

Ultrastrukturelle Veränderungen der proximalen Tubuluszelle von Rattennieren nach Phenacetinüberbelastung*

J. TORHORST, H. P. ROHR, H. U. ZOLLINGER, A. STUDER und J. P. TRANZER

Ludwig Aschoff-Haus, Pathologisches Institut der Universität Freiburg im Breisgau
(Direktor: Prof. Dr. H. U. ZOLLINGER) und Abteilung für experimentelle Medizin
der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

Eingegangen am 15. September 1966

Nach Phenacetinabusus ist beim Menschen wiederholt das Auftreten von Pigmenten in Leber und Niere histologisch beschrieben worden (SCHEIDEGGER, 1958, 1961; MOOLTEN und SMITH, 1960; GLOOR, 1961, 1965; MASSHOFF und HOLLMANN, 1962; ABRAHAMS u. Mitarb., 1963; REYNOLDS und EDMONDSON, 1963; RUBENSTEIN u. Mitarb., 1964; STUDER und SCHÄRER, 1965). Dabei handelt es sich zum Teil um ein eisenpositives Pigment (MOOLTEN und SMITH, 1960; REYNOLDS und EDMONDSON, 1963), meist aber um ein eisennegatives Pigment, das oft im distalen Tubulus nachgewiesen werden konnte (SCHEIDEGGER, 1958, 1961; GLOOR, 1961, 1965; RUBENSTEIN u. Mitarb., 1964). Die Natur des eisennegativen Pigments ist noch nicht endgültig abgeklärt. Möglicherweise sind es melaninartige Verbindungen (TAPPEL, 1955; SCHEIDEGGER, 1958; GLOOR, 1961) oder Pigmente aus der Gruppe der Lipofuscine (ABRAHAMS u. Mitarb., 1963; RUBENSTEIN u. Mitarb., 1964; STUDER und SCHÄRER, 1965).

Bisher gelang es nicht überzeugend, am Tier mit Phenacetin eine interstitielle Nephritis zu erzeugen (Lit. bei STUDER, 1965). Jedoch konnten experimentell bei der Katze (REBER und STUDER, 1965), beim Hund (STUDER und SCHÄRER, 1965; WOODARD u. Mitarb., 1965) und bei der Ratte (ABRAHAMS u. Mitarb., 1964; FORDHAM u. Mitarb., 1964; SCHNITZER, 1965, 1966a und b; WOODARD u. Mitarb., 1965) nach Phenacetinbelastung Pigmente in Niere und Leber beobachtet werden. Im proximalen Tubulus stellt sich dabei ein eisenpositives Pigment dar. Daneben ist ein eisennegatives Pigment vorhanden, welches sich auch im distalen Tubulus findet und wahrscheinlich der Gruppe der Lipofuscine zuzurechnen ist (STUDER und SCHÄRER, 1965).

Die unter Phenacetinabusus beim Menschen beobachteten Pigmente wurden in Leber und Niere auch elektronenoptisch untersucht (ABRAHAMS u. Mitarb., 1963; RUBENSTEIN u. Mitarb., 1964). Elektronenoptische Untersuchungen über *ultrastrukturelle Veränderungen der proximalen Tubuluszelle* bei experimenteller Phenacetinbelastung liegen bisher noch nicht vor. In der folgenden Arbeit sollen daher die licht- und elektronenoptischen Veränderungen am proximalen Tubulus der Rattenniere unter Phenacetinbelastung untersucht werden.

* Herrn Prof. A. WERTHEMANN zum 70. Geburtstag gewidmet.

Versuchsanordnung und Methode

Versuchsserie A (Basel). 50 Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts, 80–100 g schwer, erhielten während 27 Wochen¹ Nafag W 47 Normalfutter, dem 2% Phenacetin beigemischt war. Die Freßlust dieser Tiere war von Anfang an vermindert, der Allgemeinzustand verschlechtert. Die Tiere nahmen kaum an Gewicht zu. 16 Ratten gingen interkurrent an Inanition zugrunde.

Versuchsserie B (Freiburg i. Br.). 20 weibliche, 2–3 Monate alte Ratten (Stamm 46 BR Wistar II) mit einem Ausgangsgewicht zwischen 185 und 340 g erhielten ad libitum² Altromin-R mit Süßstoff, Fenchel und Anis als Geschmackskorrigentien und 2,5% Phenacetin sowie Wasser ad libitum. Das Phenacetin war aus p-Aminophenol hergestellt worden und enthielt als Verunreinigung bis 5% Acetanilid. Sieben Ratten starben spontan. Die Ratten wurden nach 3–23 Wochen getötet und hatten 7–13 g Futter pro Tag gefressen. Das entsprach pro Tag 0,65 g/kg Körpergewicht bis 2,1 g/kg Körpergewicht Phenacetin. Das Gewicht zum Zeitpunkt der Tötung lag zwischen 20–105 g niedriger als das Ausgangsgewicht. Kontrollratten hatten in 3 Monaten um etwa 90 g zugenommen und durchschnittlich 20 g Normalfutter täglich gefressen.

Elektronenoptische Verarbeitung von Niere und Leber: Fixation: 1. Glutardialdehyd 3%, gepuffert in 0,1 m Kaliumphosphat, pH 7,4, während 2 Std bei 4°C. 2. OsO₄ 1 und 2%, gepuffert in 0,1 m Kaliumphosphat, pH 7,4, bzw. gepuffert in Kakodylat (pH 7,4), während 1–2 Std bei 4°C. Entwässerung über die aufsteigende Alkoholreihe und Propylenoxyd. Einbettung in Epon 812. Herstellung von semidicken und ultradünnen Schnitten mit dem LKB und Porter Blum-Ultramikrotom. Nachkontrastierung mit Pb(OH)₂, Pb-Citrat und Uranylacetat.

Ergebnisse

A. Lichtmikroskopie

Die Glomerula erscheinen unverändert, sind mäßig durchblutet, die Schlingen frei. Die Tubuli sind subcortical erweitert. In den Lumina lassen sich keine Cylinder nachweisen. Das Interstitium ist nicht verbreitert, an der Mark-Rindengrenze zeigen sich die für Ratten typischen, kleinen, herdförmigen, lymphocytären Infiltrate. Gefäße unverändert. Keine Papillennekrosen.

Im gewundenen Teil des proximalen Hauptstückes kann bei allen Ratten mit der Turnbull-Reaktion reichlich eisenpositives Pigment nachgewiesen werden, das teilweise die ganze Zelle ausfüllt. Die Berlinerblau-Reaktion fällt bei der Versuchsserie A positiv (Abb. 1c), bei der Versuchsserie B negativ aus. Daneben kann im gewundenen und gestreckten Teil des proximalen Hauptstückes ein eisennegatives Pigment, welches sich mit der argentaffinen Reaktion nach MASSON-HAMPERL imprägniert, nachgewiesen werden (Abb. 1b). Dasselbe Pigment ist auch nach 30minütiger Vorbehandlung mit 20% HCl zur Entfernung des Eisens im gewundenen und gestreckten Teil des proximalen Tubulus aufzufinden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß es sich um ein Pigment mit stark reduzierenden Eigenschaften handeln muß (Lipofuscin?).

Das Vorkommen dieses Pigmentes ist gesetzmäßig, indem es in beiden Nieren der 34 untersuchten Ratten aus Versuch A gefunden werden konnte (Abb. 1a–c). Die semiquantitative Einschätzung des Pigmentgehaltes (0 – + + +) auf Grund der Eigenfarbe im Hämalanschnitt ergibt nach 27 Wochen der 2%igen Phenacetindiät einen durchschnittlichen Befallsgrad von 2,4 ((+) – + + +). Der eisenpositive Anteil des Pigmentes wird mit der Berlinerblau-Reaktion durchschnittlich 1,3 (0 (1 Niere) – + + +), der eisennegative Anteil nach Silberimprägnation nach MASSON-HAMPERL mit durchschnittlich 1,8 ((+) – + + +) eingeschätzt.

B. Elektronenmikroskopie

Die Ablagerung von vorwiegend homogen gebauten *Pigmentkörpern* läßt sich fast ausschließlich in den proximalen Tubulusepithelzellen aufzeigen. Dabei erscheinen die Pigmentkörper der Serie B in ihrem Aufbau unruhiger; elektronen-

¹ Nähr- und Futtermittel AG, CH-9202 Gossau.

² Kunath Futtermittel, CH-5000 Aarau.

dichte Abschnitte wechseln mit verhältnismäßig wenig elektronendichten Zonen ab (Abb. 2, 3, 6). Auch in den homogen erscheinenden Pigmentansammlungen

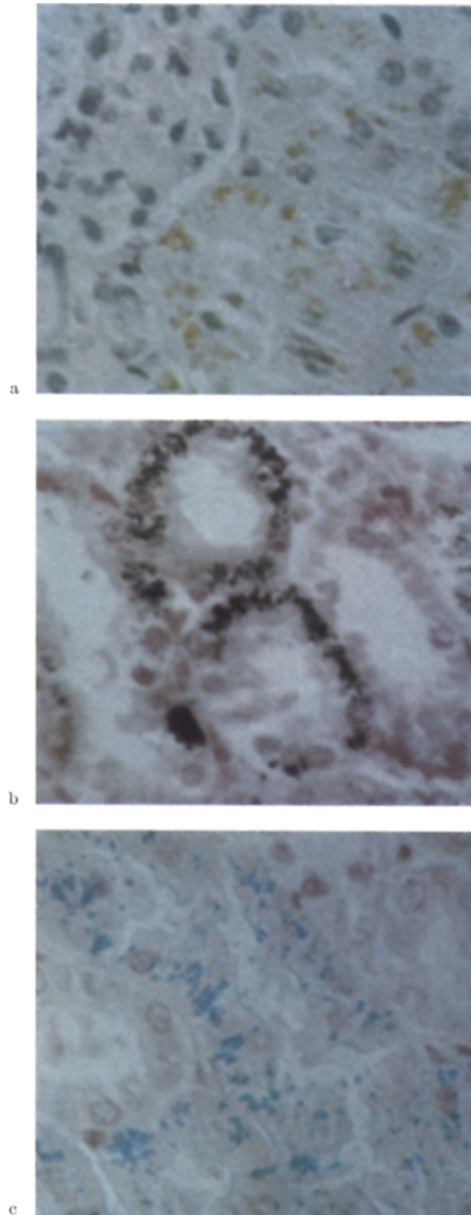


Abb. 1a—c. Rattenniere nach 27wöchiger Verfütterung der 2%igen Phenacetindiät (Versuchsserie A). Ausgedehnte Ablagerungen von Pigment in den Tubulusepithelzellen der Niere. a Hämalaun, b Versilberung nach MASSON, c Berlinerblau

lassen sich teilweise kleine Membranformationen erkennen (Abb. 3). Bei höherer Vergrößerung kann ohne vorangehende Nachkontrastierung in diesen Körpern



Abb. 2. Rattenniere, proximaler Tubulus, nach 27wöchiger Verfütterung der 2%igen Phenacetindiät (Versuchsserie A). Ausgedehnte Speicherung von verschieden geformtem, homogenem Pigment (*P*) in den meisten Tubuluszellen. *N* Zellkern, *L* Tubuluslumen, *BS* Bürstensaum, *M* Mitochondrien, *Cap* Capillare. 6000:1

teilweise Ferritin nachgewiesen werden (Abb. 4, 5). Die Mitochondrien zeigen eine wechselnde Größe, besonders in den Bereichen starker Pigmentanhäufung. Im übrigen ist ihre Innenstruktur regelrecht aufgebaut. Stellenweise lassen sich Mitochondrien nachweisen, deren Außenmembran von einer Membran umschlossen wird. Die freien Ribosomen sind nicht vermehrt. Das basale Labyrinth und die Zellkerne erscheinen unauffällig.

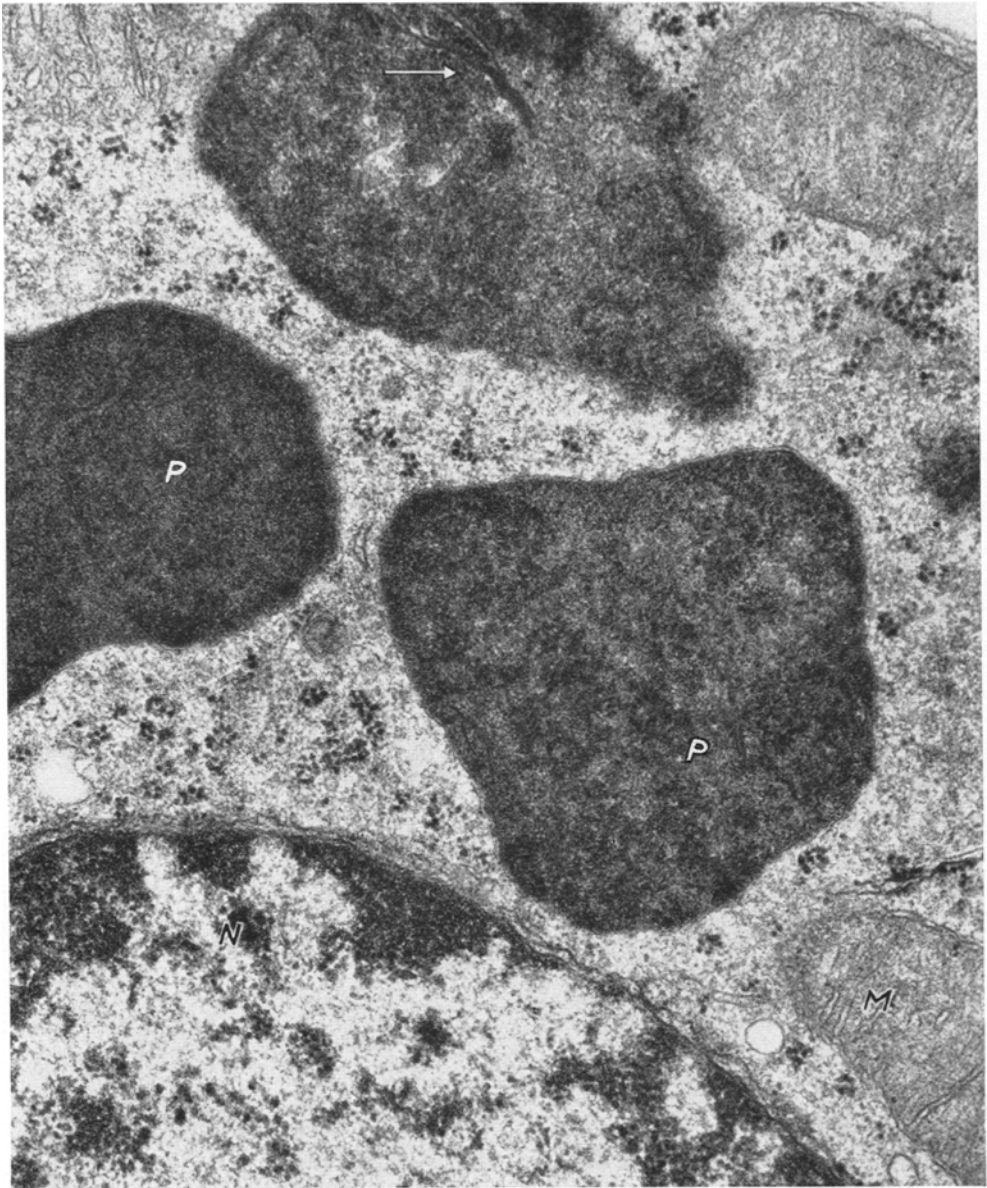


Abb. 3. Rattenmiere, Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle (Versuchsserie A). In den Lysosomen ist ein ziemlich homogenes Pigmentmaterial (*P*) enthalten. Teilweise sind Membranstrukturen (Pfeil) erkennbar. *N* Zellkern, *M* Mitochondrium. 47 500:1

Den auffallendsten Befund bildet das Auftreten von großen, einen sehr polymorphen Aspekt aufweisenden *Myelinfiguren*. Teilweise liegen solche *Myelinfiguren* in homogenen Pigmentkörpern (Abb. 6), teilweise kommen sie frei im Grundcytoplasma vor (Abb. 6 und 7); und schließlich können große, polycyclisch aufgebaute, sehr elektronendichte *Myelinansammlungen* gefunden werden. Das umgebende Grundcytoplasma erscheint dabei regelmäßig sehr hell (Abb. 7). Ver-

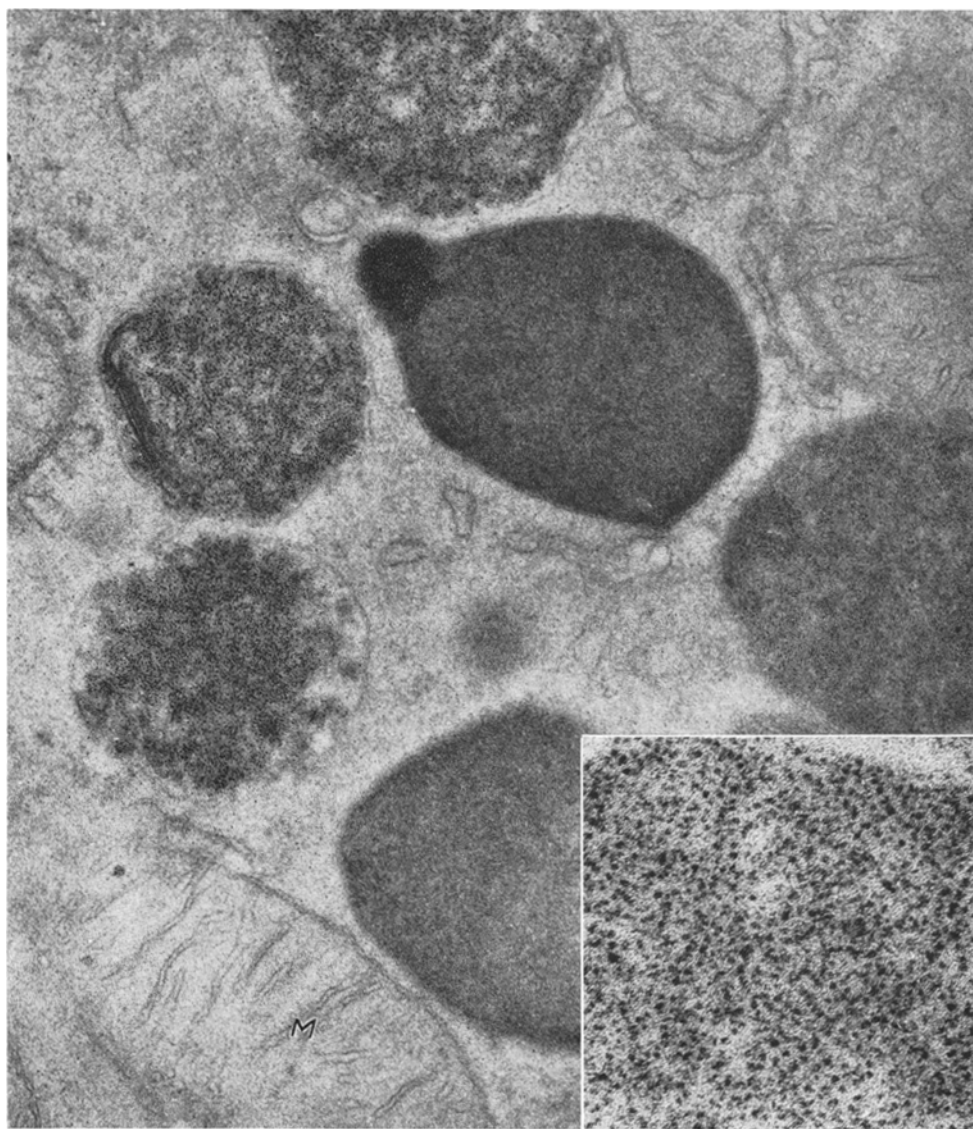


Abb. 4. Rattenniere, Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 27wöchiger Verfütterung der 2%igen Phenacetindiät (Versuchsserie A). In mehreren pigmenthaltigen Lysosomen läßt sich Ferritin (eisenpositiver Anteil des Pigmentes) nachweisen. Keine Nachkontrastierung. *M* Mitochondrium. 45000:1

einzelnt werden auch in den Tubuluslumina kleinere Myelinfiguren beobachtet. Hinzuweisen ist auf das in Versuchsreihe B gegenüber Versuchsreihe A gehäufte Auftreten von Myelinfiguren. Die Ursache für diesen Befund muß offengelassen werden.

Außer den Pigmentkörpern und den Myelinfiguren können reine *Autophagievacuolen* gefunden werden, welche z.B. Mitochondrienreste in sich einschließen (Abb. 8). Auch in diesen Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen können sich Myelinfiguren ausbilden.

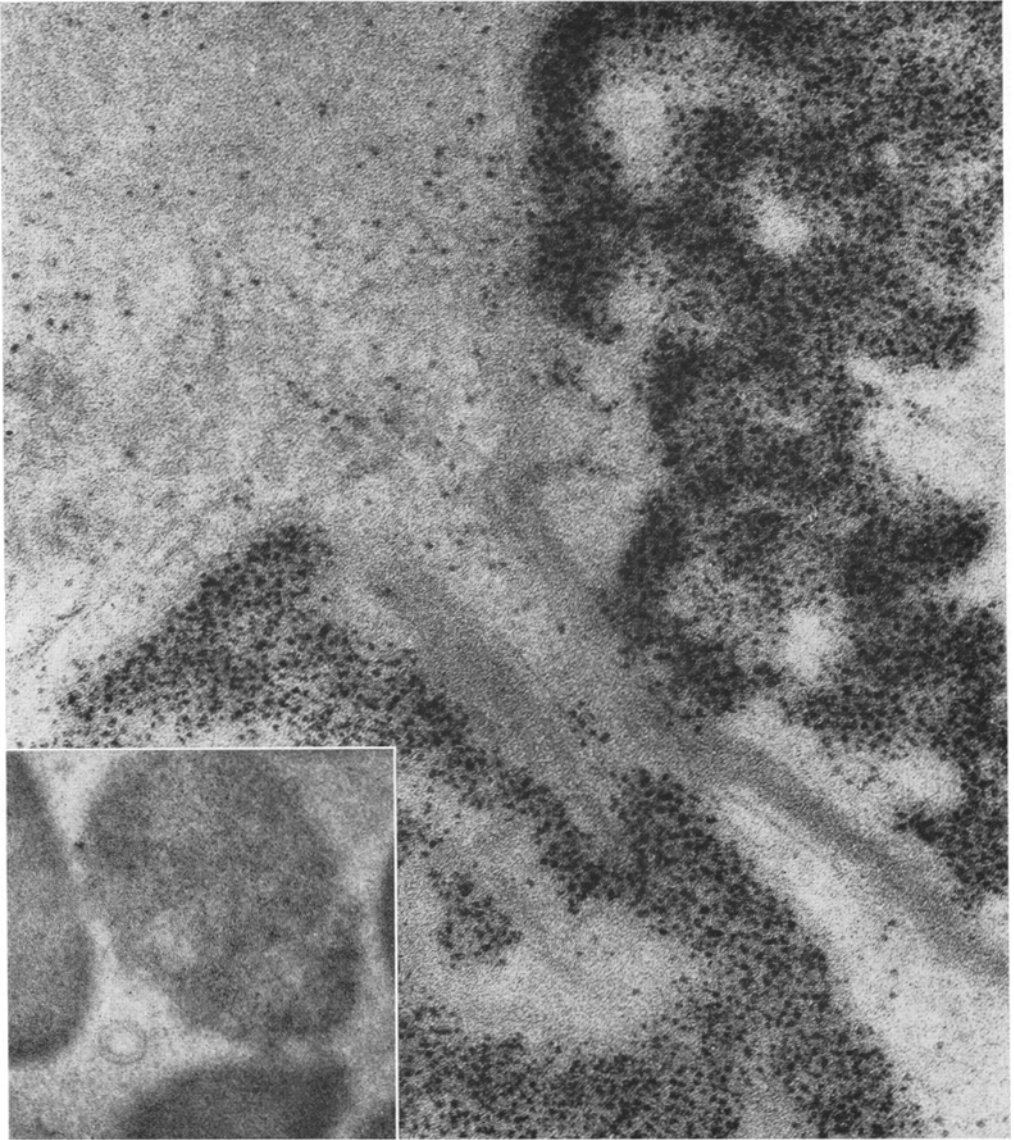


Abb. 5. Vergrößerung eines ferritinhaltigen Lysosoms. Ferritinmoleküle sind gut erkennbar. Keine Nachkontrastierung, 180000:1

Das glatte *endoplasmatische Reticulum* ist herdförmig (Abb. 9) angeordnet. Die Golgifelder sind vergrößert und bauen sich aus Golgivesikeln und Golgilamellen auf (Abb. 9).

Diskussion

Nach langdauernder Phenacetinbehandlung können an der proximalen Tubuluszelle der Rattenniere folgende Veränderungen beobachtet werden:

1. Das Auftreten von sehr elektronendichten Pigmentkörpern, welche teilweise Ferritin enthalten.

2. Große, oft fast die ganze Tubuluszelle ausfüllende, sehr polymorphe Myelinfiguren.
3. Vacuolen, welche Zelltrümmer in sich einschließen (= Autophagie-Vacuolen, Cytolysosomen).
4. Eine Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums.

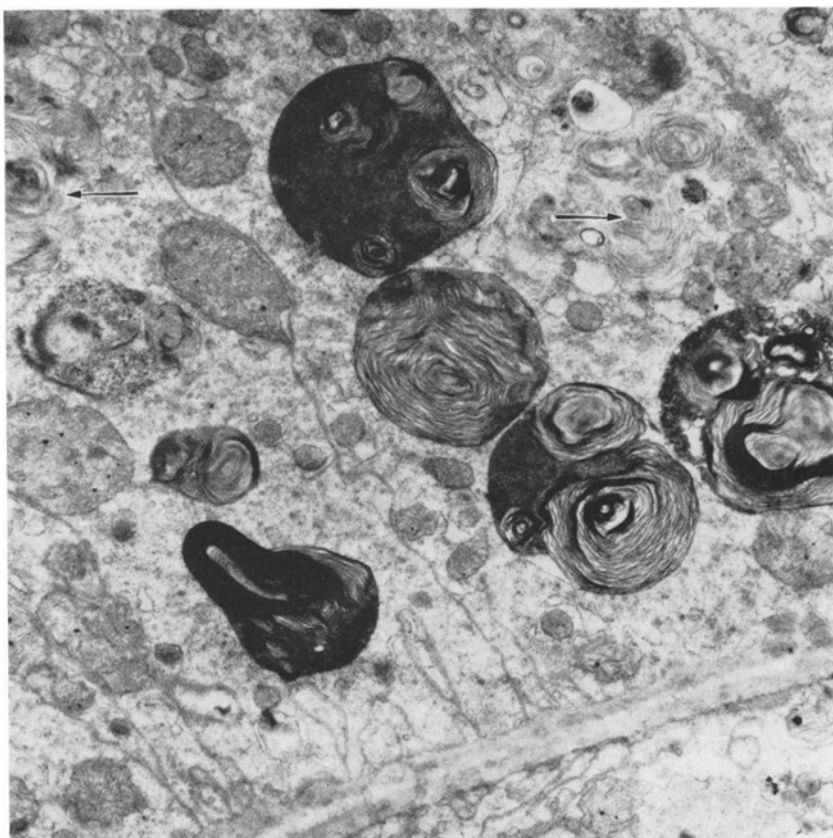


Abb. 6. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle der Rattenniere, nach 164tägiger Verfütterung der 2,5%igen Phenacetindiät (Versuchsserie B). In den Pigmentkörpern lassen sich polymorphe Myelinfiguren erkennen. Kleinere Myelinfiguren finden sich auch im Grundcytoplasma (Pfeil). 12 500:1

Lichtmikroskopisch kann eine Speicherung von eisenpositivem und eisen-negativem Pigment gesichert werden (vgl. dazu Abb. 1). Elektronenoptisch ist in diesen Pigmentkörpern Ferritin in wechselnder Dichte nachweisbar (Abb. 4 und 5). Die bei Phenacetinüberbelastung bekannte Hämolyse spiegelt sich bei längerer Versuchsdauer (Versuchsreihe A) im reichlicheren Auftreten von Ferritin. Die lichtmikroskopisch beobachtete Vermehrung der sauren Phosphatase in den befallenen Tubulusabschnitten erlaubt es u.E., diese Pigmentkörper als Phagolysosomen zu bezeichnen.

Oft scheinen die Pigmentkörper kontinuierlich in Myelinfiguren überzugehen (Abb. 6). Myelinfiguren werden unter den verschiedensten physiologischen und pathologischen Bedingungen beobachtet. In bezug auf die Nomenklatur dieser

Zellstrukturen besteht noch eine große Unsicherheit. Manche Autoren sprechen von konzentrisch angeordneten Membransystemen (THOENES und BANNASCH, 1962), andere von cytoplasmatischen, wirbeligen Strukturen aus glatten Membranen (HERDSON u. Mitarb., 1964), und wieder andere Autoren bezeichnen diese Figuren als „lamellar bodies“ (CECIO, 1964). Die Myelinfiguren sind keine durch

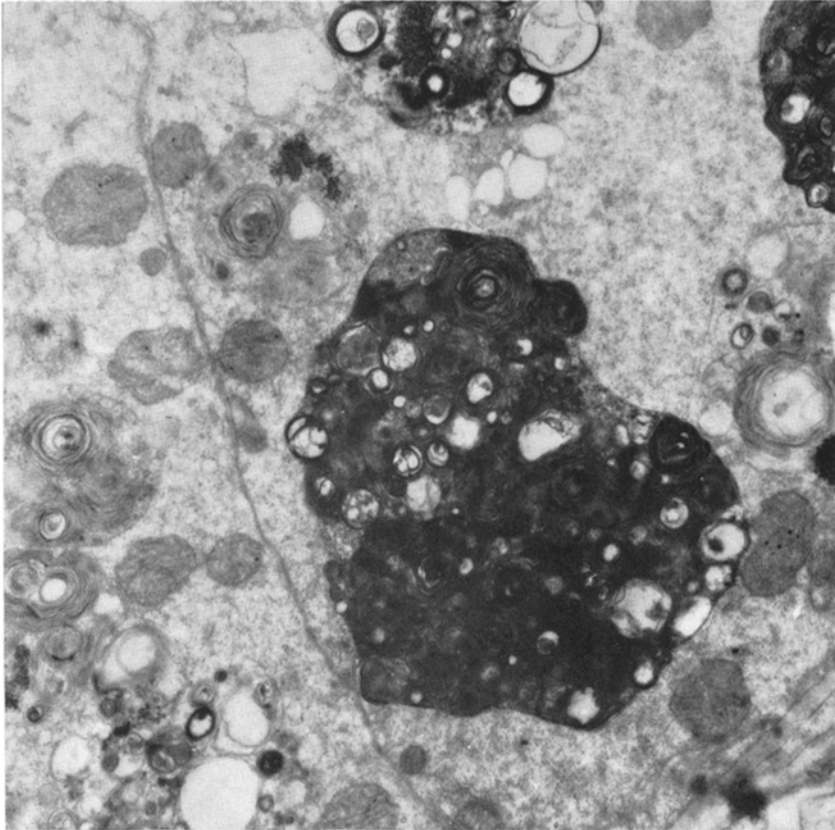


Abb. 7. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 78tägiger Verfütterung der 2,5%igen Phenacetindiät. Große Pigmentkörper, welche von vielen, sehr dichten Myelinfiguren nahezu vollständig ausgefüllt werden. Das umgebende Cytoplasma erscheint auffallend hell. 12500:1

die Osmiumfixation bedingten Artefakte, da sie auch nach Kaliumpermanganat-Fixation beobachtet werden können (CAMPICHE, 1960; STOECKENIUS, 1960). Sie bestehen zur Hauptsache aus Phospholipiden (CHOU, 1957; CHOU und MEEK, 1958).

Zur Entstehung der Myelinfiguren wird von STENGER (1964) ein zentral gelegener Fettkern angenommen. Aus den Myelinmembranen sollen sodann im Sinne einer Regeneration durch Ribosomenauflagerung Strukturen des endoplasmatischen Reticulums entstehen. Diese mögliche Funktion der Myelinfiguren im Sinne einer anabolen Zelleistung ist jedoch nicht unwidersprochen geblieben (vgl. dazu z.B. HERDSON u. Mitarb., 1964 u.a.). Auch die vorliegenden Resultate sprechen nicht für eine solche Deutung, da sehr oft auch Myelinfiguren ohne Fettkern nachgewiesen werden können (Abb. 9).

Biochemische Bestimmungen ergeben einen erhöhten Gehalt an *saurer Phosphatase* in der Niere bei phenacetinbehandelten Ratten (TORHORST u. Mitarb., 1967). Dieser Befund weist zusammen mit den histochemischen Ergebnissen darauf hin, daß die Pigmentkörper aller Wahrscheinlichkeit nach als Phagolysosomen aufgefaßt werden dürfen. In ähnlicher Weise läßt sich auch das bei



Abb. 8 (vgl. Abb. 7!). Autophagievacuole, welche Mitochondrientrümmen in sich einschließt (Pfeil). Umgebendes Cytoplasma hell. *M* Mitochondrium, *BM* tubuläre Basalmembran. 12500:1

Alterungsprozessen der Zelle vermehrt auftretende Lipofuscin solchen lysosomalen Organellen zuordnen (Lit. bei DE DUVE, 1964). Bei langdauerndem Analgeticaabusus kann beim Menschen ein gehäuftes Auftreten von Lipofuscin in der Leber beobachtet werden (ABRAHAMS u. Mitarb., 1963). Auch bei Phenacetinbehandlung wird die Möglichkeit einer frühzeitig einsetzenden Alterung der Zelle diskutiert (STUDER und SCHÄRER, 1965).

In den Phagolysosomen setzt sodann eine Verdauung durch lysosomale Fermente ein. Dabei ist sowohl die Art und Weise der Pigment- oder Phenacetinaufnahme bzw. der Pigmentbildung als auch die Frage der Umwandlung der reinen Pigmentkörper zu verdauenden, d.h. lysosomalen Organellen ungeklärt (vgl. dazu auch DE DUVE, 1964; KIRSCH, 1966; ROHR, 1966). Reste dieser lysosomalen Verdauung dürften unter anderem Lipide sein, welche u.E. nun den

Ausgangspunkt und eine Vorbedingung für die Entstehung der beobachteten Myelinfiguren (Abb. 6) bilden, denn sehr oft können diese Lamellensysteme in engster Beziehung zu den Pigmentformationen beobachtet werden. Durch die sehr ausgedehnte Pigmentablagerung in den Tubulusepithelzellen könnte eine allgemeine Schädigung der Tubuluszelle induziert werden, welche außerdem aller

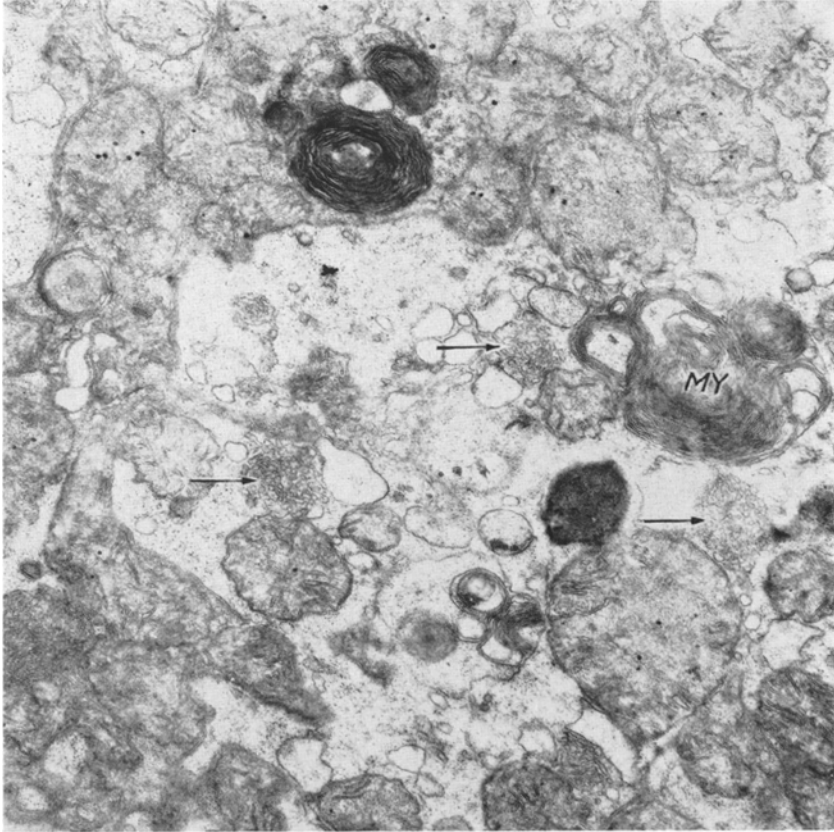


Abb. 9 (vgl. Abb. 7!). Herdförmige Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums (Pfeil). Vereinzelt kleinere Myelinfiguren (MY) ohne ersichtliche Zusammenhänge mit Pigmentkörpern. 12500:1

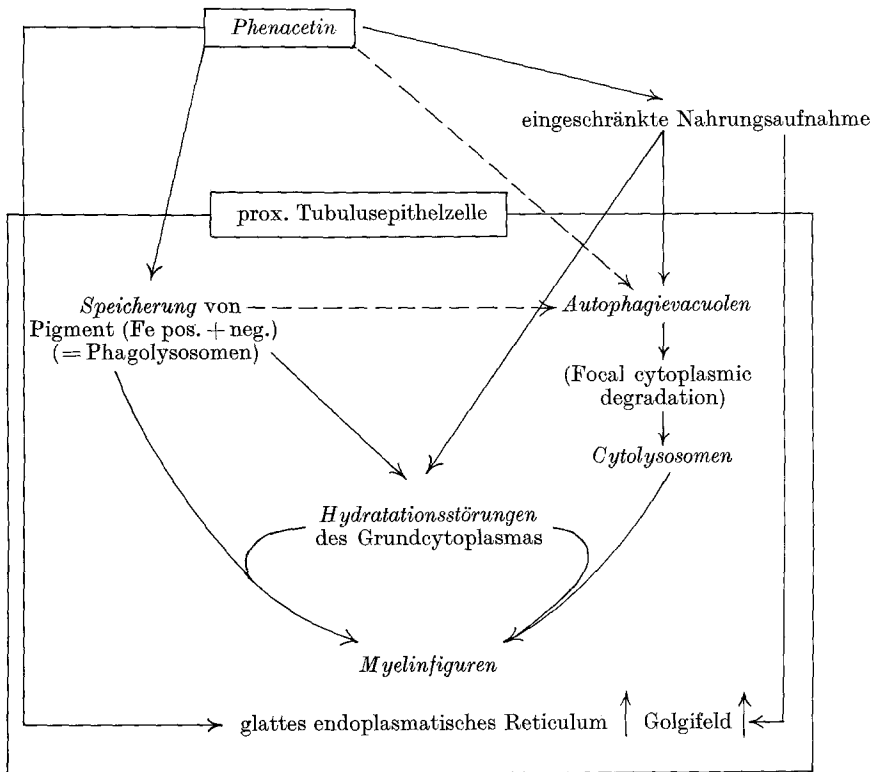
Wahrscheinlichkeit nach durch die stark reduzierte Nahrungsaufnahme der Phenacetinratten verstärkt wird. Kontrollversuche mit fastenden Ratten ergaben ähnliche Tubulusveränderungen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll (TORHORST u. Mitarb., 1966). Dabei werden ebenfalls Autophagievacuolen und Cytolysosomen beobachtet. Als Autophagievacuolen werden durch eine Membran vom umgebenden Cytoplasma getrennte Bezirke bezeichnet, welche Trümmer von Zellorganellen in sich einschließen. Ähnliche Autophagievacuolen können auch bei experimenteller Hydronephrose der Ratte im proximalen Tubulus (NOVIKOFF, 1959), in der Leber bei Hypoxie (CONFER und STENGER, 1964) und nach Glucagon-gabe (ASHFORD und PORTER, 1962) beobachtet werden. Durch das Hinzutreten von hydrolytischen Fermenten wandeln sich diese Autophagievacuolen zu Cyto-

lysosomen um. Die Autophagievacuolen könnten demnach als prälysosomale, die Cytolysosomen als eigentliche lysosomale Funktionsform aufgefaßt werden (ROHR, 1966). Die von HRUBAN u. Mitarb. (1963), SWIFT und HRUBAN (1964) beschriebene fokale cytoplasmatische Degeneration, nämlich umschriebene, membranumgebene intracelluläre Autolysefelder, wäre als eine Sonderform der Autophagievacuolen bzw. der Cytolysosomen aufzufassen.

Die Myelinfiguren wären demnach als eine besondere Umwandlungsform in der Spätphase der lysosomalen Verdauung bei gleichzeitiger konditionierender allgemeiner Zellschädigung aufzufassen (vgl. dazu auch DAEMS, 1962). CECIO (1964) faßt jedoch die „lamellar bodies“ nicht als lysosomale, sondern als selbständige Gruppe von Zellorganellen auf.

Einer besonderen Erwähnung bedarf schließlich noch das herdförmige Auftreten von Elementen des glatten endoplasmatischen Reticulums. Das glatte endoplasmatische Reticulum wird oft in einen direkten Zusammenhang mit dem Fett- und Glykogenstoffwechsel gebracht (Lit. bei FAWCETT, 1966). Ein vermehrtes Auftreten von Elementen des glatten endoplasmatischen Reticulums kann auch nach Gabe von toxischen und carcinogenen Substanzen wie 3-Methyl-4-dimethylaminoazobenzen, nach Phenobarbital (REMMER und MERKER, 1963) und bei hungernden Ratten (PORTER und BRUNI, 1960) beobachtet werden. Dabei kann nach Verabreichung von lipoidlöslichen Substanzen wie Phenobarbital gleichzeitig eine Vermehrung von oxydierenden Fermenten, welche die Elimination der applizierten Pharmaka beschleunigen sollen, nachgewiesen werden (REMMER und MERKER, 1963). Außerdem sind die freien Ribosomen vermehrt. Ein solches gehäuftes Auftreten von freien Ribosomen können wir nicht beobachten. Die lipoidlöslichen Pharmaka dringen leicht in die Zelle ein, verlieren jedoch nach Hydrolyse und Oxydation die Lipoidlöslichkeit, so daß die Stoffwechselprodukte nur sehr langsam wieder aus der Zelle ausgeschleust werden können. Die Vermehrung der glatten Membranen des endoplasmatischen Reticulums, welche wahrscheinlich mit dem Extracellulärraum in Verbindung stehen (HAGUENAU, 1958; PORTER, 1961), könnte die Ausschleusung der Umwandlungsprodukte dieser Pharmaka beschleunigen (REMMER und MERKER, 1963). Die vergrößerten und gehäuft auftretenden Golgifelder sprechen in unserem Falle auch für eine im Zusammenhang mit Phenacetin stehende Induktion von Fermentsynthesen (vgl. dazu ROHR, 1966; ROHR und SIGWART, 1967). Inwieweit die fokale Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums als Vorstufe oder als Regenerat des rauhen endoplasmatischen Reticulums aufzufassen sind, kann nicht entschieden werden. Ähnliche Veränderungen an der Tubuluszelle konnten in jüngster Zeit auch nach einseitiger Nephrektomie mit anschließender Röntgenbestrahlung beschrieben werden (LEAK und ROSEN, 1966). Dabei scheint es jedoch fraglich, ob diese Veränderungen als präneoplastische aufgefaßt werden dürfen oder ob sie u. U. Folge einer gleichzeitig auftretenden eingeschränkten Nahrungsaufnahme der Versuchstiere sind.

Die bei phenacetinbedingter Hämolyse am proximalen Tubulus der Ratteniere auftretenden ultrastrukturellen Veränderungen können schematisch folgendermaßen zusammengefaßt werden:



Zusammenfassung

Je zwei Gruppen von 50 bzw. 20 Ratten beiderlei Geschlechts erhielten während 3—27 Wochen phenacetinhaltiges Futter (2,0% bzw. 2,5%). Lichtmikroskopisch findet sich in den Nieren regelmäßig im proximalen Tubulus ein eisenpositives sowie ein eisennegatives Pigment. Eine interstitielle Nephritis oder Papillennekrosen sind nicht nachzuweisen. Elektronenoptisch werden in der proximalen Tubuluszelle beobachtet: 1. Elektronendichte, von einer Membran umgebene Pigmentkörper, welche teilweise Ferritin enthalten; 2. große, sehr polymorphe Myelinfiguren; 3. Vacuolen, welche Cytoplasmabestandteile in sich einschließen; 4. eine deutliche Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums.

Unter Berücksichtigung der Literatur erscheint folgende Deutung der Veränderungen möglich: Durch die massive Speicherung von eisenpositivem und eisennegativem Pigment in Phagolysosomen und durch die Mangelernährung werden einzelne Cytoplasmabezirke geschädigt und sodann durch eine Membran abgegrenzt. Innerhalb dieser Bezirke setzt eine „Verdauung“ durch lysosomale Enzymsysteme ein. Dadurch werden Phospholipide frei, welche sich als Folge von intracellulären Hydratationsstörungen zu Myelinfiguren umformen können.

Ultrastructural Changes of the Proximal Renal Tubulus Cell in Rats after Overdose of Phenacetin

Summary

Two groups of 50 and 20 rats respectively, of both sexes, were fed a diet containing 2.0% and 2.5% phenacetin respectively, for 3—27 weeks. An examina-

tion by light microscopy regularly showed an iron-positive and iron-negative pigment in the cells of the proximal renal tubulus. Interstitial nephritis or papillary necrosis has not been found. By electron microscopy the following were observed in the proximal tubular cells: electron-dense pigment corpuscles surrounded by a membrane and partly containing ferritin; large, very polymorphous myelin figures; vacuoles which included cytoplasmatic components, and a distinct increase of the smooth endoplasmatic reticulum.

Taking into account the literature, these changes may be explained as follows: By a large storage of iron-positive and iron-negative pigment in phagolysosomes and by malnutrition, some areas of cytoplasm are damaged and then separated by a membrane. In these areas a "digestion" by lysosomal enzymes begins. In this way phospholipids become released which can, as a sequence of disorders of intracellular hydration, be transformed to myelin figures.

Literatur

- ABRAHAM, C., A. H. RUBENSTEIN, N. W. LEVIN, and U. WUNDERLICH: Experimentally induced analgesic nephritis in rats. *Arch. Path.* **78**, 222 (1964).
- A. WHEATLEY, A. H. RUBENSTEIN, and D. STABLES: Hepatocellular lipofuscin after excessive ingestion of analgesics. *Lancet* **1963** II, 621.
- ASHFORD, T. P., and K. R. PORTER: Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. *J. Cell Biol.* **12**, 198 (1962).
- CAMPICHE, M.: Les inclusions lamellaires des cellules alvéolaires dans le poumon du raton. Relations entre l'ultrastructure et la fixation. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 302 (1960).
- CECIO, A.: Electron microscopic observations of young rat liver. I. Distribution and structure of the myelin figures (lamellar bodies). *Z. Zellforsch.* **62**, 717 (1964).
- CHOU, J. T. Y.: The cytoplasmic inclusions of the neurons of *Helix aspersa* and *Limnaea stagnalis*. *Quart. J. micr. Sci.* **98**, 47 (1957).
- , and G. A. MEEK: The ultrafine structure of lipid globules in the neurons of *Helix aspersa*. *Quart. J. micr. Sci.* **99**, 279 (1958).
- CONFER, D. B., and R. J. STENGER: The evolution of lysosomes in hypoxic liver parenchyma as seen with the electron microscope. *Amer. J. Path.* **45**, 533 (1964).
- DAEMS, W. TH.: Mouse liver lysosomes and storage. A morphological and histochemical study. Leiden: Druckerei „Luctor et emergo“ 1962.
- DUVE, D. B. DE: From cytases to lysosomes. *Fed. Proc.* **23**, 1045 (1964).
- FAWCETT, D. W.: The cell. Its organelles and inclusions. In: *An atlas of fine structure*, p. 188. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co. 1966.
- FORDHAM III, C. C., W. D. HUFFINES, and L. G. WELT: Phenacetin induced renal lesions in the rat. *Clin. Res. Proc.* **12**, 251 (1964).
- GLOOR, F.: Die doppelseitige chronische nicht obstruktive interstitielle Nephritis. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **41**, 64 (1961).
- Die doppelseitigen, chronischen nicht obstruktiven interstitiellen Nephritiden. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **49**, 92 (1965).
- HAGUENAU, F.: The ergastoplasm. Its history, ultrastructure and biochemistry. *Int. Rev. Cytol.* **7**, 425 (1958).
- HERDSON, P. B., P. J. GARVIN, and R. B. JENNINGS: Reversible biological and fine structural changes produced in rat liver by a thiohydantoin compound. *Lab. Invest.* **13**, 1014 (1964).
- — — Fine structural changes in rat liver induced by phenobarbital. *Lab. Invest.* **13**, 1032 (1964).
- HRUBAN, Z., B. SPARGO, H. SWIFT, R. W. WISSLER, and R. G. KLEINFELD: Focal cytoplasmic degradation. *Amer. J. Path.* **42**, 657 (1963).
- KIRSCH, K.: Lysosomen. *Dtsch. med. Wschr.* **91**, 1274 (1966).
- LEAK, L. V., and V. J. ROSEN jr.: Early ultrastructural alterations in proximal tubular cells after unilateral nephrectomy and X-irradiation. *J. Ultrastruct. Res.* **15**, 326 (1966).
- MASSHOFF, W., u. G. HOLLMANN: Die interstitielle Nephritis. *Internist (Berl.)* **3**, 629 (1962).

- MOOLTEN, S. F., and I. B. SMITH: Fatal nephritis in chronic phenacetin poisoning. *Amer. J. Med.* **28**, 127 (1960).
- NOVIKOFF, A. B.: The proximal tubule cell in experimental hydronephrosis. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 136 (1959).
- PORTER, K. R.: The ground substance. In: *The cell*, vol. II, p. 621, ed. by BRACHET and MIRSKY. New York and London: Academic Press 1961.
- , and C. BRUNI: An electron microscope study of the early effects of 3'-Me-DAB on rat liver cells. *Cancer Res.* **19**, 997 (1960).
- REBER, K., u. A. STUDER: Autohistographischer Nachweis von Phenacetin oder Phenacetin-Abbauprodukten im Leber- und Nierenpigment Phenacetin-belasteter Katzen. *Med. Pharm. Exp. (Basel)* **13**, 257 (1965).
- REMMER, H., u. H. J. MERKER: Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital (Luminal). *Klin. Wschr.* **41**, 267 (1963).
- REYNOLDS, T. B., and H. A. EDMONDSON: Chronic renal disease and heavy use of analgesics. *J. Amer. med. Ass.* **184**, 435 (1963).
- ROHR, H. P.: Elektronenmikroskopische Autoradiographie. *Habil.-Arbeit* Freiburg 1966.
- Die funktionelle Bedeutung der Lysosomen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. *Schweiz. med. Wschr.* **96**, 1712 (1966).
- , u. U. SIEGWART: Elektronenmikroskopisch-autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Leucin über den Eiweißstoffwechsel der Leber (1967) (in Vorbereitung).
- RUBENSTEIN, A. H., C. ABRAHAMS, N. W. LEVIN, and D. P. STABLES: Acetophenetidin nephritis and papillary necrosis. *Arch. intern. Med.* **113**, 378 (1964).
- SCHIEDEGGER, S.: Pathologisch-anatomischer Beitrag zur Frage der chronischen interstiellen Nephritis im Anschluß an Abusus von phenacetinhaltigen Analgetica. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **14**, 139 (1958).
- Beitrag zur Frage der chronischen Phenacetinintoxikation. *Arch. Toxikol.* **19**, 19 (1961).
- SCHNITZER, B., and E. B. SMITH: Effects of the metabolites of phenacetin on the rat. *Arch. Path.* **81**, 264 (1966).
- — Localization of hemosiderin. *Arch. Path.* **81**, 402 (1966).
- —, and A. GOLDEN: The effects of phenacetin and its contaminant on the kidney of the rat. *Amer. J. Path.* **46**, 917 (1965).
- STENGER, R. J.: Regenerative nodules in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. A light and electron microscopic study of lamellar structures encountered therein (abstr.). *Scientific Proceedings of the American Association of Pathologists and Bacteriologists. Amer. J. Path.* **44**, 31a (1964).
- STOECKENIUS, W.: Fixierung von Myelinfiguren aus Phosphatiden und Eiweiß mit OsO₄ und KMnO₄. *IV. Int. Conf. E. M. Berlin 1958*, **2**, 174 (1960).
- STUDER, A.: Attempts to induce renal lesions in the experimental animal by analgesics. In: *Progress in pyelonephritis*, p. 307, ed. by KASS. Philadelphia: Davis 1965.
- STUDER, A., u. K. SCHÄRER: Langfristige Phenacetinbelastung am Hund mit Berücksichtigung der Leber- und Nierenpigmentierung. *Schweiz. med. Wschr.* **95**, 933 (1965).
- SWIFT, H., and Z. HRUBAN: Focal degradation as a biological process. *Fed. Proc.* **23**, 1026 (1964).
- TAPPEL, A. L.: Studies of the mechanism of vitamin E action III. In vitro copolymerisation of oxidized fats with protein. *Arch. Biochem.* **54**, 266 (1955).
- THOENES, W., u. P. BANNASCH: Elektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thioacetamid-Vergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 556 (1962).
- WOODARD, G., K. F. POST, K. O. COCKRELL, and M. T. I. CRONIN: Phenacetin: Long term studies in rats and dogs (Abstr.). *Toxicol. appl. Pharmacol.* **7**, 503 (1965).

Professor Dr. A. STUDER

Leiter der Abt. für exper. Medizin der Fa. Hoffmann-La Roche & Co. AG,
CH-4000 Basel, Grenzacherstr. 124