinenden Veränderungen weisen auf eine gesteigerte Pinocytose hin und führen im angrenzenden *Cytoplasma* zu zahlreichen kleineren und größeren Vacuolen. Dabei handelt es sich offenbar um die Zeichen einer vermehrten resorp-

tiven Tätigkeit der Tubuluszellen (MILLER a, b; MÖLBERT, HUHN u. BÜCHNER u.a.). Die beschriebene allgemeine Aufhellung des Grundcytoplasmas ist als Ausdruck einer vermehrten Flüssigkeitsaufnahme und -einlagerung anzusehen. Da solche diffusen oder vesiculären Flüssigkeitseinlagerungen bei fast allen Schädigungen des Tubulusepithels beobachtet wurden (TRUMP u. JANIGAN), deuten wir sie als erste Zeichen einer nephrotoxischen Einwirkung des Bleis.

Die elektronenmikroskopische Struktur der bald danach im Cytoplasma reichlich auftretenden *Cytosomen*, welche sich allmählich vergrößerten und dann auch lichtmikroskopisch als sog. hyaline Tropfen zu erkennen waren, deutete darauf hin, daß sie sich vornehmlich aus Proteinen aufbauen. Außerdem enthielten sie häufig zusätzlich Lipide bzw. Lipid-Eiweißgemische. Ähnliche Gebilde wurden in den Hauptstückepithelien auch nach Einweißinjektionen (MILLER a, b; ANDERSON u. RECANT u.a.) oder bei Proteinurien anderer Genese (FISHER u.a.) sowie bei verschiedenen Vergiftungen wie bei Uranylinitrat- (STONE u. Mitarb.), Sublimat- (MÖLBERT, HUHN u. BÜCHNER), Äthylenglykol- (DAVID u. UERLINGS) und Dioxanvergiftung (DAVID) beschrieben. Wie schon aus diesen Angaben hervorgeht, lassen sich für das vermehrte Auftreten von Cytosomen mehrere Möglichkeiten in Betracht ziehen:

Grundsätzlich wäre es *erstens* möglich, daß im Verlauf einer Bleiintoxikation vermehrt Eiweiß durch die Glomerula ausgeschieden wird und dadurch zwangsläufig eine vermehrte Rückresorption in den Hauptstückepithelien eintritt. Diese Annahme erscheint aber insofern wenig wahrscheinlich, weil, wie bereits erwähnt, an den Glomerula keine für eine erhöhte Eiweißpermeabilität kennzeichnende ultrastrukturellen Veränderungen vorhanden sind. Einleuchtender ist die *zweite* Möglichkeit, daß bei einem an sich normalen Eiweißgehalt des Primärharns die Verarbeitung des von den Hauptstückepithelien resorbierten Eiweißes durch

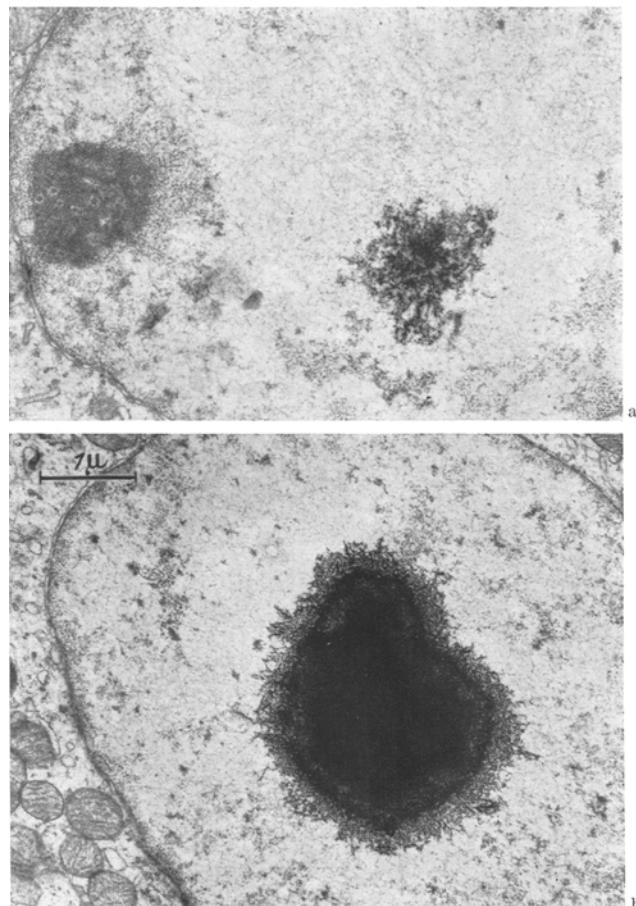


Abb. 8a u. b. Corpusculäre Einschlüsse in den vergrößerten Zellkernen der Hauptstückepithelien. a im Frühstadium; b im fortgeschrittenen Stadium. Vergr.: 12000fach

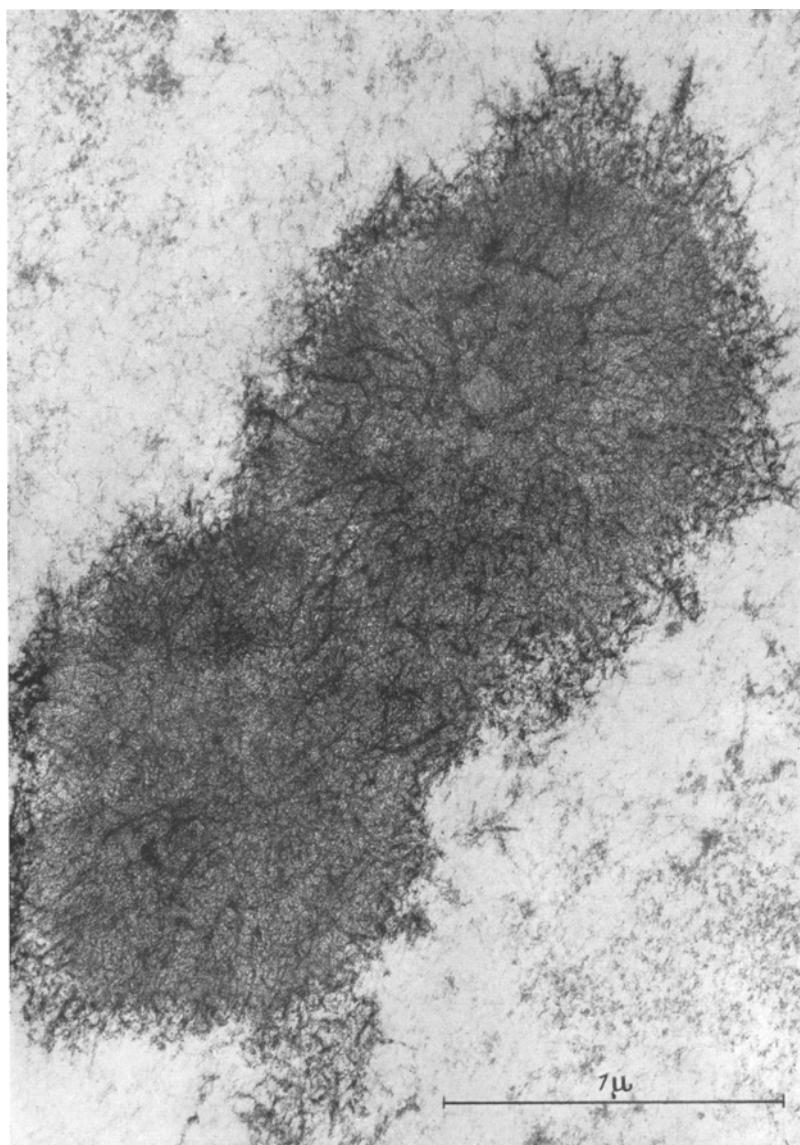


Abb. 9. Größerer corpusculärer Kerneinschluß, der sich aus einer granulären und einer fädigen Komponente zusammensetzt. An der Peripherie ein verhältnismäßig dichtes, einem Mycel vergleichbares Filzwerk.
Vergr.: 50000fach

eine toxische Zellschädigung gestört ist und diese Proteine allmählich im Cytoplasma in Form von Cytosomen liegen bleiben. Neuere Untersuchungen (DAVID) weisen nämlich darauf hin, daß ein Teil des Eiweißes schon normalerweise durch die Glomerula filtriert und in den Hauptstückepithelien rückresorbiert wird. Daher sind vereinzelte Eiweißtropfen bzw. Cytosomen stets auch in normalen Hauptstückepithelien vorhanden. Die toxische Schädigung der Tubuluszelle würde demnach — wenigstens in den Anfangsstadien — zu ähnlichen Bildern führen wie ein erhöhtes Eiweißangebot. Die Folgen sind in beiden Fällen zunächst weitgehend übereinstimmend und äußern sich einerseits in einer Proteinurie und andererseits in einem vermehrten Auftreten von Cytosomen bzw. hyalinen Tropfen. Dabei wäre *drittens*

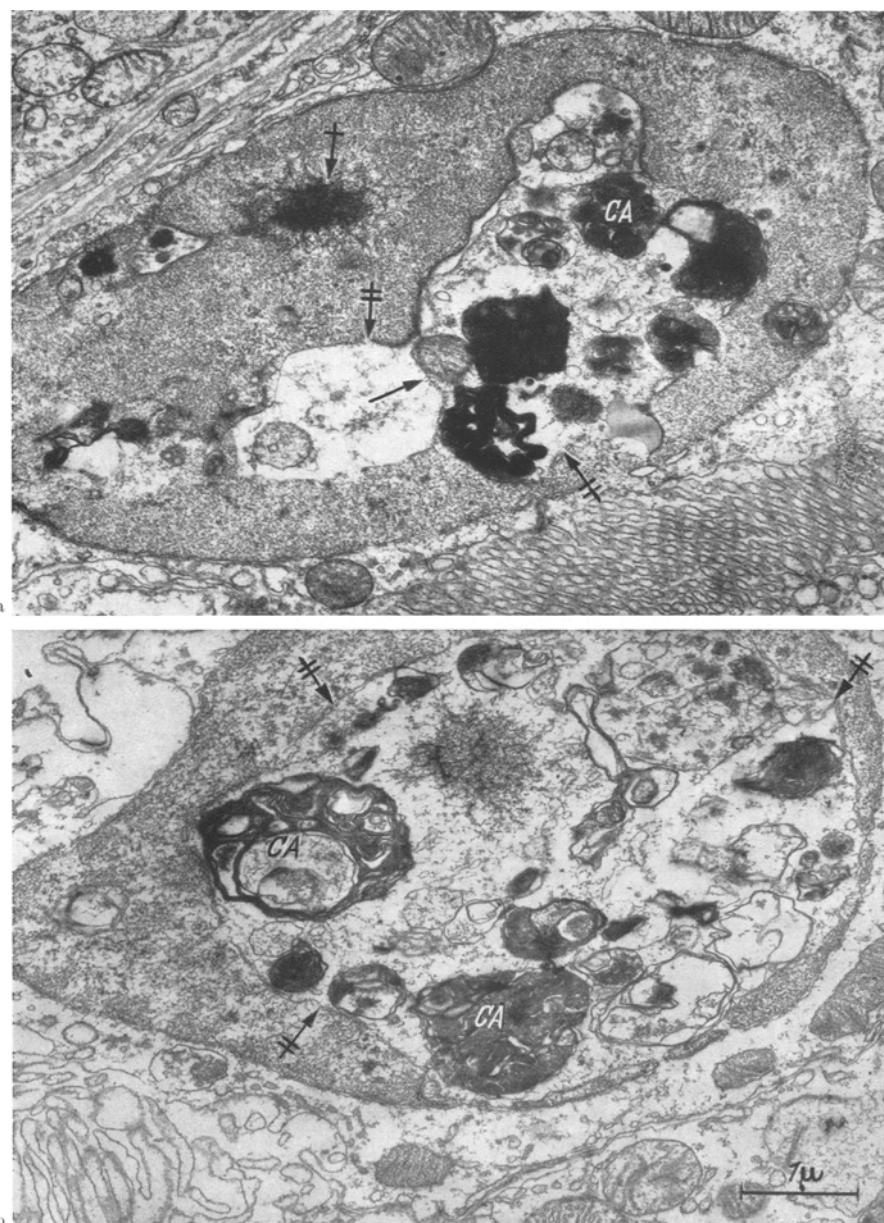


Abb. 10a u. b. Cytoplasmatische Kerneinschlüsse in Hauptstückepithelien. In ihrem Bereich sind u.a. Mitochondrien (↗), Ribosome und osmiophile degenerierte Cytoplasmaanteile (CA) erkennbar. Außerdem in einem Kern (Abb. 10a) ein corpusculärer Einschluß (↓). Reste der Kernmembran (↑) an der Peripherie der Einschlüsse.
Vergr.: 15 000fach

die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß das Blei vielleicht als Blei-Protein-Komplex ausgeschieden und von den Hauptstückepithelzellen aufgenommen wird, daß diese Zellen aber nicht in der Lage sind, die Bleiproteinverbindung zu verarbeiten. Der fehlende Bleinachweis in den Cytosomen muß nicht unbedingt gegen diese Hypothese sprechen, da das Metall offenbar in einer relativ niedrigen Konzentration vorliegt und deshalb u.U. dem Nachweis

entgehen könnte. Vor allem ist aber *viertens* daran zu denken, daß die Entstehung eines Teiles der Cytosomen unmittelbar durch eine Fällung und Abscheidung zelleigener Proteine verursacht wird, zumal Blei ähnlich wie andere Schwermetalle ein starkes Proteinfällungsmittel ist und als solches therapeutisch als Adstringens verwendet wurde.

Welche der genannten Möglichkeiten für die vermehrte Entstehung der Cytosomen entscheidend ist, läßt sich anhand unserer Experimente nicht verbindlich sagen. Aus den genannten Gründen möchten wir die toxischen Zellschädigungen, welche sich sowohl in einer Störung der Proteinrückresorption als auch in einer Fällung der zelleigenen Proteine äußern kann, die größte Bedeutung beimessen.

Die *komplex gebauten Körper* fassen wir als umschriebene nekrobiotisch veränderte Cytoplasmabezirke auf, wobei die betroffenen Zellanteile vom übrigen, nicht oder weniger geschädigten Cytoplasma demarkiert werden. Solche umschriebenen Cytoplasmauntergänge wurden von HRUBAN u. Mitarb. als „focal cytoplasmic degradations“ bezeichnet. Nach ihrem submikroskopischen Aussehen erinnern diese Körper weitgehend an Cytolyse (NOVIKOFF). Bei der Bleiintoxikation sind solche Veränderungen noch nicht beschrieben worden. Ihr herdförmiges Auftreten dürfte ebenfalls auf die toxische Einwirkung des Bleis zurückzuführen sein, das offenbar in einer unterschiedlichen Konzentration in den verschiedenen Zellabschnitten vorliegt. Eine Konfluenz mehrerer Cytosomen, die DAVID u. UERLINGS bei Äthylenglykolvergiftung beschrieben haben, konnten wir in unserem Material nicht sicher nachweisen.

In den Spätstadien der Bleiintoxikation beobachteten wir im Cytoplasma, und zwar vornehmlich in den komplexen Körpern, *kristalline Ablagerungen*, die mitunter durch den Zerfall der Zellen in die Tubuluslichtungen gelangten. Während sich in ihnen histochemisch entsprechend den Angaben von EGER sowie ISING und VOIGT Blei, Calcium und Phosphate nachweisen ließen, ist uns ihre genauere elektronenoptische Analyse bisher nicht gelungen. In Anbetracht des bekannten Parallelismus zwischen Blei und Calcium hinsichtlich der Bindungsform, des Transportes, der Verteilung und Ausscheidung (FLURY; ISING u. VOIGT) ließ es sich nicht entscheiden, ob es sich bei den beschriebenen Blei-Calcium-Konkrementen primär um Calciumablagerungen im Sinne einer dystrophischen Verkalkung handelte, in die sekundär Blei eingelagert wurde, oder ob primär eine Bleiablagerung erfolgte, in der dann Calcium sekundär auftrat.

Das *Chondriom* wurde während der Bleivergiftung, im Gegensatz zu den Beobachtungen von BEAVER sowie von ANGEVINE u. Mitarb. am wenigsten in Mitleidenschaft gezogen. Veränderungen der Mitochondrien, wie sie bei anoxischen Schädigungen in der Leber, am Herzmuskel (Literatur bei MÖLBERT, HUHN u. BÜCHNER) und in der Niere (THOENES) gesehen wurden, beobachteten wir in unseren Versuchen nicht. Die kürzlich von WATRACH in den Leberzellen bleivergifteter Schweine beschriebenen Mitochondrientransformationen konnten wir in der Niere ebenfalls nicht nachweisen. Aus der geringen Mitochondrienbeteiligung geht hervor, daß sich die formale Genese der Tubulusschädigungen bei der Bleiintoxikation, ähnlich wie bei der Sublimatvergiftung (MÖLBERT, HUHN u. BÜCHNER) offenbar grundsätzlich von der bei einer anoxämischen Zellschädigung unterscheidet. Das Fehlen primärer Mitochondrienschädigungen bei der Bleiintoxikation stimmt ferner gut mit den Befunden von LANGE und FINGERHUT

überein, die bei Versuchen mit dem radioaktiven Bleisotop Pb 210 keine wesentliche Aktivitätserhöhung in Mitochondrienfraktionen aus der Niere feststellen konnten.

Unsere elektronenmikroskopischen Befunde an den *corpusculären Kerneinschlüssen* (den sog. „direkten“ Einschlüssen nach MÜLLER u. STÖCKER) decken sich weitgehend mit den Beobachtungen von PORTE und BATZENSCHLAGER, BEAVER sowie ANGEVINE u. Mitarb. Die Natur der Einschlüsse sowie ihre formale Genese konnten allerdings auch von uns nicht geklärt werden. Eine histochemische Analyse der Einschlüsse ist elektronenmikroskopisch bisher nicht möglich. Die elektronenoptischen Befunde stehen jedoch mit der Annahme durchaus im Einklang, daß es sich um abgelagerte Eiweißkörper (KILHAM u. Mitarb.; MÜLLER u. v. RAMIN) handelt, die zusätzlich Lipide bzw. Lipoproteine enthalten (WACHSTEIN b; WOLMAN; BRACKEN u. Mitarb.). Der indirekte histochemische Nachweis von Schwermetallsulfiden in einem Teil der Kerneinschlüsse bei chronischer Bleivergiftung (ISING u. VOIGT, b) spricht dafür, daß die Einschlüsse wahrscheinlich auch Blei enthalten. Ein direkter histochemischer oder elektronenmikroskopischer Nachweis von Blei ist uns genau wie den anderen Untersuchern bis jetzt jedoch nicht gelungen*.

Bei den *cytoplasmatischen Kerneinschlüssen* handelt es sich eigentlich um Cytoplasmaeinstülpungen in den Kern, wie es auch MÜLLER u. v. RAMIN aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen angenommen hatten. Ganz entsprechende cytoplasmatische Kerneinschlüsse wurden in den Leberzellen nach einer Colchicinvergiftung (WESSEL) oder nach der Gabe von Thioacetamid (THOENES, dort weitere Literatur) beschrieben. Die Entstehung cytoplasmatischer Kerneinschlüsse bei der chronischen Bleivergiftung ist genau wie die Ausbildung von Groß- und Riesenkernen in den distalen Abschnitten der Hauptstücke auf die bekannte Eigenschaft des Bleis als Kern- bzw. Mitosegift zurückzuführen (ZOLLINGER a, b; TÖNZ; MÜLLER u. v. RAMIN). Aufgrund unserer Untersuchungen erscheint uns aber weniger wahrscheinlich, daß die Cytoplasmabestandteile während der Mitose bzw. bei der postmitotischen Restitution in den Kern eingelagert werden. Die Tatsache, daß sich bei einer geeigneten Schnittrichtung häufig noch eine Verbindung des von der Kernmembran umgebenden Einschlusses mit dem übrigen Cytoplasma darstellen läßt, spricht u. E. dafür, daß die Einschlüsse durch eine Einstülpung der Kernmembran am geschädigten Ruhekern (intermitotischen Kern) zustande kommen, wie das auch bei der Colchicin- und Thioacetamidvergiftung oder bei einigen Tumoren (WESSEL) angenommen wird.

2. Ergeben sich Anhaltspunkte für den Ausscheidungsweg des Bleis durch die Niere?

Da in unseren Untersuchungen außer in den beschriebenen Inkrustationen an keiner Stelle ein stärker elektronenstreuendes Material festgestellt wurde, das etwa dem metallischen, anorganischen oder organisch gebundenen Blei entsprechen könnte, war es mit unseren Methoden nicht möglich, den *Ausscheidungsweg*

* In einer während des Druckes erschienenen Arbeit (Virch. Arch. path. Anat. 338, 91—110, 1964) konnte F. D. DALLENBACH durch histoautoradiographische Untersuchungen den Nachweis erbringen, daß in den Kerneinschlüssen Blei vorhanden ist.

des Bleis durch die Niere elektronenmikroskopisch zu demonstrieren. Offenbar ist das Blei so fein verteilt, daß es unter einer elektronenmikroskopisch nachweisbaren Konzentration oder Teilchengröße bleibt. Nach wie vor können wir deshalb in dieser Hinsicht nur Hypothesen erörtern: So ist zwar anzunehmen, daß mindestens ein Teil des Bleis glomerulär filtriert und in den Tubulusepithelien rückresorbiert wird (MIANI u. VITERBO; TIMM u. ARNOLD; VOIGT u. JONSSON). Die Tatsache, daß die Glomerula keinerlei Zeichen einer Schädigung aufweisen, darf nicht gegen den wahrscheinlich hier stattfindenden Bleidurchtritt angeführt werden, da die filtrierten Stoffe nicht unbedingt mit den cellulären Bestandteilen in Berührung kommen und sie schädigen müssen (DAVID). Außerdem ist anzunehmen, daß die Konzentration des Bleis im glomerulären Filtrat noch zu niedrig ist, um schon hier regressive Veränderungen hervorzurufen. Erst in Tubulusepithelien, wo eine höhere Konzentration erreicht wird (MIANI u. VITERBO) treten dann Zellschädigungen auf. Eine zusätzliche Ausscheidung des Bleis aus den peritubulären Capillaren durch das Epithel der Hauptstücke in das Tubuluslumen, die an sich durchaus wahrscheinlich ist und bei Quecksilber beobachtet werden konnte (BERGSTRAND u. Mitarb.), ließ sich beim Blei bisher noch nicht nachweisen.

3. Welche Beziehungen bestehen zwischen den tierexperimentellen Befunden und den Beobachtungen bei bleivergifteten Menschen?

Bei der Übertragung der tierexperimentellen Ergebnisse auf die Humanpathologie ist erfahrungsgemäß stets eine gewisse Zurückhaltung geboten. Auch unsere Befunde können nur bedingt mit den Nierenveränderungen bei einer Bleivergiftung des Menschen verglichen werden. So ist es seit langem bekannt, daß bei der Bleiniere der *erwachsenen Menschen* Gefäßveränderungen mit Ausbildung einer vasculären Schrumpfniere im Vordergrund stehen. Diese Gefäßprozesse scheinen allerdings z. T. als Folge einer bleibedingten Hypertonie zustande zu kommen (MOESCHLIN). Demgegenüber wurden degenerative Veränderungen am Tubulusapparat, die etwa den experimentellen Bleischädigungen entsprechen, beim Erwachsenen nur selten beschrieben (BROGSITTER u. WODARZ). — Bei *bleivergifteten Kindern* dagegen sind die Obduktionsbefunde an den Nieren weitgehend den tierexperimentellen Ergebnissen ähnlich (BLACKMAN; WACHSTEIN a. u. a.). Auch klinisch lassen sich fast immer Zeichen einer Schädigung der Hauptstückepithelien nachweisen (MARDEN u. WILSON; CHISOLM u. LEAHY; ANGEVINE u. Mitarb.). Diese Diskrepanz der Obduktionsbefunde an den Nieren bei Erwachsenen und Kindern könnte durch eine unterschiedliche Dosis und Expositionzeit bedingt sein. Die Bleivergiftungen der Kinder verlaufen — ähnlich wie in den vorliegenden Tierexperimenten — meistens subakut bis subchronisch. Die Kinder sterben dann offenbar ehe sich die Gefäßveränderungen ausgebildet haben. Die Tatsache, daß degenerative Veränderungen am Tubulusapparat bei einer Bleivergiftung der Erwachsenen, denen meistens eine mehr chronische Intoxikation zugrunde liegt, seltener beobachtet werden sind als bei Kindern, spricht aber nicht unbedingt gegen die Möglichkeit, daß bei ihnen nicht vielleicht doch auch die gleichen, u. U. nur graduell etwas schwächer ausgeprägten Prozesse an den Tubuli erfolgen, zumal die neueren klinischen und bioptischen Befunde von ANGEVINE u. Mitarb. auf diese Annahme hinzuweisen scheinen.

4. Schlußbetrachtung

Betrachten wir abschließend unsere Befunde, so zeigt es sich, daß bei der Bleivergiftung der Ratte der primäre Schaden an den Hauptstückepithelien erfolgt, und zwar in Form einer *relativ leichten toxisch-degenerativen Nephrose*. Die Mitochondrien werden dabei zunächst — anders als bei den oxydationshemmenden Giften — nur wenig in Mitleidenschaft gezogen. Neben den Schädigungen der Zellkerne besteht der wesentliche Vorgang in einer Ansammlung und Abscheidung von Proteinen und Lipiden im Cytoplasma sowie im Auftreten umschriebener Cytoplasmauntergänge. Diffuse schwere Nekrosen der Tubulusepithelien, die bei den anderen Schwermetallvergiftungen, wie z. B. bei Sublimat- oder Uranylinitratvergiftungen, Zustände kommen, treten unter von uns verwendeten üblichen Versuchsbedingungen nicht auf. Andererseits weisen unsere Befunde aber darauf hin, daß die Schädigungen der Hauptstückepithelien bei der Bleiintoxikation in wesentlichen Punkten mit den Frühveränderungen bei der Sublimat- und Uranylinitrat-Nephrose übereinstimmen, so daß ein ähnliches oder vielleicht sogar ein gemeinsames pathogenetisches Prinzip angenommen werden könnte. Unterschiede ergeben sich eher in quantitativer als in qualitativer Hinsicht. Diese Feststellung ließe sich durch die Erfahrung erklären, daß das Blei im Organismus im allgemeinen schnell in unlöslicher Form im Knochensystem abgelagert wird und daher zum Unterschied zu den anderen genannten Schwermetallverbindungen in der Regel nur in einer relativ niedrigen Konzentration in die Niere gelangt.

Zusammenfassung

In den Hauptstückepithelien der Nieren bleivergifteter Ratten wurden elektronenmikroskopisch Schäden festgestellt. Als Ausdruck der toxischen Schädigung des *Cytoplasmas* fanden sich zunächst eine vermehrte Pinocytoseaktivität und diffuse Flüssigkeitseinlagerung im Grundplasma, dann vermehrte Cytosomen und komplex gebaute Körper, die offenbar durch herdförmige Schädigungen des Cytoplasmas entstehen. Umschriebene Kristallablagerungen, die sich in geschädigten Cytoplasmabezirken bildeten, enthielten histochemisch sowohl Blei als auch Calcium und Phosphate. Sie vergrößerten sich durch appositionelles Wachstum zu konzentrisch geschichteten Konkrementen und gelangten schließlich zum Teil in die Tubuluslichtungen. In den vergrößerten unregelmäßig gestalteten Zellkernen wurden neben eiweiß- und lipidhaltigen corpuskulären Einschlüssen auch Cytoplasmaeinstülpungen beobachtet. Die Glomerula und Mitochondrien zeigten keine nennenswerten Veränderungen.

Die formale Genese der Tubulusepithelschädigungen bei einer Bleiintoxikation unterscheidet sich also grundsätzlich von den anoxämischen Zellschädigungen.

Electron Microscopic Studies of the Renal Tubule in Experimental Chronic Lead Poisoning of the Rat

Summary

Damage was revealed electron-microscopically in the epithelial cells of the proximal renal tubule of lead poisoned rats. As an expression of toxic damage of the *cytoplasm*, there was at first an increased diffuse edema of the ground

plasma, then increased numbers of cytosomes and bodies of complex structure were found, which apparently developed by means of focal damage to the cytoplasm. Localized deposits of crystals, which formed in damaged regions of the cytoplasm, contained lead histochemically as well as calcium and phosphate. They enlarged by appositional growth to concentrically layered concretions, and some ended up finally in the tubular lumen. In the enlarged irregularly formed *cell nuclei*, in addition to protein and lipid containing corpuscular inclusions, cytoplasmic invaginations were also observed. The glomeruli and mitochondria showed no changes worthy of mention.

The formal genesis of the tubular epithelial cell damage by a lead intoxication is to be differentiated basically from an anoxemic cell damage.

Literatur

- ANDERSON, M. S., and L. RECENT: Fine structural alterations in the rat kidney following intraperitoneal bovine albumin. *Amer. J. Path.* **40**, 555—569 (1962).
- ANGEVINE, J. M., A. KAPPAS, R. L. DEGOWIN, and B. H. SPARGO: Renal tubular nuclear inclusions of lead poisoning. A clinical and experimental study. *Arch. Path.* **73**, 486—494 (1962).
- BEAVER, D. L.: The ultrastructure of the kidney in lead intoxication with particular reference to intranuclear inclusions. *Amer. J. Path.* **39**, 195—208 (1961).
- BERGSTRAND, A., L. FRIBERG, L. MANDEL, and E. ODEBLAD: The localization of subcutaneously administered radioactive mercury in the rat kidney. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 238 (1959).
- BLACKMAN jr., S. S.: Intranuclear inclusion bodies in the kidney and liver caused by lead poisoning. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **58**, 384—404 (1936).
- BRACKEN, E. C., D. L. BEAVER, and C. C. RANDALL: Histochemical studies of viral and lead-induced intranuclear bodies. *J. Path. Bact.* **75**, 253—256 (1958).
- BROGSITTER, A. A., u. H. WODARZ: Nierenveränderungen bei Bleivergiftung und Gicht. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **139**, 129—142 (1922).
- CHISOLM jr., J. J., and N. B. LEAHY: Aminoaciduria as a manifestation of renal tubular injury in lead intoxication and a comparison with patterns of aminoaciduria seen in other diseases. *J. Pediat.* **60**, 1—17 (1962).
- DAVID, H.: Elektronenmikroskopische Befunde bei der dioxanbedingten Nephrose der Ratteniere. *Beitr. path. Anat.* **130**, 187—212 (1964).
- , u. I. UERLINGS: Die Wirkung der Aethylenglykolvergiftung auf das submikroskopische Bild der Ratteniere. *Acta biol. med. germ.* **12**, 203—218 (1964).
- EGER, W.: Experimentelle Bleischrumpfniere. *Virchows Arch. path. Anat.* **299**, 655—666 (1937).
- FISHER, E. R.: Hyaline droplets of renal tubular and glomerular epithelium: Observations concerning their nature and derivation. *Exp. Mol. Path.* **3**, 304—319 (1964).
- FLURY, F.: Blei. In: *Handbuch der experimentellen Pharmakologie* (Hrsg. A. HEFFTER u. W. HEUBNER), Bd. 3/3, S. 1575—1889. Berlin 1934.
- HRUBAN, Z., B. SPARGO, H. SWIFT, R. W. WISSLER, and R. G. KLEINFELD: Focal cytoplasmic degradation. *Amer. J. Path.* **42**, 657—683 (1963).
- ISING, U., u. G. E. VOIGT: (a) Über das gleichzeitige Vorkommen von Calcium und Schwermetallen. *Acta path. microbiol. scand.* **42**, 228—234 (1958).
— (b) Histochemische Untersuchungen über die Verteilung des Bleis bei experimenteller Bleivergiftung. *Acta histochem.* **6**, 44—54 (1958).
- KILHAM, L., R. J. LOW, S. F. CONTI, and F. D. DALLENBACH: Intranuclear inclusions and neoplasms in the kidney of wild rats. *J. nat. Cancer Inst.* **29**, 863—885 (1962).
- LANG, H., u. M. FINGERHUT: Intracelluläre Verteilung von i.v. injiziertem Pb 210 in Kaninchenorganen. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* **235**, 41—50 (1958).
- MARSDEN, H. B., and V. K. WILSON: Lead-poisoning in children; Correlation of clinical and pathological findings. *Brit. med. J.* **1955 I**, 324—326.

- MIANI, N., e B. VITTERBO: Studio istoautoradiographico sulla localizzazione del piombo (RaD) in vari organi di cane. *Z. Zellforsch.* **49**, 188—208 (1958).
- MILLER, F.: Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **42**, 261—335 (1958).
- Hemoglobin absorption by the cells of the proximal convoluted tubule in mouse kidney. *J. biophys. biochem. Cytol.* **8**, 689—718 (1960).
- MÖLBERT, E., D. HUHN u. F. BÜCHNER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Tubulusepithel der Niere sublimatvergifteter Ratten. *Beitr. path. Anat.* **129**, 222—246 (1964).
- MOESCHLIN, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen, 3. Aufl. Stuttgart 1959.
- MÜLLER, A. H., u. D. v. RAMIN: Morphologie und Morphogenese der durch Schwermetalle (Pb, Bi) hervorgerufenen Kerneinschlüsse in den Hauptstückepithelien der Rattenniere. *Beitr. path. Anat.* **128**, 445—467 (1963).
- , u. E. STÖCKER: Autoradiographische Befunde an den „direkten“ Kerneinschlüssen im Hauptstückepithel der Rattenniere nach experimenteller Bleivergiftung. *Experientia (Basel)* **20**, 379 (1964).
- NOVIKOFF, A. B.: Lysosomes in the physiology and pathology of cells. In: *Lysosomes*. Ciba Found. Symp. (Hrsg. A. V. S. DE REUCK, and M. P. CAMERON), S. 36—77. London 1963.
- PORTE, A., et A. BATZEN SCHLAGER: Sur la formation d'inclusions intranucléaires provoquées par les sels de plomb dans les cellules des tubes contournés du rein. Ultrastructure et histochimie. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **155**, 125—127 (1961).
- STONE, R. S., S. A. BECOSME, H. LATTA, and S. C. MADDEN: Renal tubular fine structure studied during reaction to acute uranium injury. *Arch. Path.* **71**, 160—174 (1961).
- THOENES, W.: Mikromorphologie des Nephrons nach temporärer Ischämie. V. Internat. Congr. on Electron Microscopy, Philadelphia 1962, vol. II.
- Fett im Nucleolus. *J. Ultrastruct. Res.* **10**, 194—206 (1964).
- TIMM, F., u. A. ARNOLD: Histochemische Studien zur Ausscheidung des Bleisalzes der Äthylendiamintetraessigsäure durch die Rattenniere. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* **233**, 422—430 (1958).
- TÖNZ, O.: Nierenveränderungen bei experimenteller chronischer Bleivergiftung (Ratten). *Z. ges. exp. Med.* **128**, 361—377 (1957).
- TRUMP, B. F., and T. JANIGAN: Electron microscopic observations of the reactions to injury of renal tubules. *J. appl. Phys.* **31**, 1832 (1960).
- VOIGT, G. E. u. N. JONSSON: Das Sulfidsilberbild der Rattenniere bei akuten Metallsalzvergiftungen. *Beitr. path. Anat.* **124**, 351—360 (1961).
- WACHSTEIN, M.: (a) Lead-poisoning diagnosed by the presence of nuclear acid-fast inclusion bodies in kidney and liver. *Arch. Path.* **48**, 442—446 (1949).
- (b) Studies on inclusion bodies. I. Acid-fastness of nuclear inclusion bodies that are induced by ingestion of lead and bismuth. *Amer. J. clin. Path.* **19**, 608—614 (1949).
- WATRACH, A. M.: Degeneration of mitochondria in lead poisoning. *J. Ultrastruct. Res.* **10**, 177—181 (1964).
- WESSEL, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen von intranukleären Einschlüssekörpern. *Virchows. Arch. path. Anat.* **331**, 314—328 (1958).
- WOLMAN, M.: On the absence of deoxyribonucleic acid from some chemically-induced cytoplasmic and intranuclear inclusions, with reference to a special type of false positive staining by Feulgen's nuclear technique. *J. Path. Bact.* **68**, 159—164 (1954).
- ZOLLINGER, H. U.: (a) Beitrag zur Pathogenese der Einschlüssekörper. *Schweiz. Z. Path.* **14**, 446—455 (1951).
- (b) Durch chronische Bleivergiftung erzeugte Nierenadenome und -carcinome bei Ratten und ihre Beziehungen zu den entsprechenden Neubildungen des Menschen. *Virchows. Arch. path. Anat.* **323**, 694—710 (1953).

Dr. V. TOTOVIC
Pathologisches Institut der Universität
3550 Marburg a. d. Lahn, Robert-Koch-Str. 5