

Die sogenannte „Zuckerspeicherniere“
unter besonderer Berücksichtigung elektronenoptisch-autoradiographischer
Untersuchungen mit ^{14}C -Saccharose

H. P. ROHR und H. U. ZOLLINGER

Ludwig-Aschoff-Haus, Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.

Eingegangen am 7. Februar 1966

Der heutige Pathologe begegnet auf dem Sektionstisch nicht selten ausgesprochen großen, blassen, feuchten Nieren mit glatter Oberfläche und abnorm deutlich gezeichneter Schnittfläche (142 Fälle auf 10000 Autopsien, ZOLLINGER, 1965). In der Anamnese dieser Patienten ist stets eine Infusionstherapie mit Zuckerlösungen nachzuweisen. Einer unserer Patienten erhielt in 8 Tagen nicht weniger als 1,6 kg Zucker in Form von Glucoselösung, so daß wir heute mehr denn je geneigt sind, die intravenöse Zuckerinfusion als Ursache der Nierenveränderung anzusprechen (s. dagegen BREWER, 1961).

Die folgende zu beschreibende Strukturveränderung der Nierenhauptstücke scheint in der Regel funktionell keine vitale Bedeutung zu haben (s. a. SARRE und KNORR, 1963; ALLEN, 1962; LINDBERG et al., 1939). Geringgradige funktionelle Störungen bestehen jedoch einwandfrei, konnte doch GLOOR (1965) im Tierexperiment nicht nur eine reduzierte Phenolrotspeicherung, sondern auch eine sehr hochgradig herabgesetzte Speicherung des Trypanblaus nachweisen. Eindeutige Anurie bzw. schwere Oligurie, übergehend in Urämie, wurde mehrfach beschrieben (HAMBURGER et al., 1954; MORARD et al., 1961; MORARD, 1956; LANZ u. ZOLLINGER, 1955; PARMENTIER u. CORVILAIN, 1956). Im Experiment erzielte HELMHOLTZ (1933) eine schwere Tubulusatrophie mit Schrumpfniere.

Mikroskopisch (ZOLLINGER, 1950; ZINGG, 1951) liegt eine schwere Schwellung des Hauptstückepithels vor, dessen Protoplasma eine feinvacuoläre Veränderung erkennen läßt. So lange die Veränderung nicht ganz hochgradig ist, läßt sich der Bürstensaum noch erkennen, die Henleschen Schleifen und die Mittelstücke sind deutlich abgeflacht, die Glomerula, das Interstitium und die Gefäße unverändert (GLOOR, 1965, Lit.). Die Mitochondrien sind in den befallenen Tubuluszellen zahlenmäßig reduziert und deutlich abgerundet. Sie scheinen stellenweise Beziehungen zu den kleinen Vacuolen aufzuweisen, so daß wir (ZOLLINGER, 1950; ZINGG, 1951), sowie MORARD (1956) vermuteten, es handle sich um eine Zuckerspeicherung in den Mitochondrien, insbesondere glaubten wir, daß Zucker in den Vacuolen vorhanden sei, während andere Autoren eine Wasseransammlung in den Vacuolen ohne Zucker als osmotische Ursache annahmen (YOLAC, 1959; ALLEN, 1962). Neuere Untersuchungen unseres Mitarbeiters GLOOR (1965) sprachen doch wieder dafür, daß in den Vacuolen auch Zucker enthalten ist. Jedenfalls zeigen derartige Nieren nach ^{14}C -Glucoseinfusion (BRULL et al., 1956) einen hohen Gehalt an radioaktivem Zucker, und nach Saccharoseinfusion konnten SIEBERT et al. (1954) Saccharose in der Mikrosomenfraktion nachweisen. Schließlich ergab sich, daß die feinvacuoläre Veränderung nur in denjenigen Nephronen stattfindet, welche zu funktionstüchtigen Glomerula gehören, also auch durchspült werden (MORARD et al., 1961). Werden derartige Fälle ebenfalls in die Statistik aufgenommen — bei primärem Nierenversagen wird ja häufig Infusionstherapie angewandt — so sind solche Nieren im heutigen Autopsiegut sogar ausgesprochen häufig (BREWER, 1961: 176 auf 646 Autopsiefälle).

Die im Folgenden wiedergegebenen Tierversuche wurden unternommen, einerseits um die Ultrastruktur der feinvacuolären Nierenhauptstückveränderung bei

Zuckerspeicherung und andererseits die Frage der Zuckerlokalisierung weiter abzuklären. Über die ultrastrukturellen Veränderungen können wir uns ja kurzfassen, da sich unsere Befunde mit denjenigen von SCHILL (1965, Lit.) weitgehend decken.

Versuchsanordnung und Methodik

Männliche Mäuse mit einem durchschnittlichen Gewicht von 25 g erhielten in Abständen von 30 min insgesamt 12 ml 50% Saccharoselösung in Einzeldosen von 1 ml intraperitoneal injiziert. Den letzten 2 Saccharoseinjektionen waren je 400 $\mu\text{C}^{14}\text{C}$ -Saccharose (Radiochemical Centre Amersham, England, spezifische Aktivität: 10–25 mC/mM) beigemengt. Tötung von je zwei Mäusen 2, 4 und 6 Std nach der letzten Saccharoseinjektion.

Teile von Nieren und Leber wurden lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch verarbeitet. (Über die an den Lebern erhobenen Befunde soll an anderer Stelle berichtet werden). Die Einbettung für die Lichtmikroskopie erfolgte in Paraffin, diejenige für die Elektronenmikroskopie über die aufsteigende Alkoholreihe in Epon.

Die Paraffinschnitte wurden nach der „Dipping-Methode“ mit den Ilfordemulsionen G 5 und K 2 zu Autoradiogrammen verarbeitet. Die Expositionszeit betrug 4–6 Wochen. Nach der Entwicklung und Fixation der Autoradiogramme erfolgte die Färbung der Präparate durch die Filmschicht hindurch mit Hämatoxylin-Eosin.

Die elektronenmikroskopischen Autoradiogramme stellten wir mittels der sog. Zentrifugenmethode bei Anwendung der Ilford L 4 Emulsion her (ROHR et al., 1965). Expositionszeit 2–4 Monate; Entwicklung und Fixation mit den Lösungen nach GRANBOULAN et al. (1963).

Die Auszählung der Silberkörner in den elektronenmikroskopischen Autoradiogrammen erfolgte ohne vorangehende Nachkontrastierung mit Bleihydroxyd. Die Bestimmung der Flächenanteile der Vacuolen, bezogen auf die Gesamtzellfläche, wurde an den Lichtbildern mit Routineplanimetriemethoden durchgeführt.

Ergebnisse

A. Lichtmikroskopische Befunde

6 Std nach der letzten Saccharoseinjektion zeigen alle Abschnitte der proximalen Hauptstückepithelien eine ausgedehnte Vacuolisierung. Sie erreicht in diesem Versuchszeitpunkt einen Höhepunkt. Das Tubulushumen läßt sich meist nicht mehr erkennen. Auch 24 Std nach der letzten Saccharoseinjektion zeigt die Vacuolisierung noch keine Abnahme. Die Vacuolen erreichen dabei oft Kerngröße (Abb. 1).

In den lichtmikroskopischen Autoradiogrammen konnten wir auch nach 8-wöchiger Exposition keine Silberkörner über den Tubuluszellabschnitten und im besonderen nicht über den Vacuolen nachweisen.

B. Ultrastrukturelle Befunde

Die Größe sowie die Zahl der Vacuolen schwankt von Tubulushauptzelle zu Tubulushauptzelle. Vereinzelt Vacuolen erreichen Kerngröße. Sie können einzeln stehend oder in Gruppen beieinander liegend beobachtet werden. Eine Bevorzugung der basalen oder lumenwärts gerichteten Anteile der Tubuluszellen konnten wir nicht feststellen. Die Zellkerne, das Golgfeld, das endoplasmatische Reticulum und die Mitochondrien erscheinen weitgehend unverändert. Diese Zellorganellen werden lediglich an manchen Stellen durch die Vacuolen an die Zellperipherie verdrängt.

Die Vacuolenlumina sind meist elektronenoptisch leer und nur vereinzelt können in den Lumina der Vacuolen Mitochondrienstrukturen und Membranreste nachgewiesen werden (Abb. 2). Diese eingeschlossenen Mitochondrien weisen im allgemeinen eine homogene dichte Matrix auf, deren Cristae nicht selten kleine

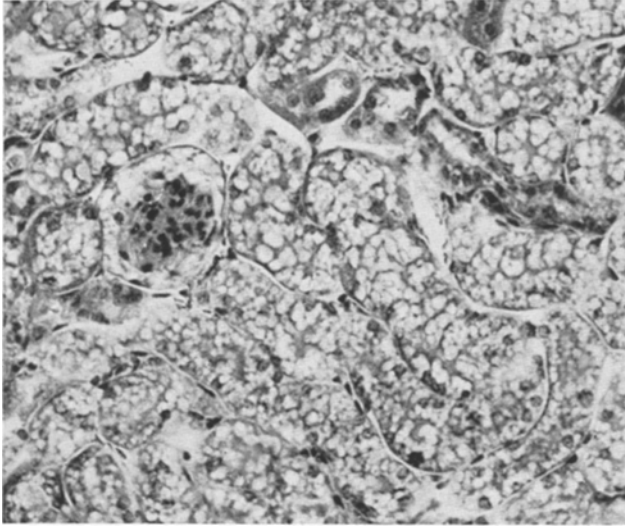


Abb. 1. Zuckerspeicherniere bei der Maus, 48 Std nach Saccharoseinjektion. Ausgedehnte Vacuolenbildung in den Hauptstücken. Die distalen Tubuli sind davon völlig verschont. Vergr. 200 ×. HE

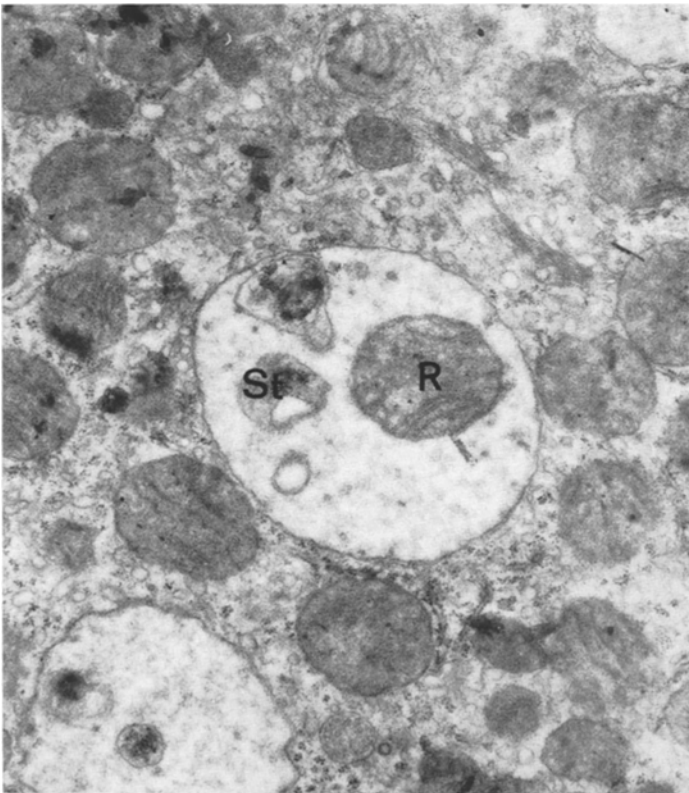


Abb. 2. Detailaufnahme aus einer Hauptstückepithelzelle bei der Saccharosenephrose. In den Vacuolen dieser Zellen können Mitochondrienreste (R) und Membranstrukturen (St) aufgefunden werden. 15000 ×

kolbige Auftreibungen zeigen. Die Vacuolen sind von deutlichen Membranen umgeben. An manchen Stellen buchten sich die Vacuolen in andere Vacuolen vor (Abb. 3). Das basale Labyrinth ist nicht erweitert. An der Basis etwas plumper erscheinenden Bürstensäume finden sich vermehrt kleine Vesikeln. Ganz vereinzelt konnten wir auch ins Tubuluslumen abgestoßene zerfallende Tubuluszellen finden.

Bei der systematischen Durchmusterung der elektronenmikroskopischen Autoradiogramme (pro Versuchszeit kamen 12—15 Kupfernetze zur Untersuchung)



Abb. 3. Detailaufnahme aus einer Hauptstückepithelzelle bei der Saccharosenephrose. Eine Vacuole buchtet sich in eine größere vor. Man erkennt deutlich die beiden Membranen, welche die Vacuolen umschließen (*m*). 15 000 \times

fällt eine bevorzugte Lokalisation der Silberkörner über den Vacuolen der Hauptstückepithelien auf, die durch Silberkornauszählungen gut gesichert werden konnte (Abb. 4, 5).

Etwa 90 % der nahezu 500 ausgezählten Silberkörner liegen über den Vacuolen der Tubuluszellen (450 Silberkörner ausgezählt, davon 420 über Vacuolen). Der prozentuale Flächenanteil der Vacuolen der proximalen Hauptstückzellen beträgt etwa 30 %. Der Quotient für die relative spezifische Lokalisation (prozentualer Silberkornanteil, bezogen auf die Flächeneinheit eines bestimmten Zellkompartimentes, HIRSCH, 1964), beträgt demnach für die Vacuolen etwa 3,0, der entsprechende Wert für den Rest der Hauptstücke etwa 0,1. Eine relative spezifische Lokalisation der Saccharose über den Vacuolen kann demnach als gesichert angenommen werden. Innerhalb der Vacuolen konnte keine bevorzugte Lokalisation der Silberkörner festgestellt werden.

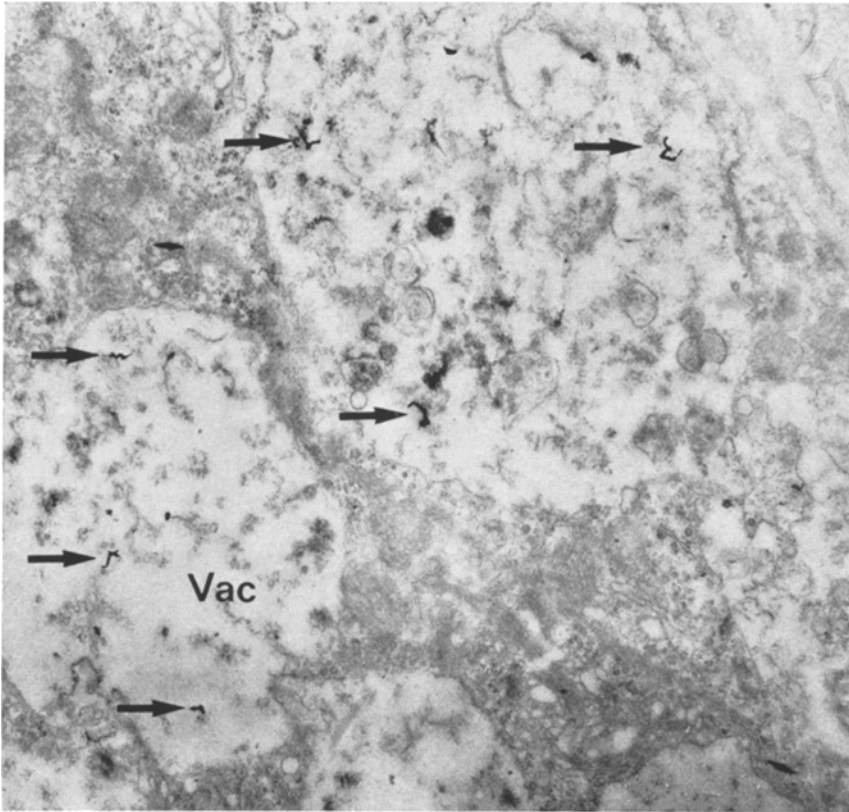


Abb. 4. Autoradiogramm, Saccharosenephrose: Detailaufnahme einer Hauptstückepithelzelle. Die Silberkörner (Pfeile) sind regellos über die Vacuolen verteilt. Die Zellstrukturen werden durch die über dem Ultradünnschnitt liegende Emulsionsschicht nur wenig verschleiert. 15000 \times

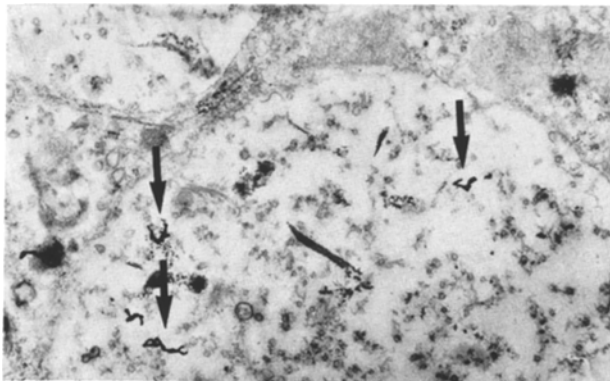


Abb. 5. Autoradiogramm, Saccharosenephrose. Die Silberkörner (Pfeile) können nahezu ausschließlich über den Vacuolen lokalisiert werden. 15000 \times

Diskussion

Die vorliegenden elektronenmikroskopisch-autoradiographischen Versuchsergebnisse zeigen, daß ^{14}C -Saccharose nach erfolgter Injektion zumindest vorübergehend in den Vacuolen der Hauptstückepithelzellen gespeichert wird. Nach den

Untersuchungen von GLOOR (1965) kann geschlossen werden, daß die Speicherung der Saccharose gleichartig erfolgt wie diejenige der Glucose, obschon die Zellveränderungen nach Saccharose zufolge des Mangels an entsprechenden Abbaufermenten sehr viel hochgradiger sind als nach Glucoseinjektion. Besteht aber ein Vorschaden der Niere, so kann auch die Glucose nicht mehr verarbeitet werden und wird gespeichert, was besonders für die Nierenhypoxie bei Schock beim Menschen (ZOLLINGER, 1950; ZINGG, 1951; MORARD et al., 1961), sowie experimentell (GLOOR, 1965) gezeigt werden konnte.

Eine 5—10 min dauernde Ischämisierung verstärkt die Zuckerspeicherung deutlich (SCHÖLL, 1964). Auffällig häufig besteht bei den Autopsiefällen auch eine Leberinsuffizienz (ZOLLINGER, 1950, 1965; MORARD, 1956; MORARD et al., 1961; BREWER, 1961).

Die Silberkorndichte (= relative spezifische Lokalisation) über den Vacuolen ist im Vergleich zu derjenigen der übrigen Zelle deutlich erhöht. Da durch die Fixation und die verschiedenen Einbettungsmedien (Alkohol, Propylenoxyd, Epon) ein großer Teil der wasserlöslichen Saccharose herausgelöst wird, dürfte die anfängliche Saccharosekonzentration in den Vacuolen noch wesentlich größer sein. Die Diffusion von Saccharose aus den Vacuolen in die restliche Zelle kann vernachlässigt oder als Folge der Herauslösung der Saccharose aus dem Gewebe zumindest nicht mehr erfaßt werden.

Wir können annehmen, daß als Folge des Saccharoseüberangebotes die tubuläre Rückresorption der Saccharose gesteigert ist.

Der gesteigerte intracelluläre osmotische Druck bedingt einen erhöhten Wassereinstrom (YOLAC, 1959; WILLMER, 1944; HAMBURGER et al., 1954, ZINGG, 1950). Die Einlagerung oder Speicherung von Saccharose in den Vacuolen der Hauptstückepithelzellen bildet u. E. einen weiteren Hinweis für die große Bedeutung der *Pinocytose* bei der Entstehung der Vacuolen, die im Schrifttum oft vernachlässigt wurde. Vielfach wurden Elektrolytverschiebungen kausal für die Vacuolenentstehung in den Vordergrund gestellt (BREWER, 1961; MORARD, 1956; MORARD et al., 1961 u. a.), doch konnte dies experimentell nicht bestätigt werden (SIEBERT u. Mitarb., 1954; GLOOR, 1965). Durch neuere experimentelle Untersuchungen konnte die Vacuolenentstehung weitgehend geklärt werden. Die von LANZ und ZOLLINGER (1955) im Phasenmikroskop festgestellte Beziehung der feinen Vacuolen zu den Mitochondrien hat im elektronenmikroskopischen Befund von Vacuolen oder Cytosegrosomen mit eingeschlossenen Mitochondrien ihre Erklärung gefunden. Jedoch kann heute eindeutig ausgeschlossen werden, daß die Mitochondrien selbst bei der Zuckerspeicherung und der Vacuolenentstehung wesentlich mitbeteiligt sind, wie dies früher angenommen wurde (ZOLLINGER, 1950; ZINGG, 1951; HAMBURGER et al., 1954; MORARD, 1956). Die gelegentlich festgestellte Schwellung der Mitochondrien (FUJIBAYASHI, 1962, DALGAARD und PEDERSEN, 1961) scheint eine Sekundärveränderung der geschädigten Zellen darzustellen. Markierte Saccharose konnten wir in unseren Untersuchungen den Mitochondrien nicht zuordnen. Auch ist das Verhalten der mitochondrialen Fermente unauffällig während des Vakuolisierungsprozesses (SCHILL, 1965).

Eine weitere Möglichkeit für die Vacuolenentstehung bildet die deutliche Einwässerung in die Lysosomen (YANIGAN et al., 1960; YANIGAN und SANTAMARIA,

1961; TRUMP und YANIGAN, 1962). Die oft sehr engen Beziehungen der Pinocytosevesikel zu den vacuolisierten Lysosomen machen ein Zusammenfließen sehr wahrscheinlich. Da sich die Mikrosomen biochemisch bisher nicht rein darstellen lassen, darf angenommen werden, daß die von SIEBERT et al. (1954) in der Mikrosomenfraktion nachgewiesene Saccharose in Wahrheit solchen Vacuolen pinocytotischen oder lysosomalen Ursprungs zuzuordnen ist. Schließlich dürfte die bei der Saccharosespeicherung einsetzende Protoplasmaschädigung durch eine Steigerung der

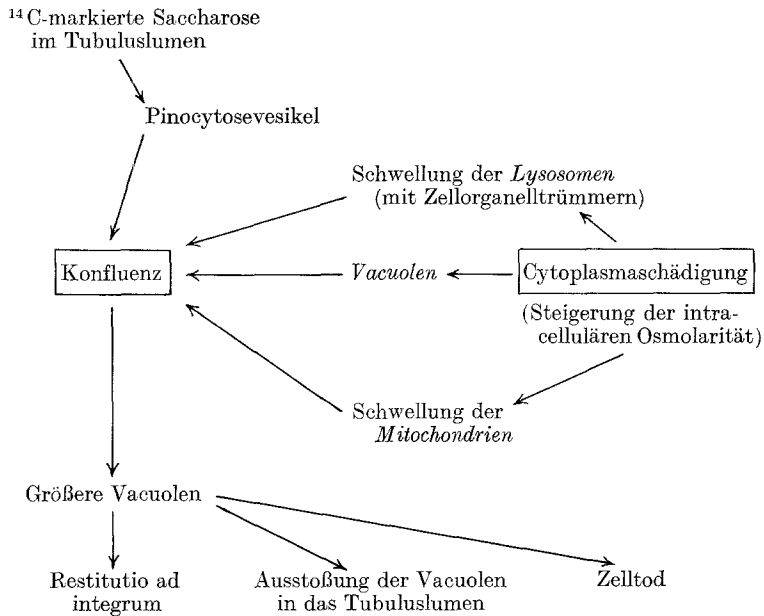


Abb. 6. Schematische Darstellung der Entstehung der Vacuolen bei der sog. Zuckerspeicherniere

intracellulären Osmolarität zur Entstehung von großen Vesikeln und Vacuolen beitragen (HRUBAN et al., 1963). Abb. 6 veranschaulicht zusammenfassend die Möglichkeiten der Entstehung der Vacuolen nach Saccharoseinjektion.

Zusammenfassung

Nach Infusion zuckerhaltiger Lösungen beobachtet man bei der Obduktion häufig eine Zuckerspeicherniere (sog. „osmotische Nephrose“), die sich in feinvacuolärer Hauptstückveränderung äußert. Sie wurde in eigenen Versuchen durch intraperitoneale wiederholte Injektion von 50%iger Saccharose-Lösung (total 12 ml, 12 Injektionen, 30 min Abstand) bei Mäusen erzeugt. Elektronenmikroskopisch fanden die Verfasser pinocytotische und durch Zusammenfließen mit vacuolisierten Lysosomen entstandene große Vacuolen, die zum Teil Reste von Zellorganellen (Mitochondrien etc.) enthalten (Cytosegrosomen). Elektronenmikroskopisch-autoradiographisch konnte ¹⁴C-markierte Saccharose ausschließlich über diesen Vacuolen nachgewiesen werden, woraus auf eine Saccharosespeicherung mit sekundärer, osmotisch bedingter Vacuolenbildung geschlossen wird.

The So-Called Sucrose Nephrosis Studied by Electronmicroscopic Autoradiography with Saccharose C¹⁴

Summary

After infusion of sucrose solution, the pathologist very often observes the phenomenon of sucrose nephrosis (so-called „osmotic nephrosis“) consisting of fine vacuolar changes of the proximal tubule. Similar changes were produced in our own experiments in mice by repeated i. p. injections of a 50% saccharose solution (totally 12 ml, 12 injections, at 30 minute intervals). In the electron microscope, we found pinocytotic vesicles and large vacuoles formed by confluence with vacuolized lysosomes (partially containing rests of cell organelles such as mitochondria etc.). By electronmicroscopic-autoradiography ¹⁴C-labelled saccharose was found only within these vacuoles which points towards a storage of saccharose with secondary osmotic vacuolization.

Literatur

- ALLEN, A. C.: Medical and surgical diseases. New York: Grune & Stratton 1962.
- BRANDES, D., and F. BERTINI: Role of Golgi apparatus in the formation of cytolysosomes. *Exp. Cell. Res.* **35**, 194—197 (1964).
- BULL, L., J. BERNIMOLIN, J. GOVAERTS, and N. GRISARD: Renal storage of glucose or glycogen studied by C¹⁴ glucose. *Arch. int. Physiol. Biol.* **64**, 196 (1956).
- ERICSSON, J. L., and B. F. TRUMP: Electron microscopic studies of the epithelium of the proximal tubule of the rat kidney. I. The intracellular localization of acid phosphatase. *Lab. Invest.* **13**, 1427—1456 (1967).
- ERKOÇAK, A., E. REALE, A. GAUTIER et O. BUCHER: A propos des modifications ultra-structurales dans les tubes initiaux du rein lors de diabète alloxanique. *Z. ges. exp. Med.* **137**, 321—330 (1963).
- GLOOR, B.: Tierexperimentelle Untersuchung über Morphologie, Pathogenese und funktionelle Bedeutung der Zuckerspeicherniere. *Z. ges. exp. Med.* **139**, 33—57 (1965).
- GRANBOULAN, P., N. GRANBOULAN et W. BERNHARD: Application de l'autoradiographie a la microscopie électronique. *J. Microscopie* **1**, 75 (1962).
- HELMHOLZ, H. F.: Renal changes in the rabbit resulting from intravenous injection of hypertonic solution of sucrose. *J. Pediat.* **3**, 144 (1933).
- HIRSCH, H. M., A. S. ZELICKSON, and J. F. HARTMANN: Localization of melanin synthesis within pigment cell: Determination by a combination of electron microscopic autoradiography and topographic planimetry. *Z. Zellforsch.* **65**, 409 (1965).
- HRUBAN, Z., B. SPARGO, H. SWIFT, R. W. WISSLER, and R. G. KLEINFELD: Focal cytoplasmic degradation. *Amer. J. Path.* **42**, 657 (1963).
- JANIGAN, D. T., A. SANTAMARIA, and B. F. TRUMP: Sucrose nephrosis: electron microscopic and histochemical observations. *J. Histochem. Cytochem.* **8**, 385 (1960).
- LATTA, H., S. A. BENCOSME, K. M. KNIGGE, and S. C. MADDEN: Extracellular compartments in renal tubules associated with polyuria from glucose imbibition. *Lab. Invest.* **11**, 569 (1962).
- ROHR, H. P., W. KLIETMANN u. W. OEHLERT: Durchführung und Anwendungsmöglichkeiten der elektronenmikroskopischen Autoradiographie. *Z. ges. exp. Med.* **139**, 344 (1965).
- SCHILL, H.: Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen zur experimentellen Saccharosenephrose. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **107**, 389 (1965).
- SCHÖLL, A.: Beitrag zur Pathogenese der osmotischen Nephrose. *Frankfurt. Z. Path.* **73**, 559 (1965).
- ZOLLINGER, H. U., u. W. ZINGG: Experimentelle Haemoglobin- und Haemosiderinspeicherung in den Nierenmitochondrien. *Mikroskopie* **6**, 72 (1961).
- Für die restlichen zitierten Arbeiten sei auf die Arbeit von B. GLOOR (1965) verwiesen.

Prof. Dr. H. U. ZOLLINGER
Pathologisches Institut der Universität
78 Freiburg, Albertstr. 19