

Histologie und Ultrastruktur kristalloider Einlagerungen in den Podocyten bei Paraproteinämie

PAVEL ROSSMANN, ANTONÍN HORNYCH und MIROSLAV ENGLIŠ

Institut für Kreislaufforschung, Praha-Krč. (Direktor: Prof. MUDr JAN BROD, Dr. Sc.)

Abteilung für klinische Biochemie des Institutes für Fortbildung
für Ärzte und Pharmazeuten (Leiter: Doz. MUDr K. MAŠEK, C. Sc.)

Eingegangen am 18. September 1967

Histology and Ultrastructure of Crystalloid Inclusions in the Podocytes in a Case of Paraproteinaemia

Summary. Paracrystalline, probably proteinaceous inclusions have been found in the podocytes of renal biopsy tissue from a 44 year old woman suffering from γ -G-paraproteinemia. The histology and fine structure of the podocytes are described. The crystals are enclosed within vesiculae of the endoplasmic reticulum and show a longitudinal ultrastructural periodicity.

Zusammenfassung. Es wurde der histologische Befund und die feine Struktur kristalloider, wahrscheinlich erweißartiger, Gebilde beschrieben, die bei der Nierenbiopsie einer 44jährigen Patientin mit γ -G-Paraproteinämie in glomerulären Deckzellen (Podocyten) gefunden wurden. Die Kristalle sind in die Strukturen des endoplasmatischen Reticulum eingelagert und haben eine angedeutete periodische Anordnung.

Die Neigung der Paraproteine zur extra- und intracellulären Kristallisierung ist schon lange bekannt und wurde hauptsächlich in den Elementen des Reticuloendothels und in den Nieren beschrieben (ŠIKL, 1949, ebendort die vorangehenden Schrifttumangaben). Neuerdings wurden die kristalloiden Einlagerungen — am häufigsten in den Markzellen — auch elektronenoptisch untersucht. Vor kurzem hatten wir die Gelegenheit eine Patientin zu beobachten, bei der Serumparaproteine in der γ -Globulinfraktion vorkamen und bei der Nierenbiopsie in den Glomeruli zahlreiche, morphologisch eigenartige kristalloide Gebilde vorgefunden wurden. Diese Abhandlung befaßt sich mit ihrer Histologie und Ultrastruktur.

Eigene Beobachtung

Auszug aus dem klinischen Befund. J.K., 44jährige Textilarbeiterin. Seit 18 Monaten litt sie an linksseitigen Lendenschmerzen, dysurischen Beschwerden und Subfebrilitäten, die sich nach antibiotischer Behandlung verbesserten. Außerdem wurde 14 Monate vor der Biopsie eine Proteinurie von 2—3 g pro 24 Std festgestellt. Im Addis-Sediment waren 1—6 Mill. Erythrocyten, 1—2 Mill. Leukocyten und 0,1—0,2 Mill. Cylinder. Die Glomerularfiltration im 24 Std-Versuch normal (Clearance des endogenen Kreatinins 106 ml/min) sowie die Konzentrationsfähigkeit (max. 1030). Die intravenöse Pyelographie, die linksseitige ascendente Pneumopyelographie und Cystoskopie ergaben normale Befunde, ebenso die Isotopennephrographie. Serumeiweißanalyse: Serumeiweißspiegel 6,9 g-%, davon 56% Albumine, 5,5% α_1 -Globuline, 7,5% α_2 -Globuline, 10% β -Globuline und 22% γ -Globuline. Bei der Serumelektrophorese wurde ein ausdrücklich atypischer Gradient der Paraproteine im Bereich der mittelschnellen



Abb. 1. Im Cytoplasma der Deckzellen mehrere dunkelviolettfärbte rhombische Kristalle (rechts und links) und kleine nadelförmige Einschlüsse (links oben). Hämatoxylin nach Phosphorwolframsäure. 740×

γ -Globuline ermittelt und bei der Immunelektrophorese wurde eine γ -G-Paraproteinämie nachgewiesen. Bei der Harnanalyse fanden wir in größter Konzentration Albumin und nur Spuren von näher nicht bestimmten Eiweißstoffen aus dem Bereiche der α_1 -, α_2 -, γ -Globuline und γ -G-Protein. Erschöpfende Untersuchungen am Skelet und normale Ergebnisse des Sternalpunktates schlossen ein Myelom aus. Mit Rücksicht auf die niedrige Paraproteinkonzentration im Blutserum zogen wir die sog. gutartige Paraproteinämie in Erwägung (benigne monoklonale Hyperglobulinämie, HALLEN, 1966; ENGLIŠ, 1967).

Da das Wesen der Proteinurie ungeklärt blieb, wurde am 8. 3. 67 eine *Punktionsbiopsie der rechten Niere* vorgenommen, deren Bearbeitung und Ergebnisse anschließend wiedergegeben sind.

Ergebnisse

Auszug aus dem histologischen Befund. Die endocapilläre Zellen der Glomerula normal, ohne auffallende Proliferation, die Capillarwände zart, die Lumina und das Mesangium von üblicher Breite.

Die Deckzellen des visceralen Epithels (Podocyten) besitzen ein voluminöses Cytoplasma. Bei Anwendung der PTAH-Methode werden in diesen Zellen zahlreiche intracytoplasmatische, scharf begrenzte kristalloide Gebilde von nadelförmiger oder rhombischer Form sichtbar. Vereinzelt kommen größere spitzige rhombische Formationen vor (Abb. 1). Alle diese Gebilde ergeben eine praktisch negative PAS-Reaktion, mit Toluidinblau verfärben sich kaum merklich nur große Kristalle (in blaugrüner Tönung).

In den tubulären Hauptstücken ist eine deutliche bis massive Tropfenbildung im Cytoplasma der Epithelien.

Abb. 2. Kristalloide Einschlüsse (*Cr*) in den mit einfacher glattwandiger Membran begrenzten Zisternen (*Cy*). Im Cytoplasma der Podocyten Vacuolen des granulären ergastroplasmatischen Reticulum (*Er*), die von Ribosomen umgeben sind und auch freie Ribosomen. Mitochondrien (*Mch*), multivesiculäre Körper (*Mv*) und die Basalmembran (*Bm*) einer Glomeruluscapillare ohne größeren Veränderungen. 36900×. Fixation in 2% OsO_4 bei pH 7,4 (2 Std), Einbettung in Vestopal W, Kontrastierung mit Uranyl- und Bleiazetat

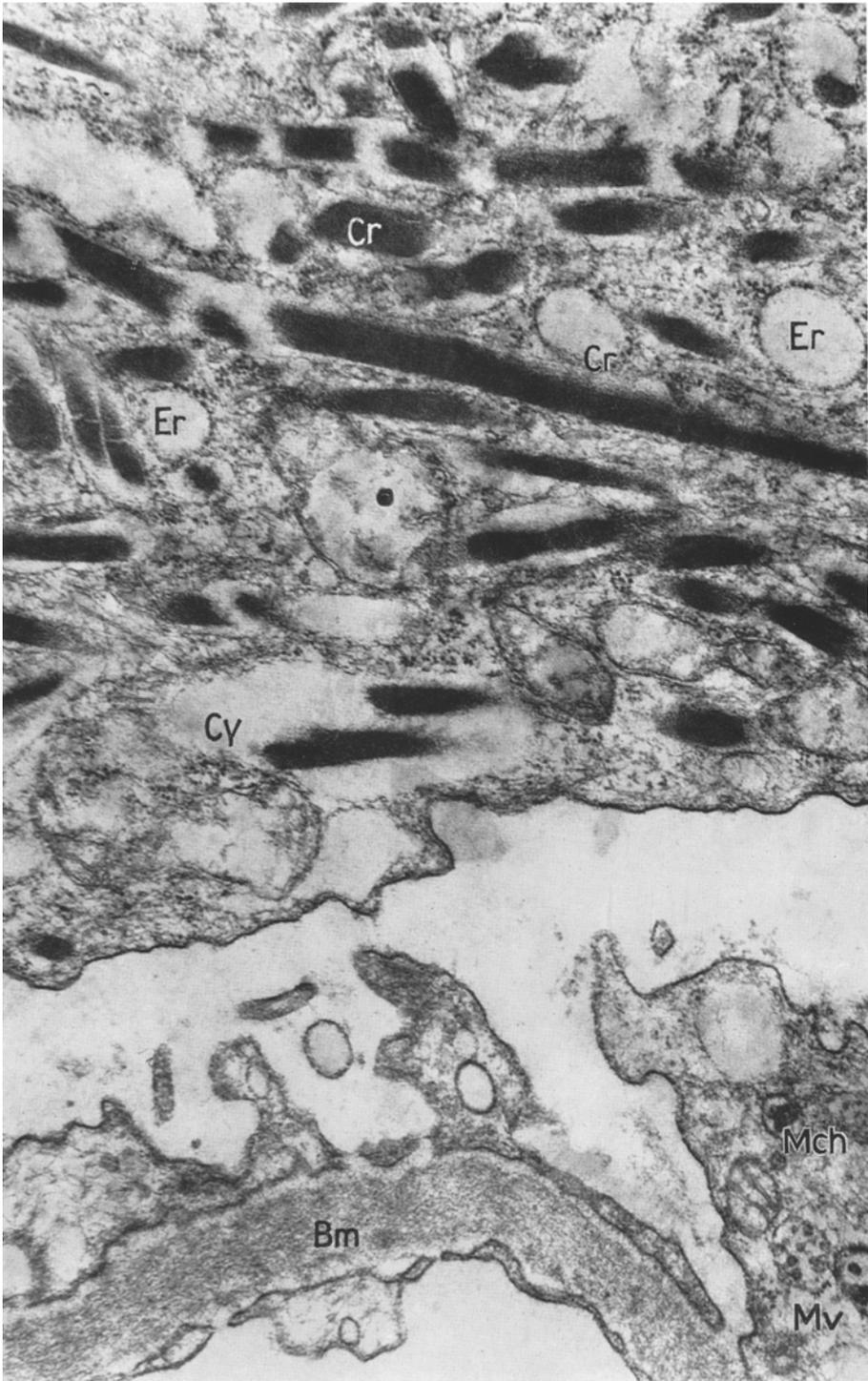


Abb. 2 (Legende s. Seite 152)

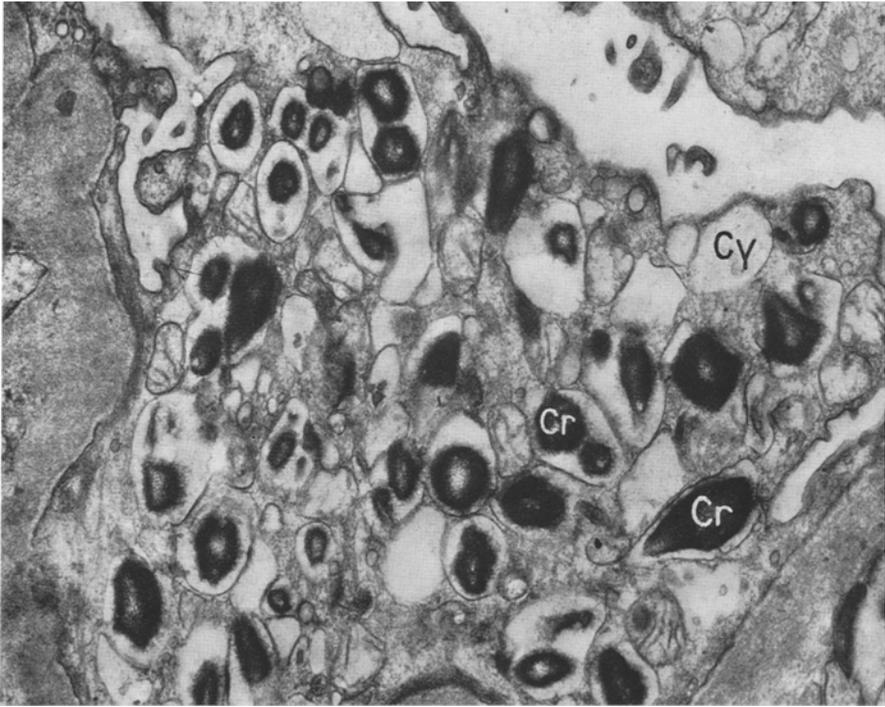


Abb. 3. Im Querschnitt haben die kristalloiden Einschlüsse (*Cr*) eine polygonale (meist hexagonale) Gestalt und liegen in den dilatierten glattwandigen Zisternen (*Cy*). Die Pedicellen sind verschwunden. 27000 \times

Elektronenoptischer Befund. Die Podocyten enthalten in ihrem Cytoplasma zahlreiche elektronendichte kristalloide Gebilde (Abb. 2), die an den Enden zugespitzt sind, in mit einfacher Membrane begrenzten Vacuolen und Zisternen. Diese Membranen sind größtenteils glatt und lassen jegliche nähere Beziehung zu den Ribosomen vermissen, die nur in geringer Zahl in der Nähe der Zisternen vorkommen. Die kristalloiden Gebilde haben im Querschnitt eine kreisförmige, stellenweise aber deutlich polygonale (am häufigsten eine hexagonale) Form (Abb. 3). An einer Stelle wurde eine große hexagonale Einlagerung erfaßt (Abb. 4), die wahrscheinlich den schon lichtoptisch nachweisbaren Kristallen entspricht (vgl. Abb. 1). Diese Einlagerung hat eine unregelmäßig bandförmige innere Struktur mit stark elektronendichten Streifen an der Peripherie und einem weniger elektronendichten granulierten Kern. Sie ist ebenfalls in einer dilatierten, mit einfacher glatter Membrane begrenzten Zisterne gelagert.

Parakristallinische Einlagerungen sind im ganzen Cytoplasma der Podocyten verstreut, stellenweise hart an der Nuclearmembran, bzw. in deren Invaginationen, so daß der Eindruck einer „intranucleären“ Lokalisation entsteht. Bei maximaler Vergrößerung im benützten Mikroskop (Tesla BS 242 D) kommt wenigstens stellenweise der Anschein einer Periodizität zum Vorschein, die durch elektronendichte und elektronendünnere Streifen entsteht. Die Breite einer Periode schätzen wir auf ungefähr 120 Å (Abb. 5). Die aus den Kristallen in die Umgebung

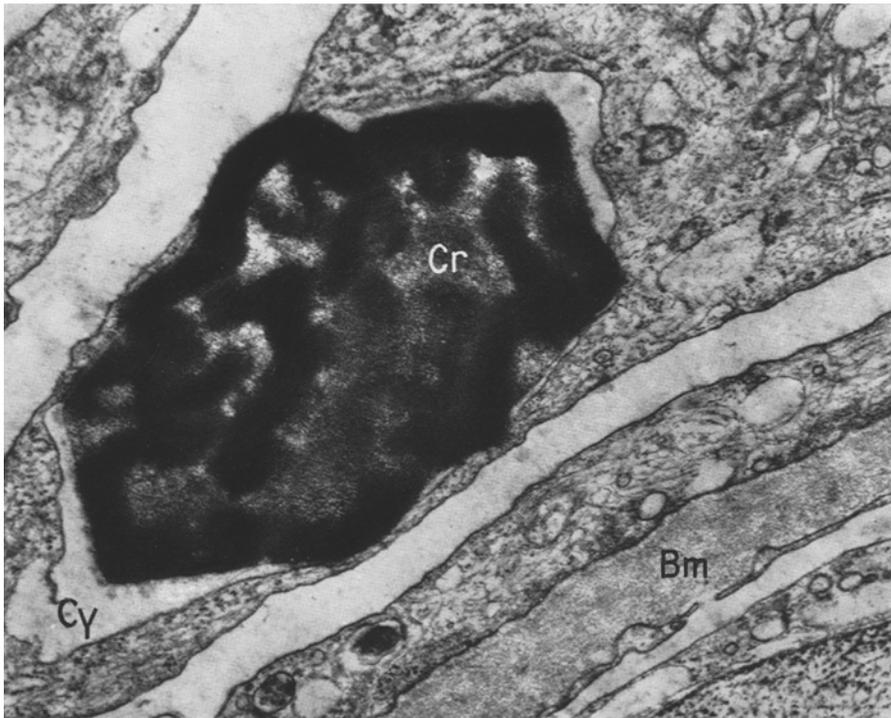


Abb. 4. Große hexagonale Kristallinklusion (*Cr*) mit stark elektronendichtem, unregelmäßigem, peripher verlagertem Saum und granuliertem Zentrum. Sie liegt in einer glattwandigen Zisterne (*Cy*). Die Pedicellen sind verschwunden, die Basalmembran (*Bm*) selbst ist normal.
25500×

auslaufenden Querstreifen sowie die „Infraktionslinien“ sind wahrscheinlich Artefakte.

Die Rindentubuli sind ohne gröbere Veränderungen. In manchen Zellen wurden umfangreiche, kugelförmige, mit einer einfachen Membran umgebene Körper festgestellt, die mit einem ziemlich elektronendichten, granulären, strukturmäßig dem Kern ähnlichen Stoffe aufgefüllt sind. Kristallinische Gebilde sind weder in den Tubuli noch im Interstitium vorhanden.

Diskussion

Den grundlegenden morphologischen Befund stellt also das Vorhandensein einer großen Zahl eigenartiger parakristallinischer Gebilde in den glomerulären Deckzellen dar. Die Widerstandsfähigkeit dieser Einlagerungen gegen Extraktion mittels Alkohol und Aceton, sowie die PAS-Negativität und im Gegensatz dazu die hohe Affinität zum Hämatoxylin nach Phosphorwolframsäure läßt den Verdacht aufkommen, daß diese Kristalle — entweder gänzlich oder in wesentlichem Maße — aus Eiweißstoffen gebildet sind. Immunoelktrophoretisch wurde im gegebenen Falle im Serum γ -G-Paraprotein nachgewiesen, welches sich jedoch nur in geringem Maße in den Harn ausscheidet. Es drängt sich also eine Frage auf,

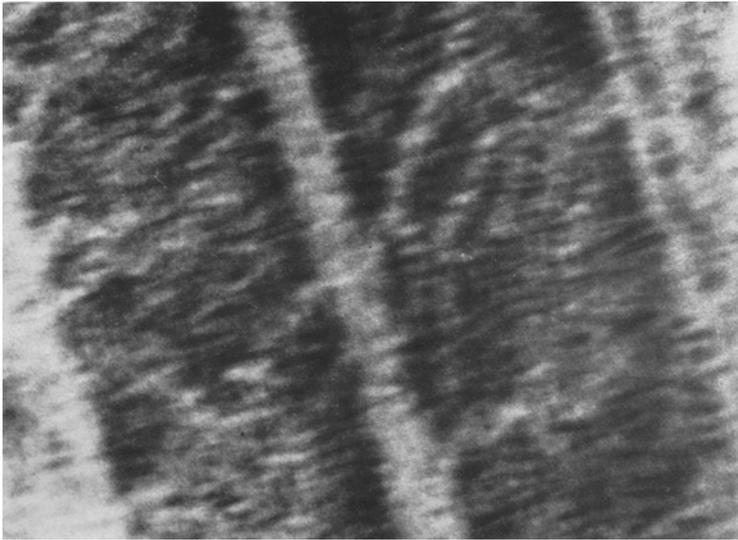


Abb. 5. Detail eines Teiles zweier Kristalleinschlüsse. Stellenweise angedeutete längslamelläre Struktur. Die Queraufhellungen und Querstreifen sind wahrscheinlich Artefakte. 172000 \times

ob dieses Paraprotein nach dem Durchtritt durch das normale Endothel und die Basalmembran nicht im Podocytenkörper aufgehalten wurde, wo es — entweder wegen der Größe des Moleküls oder anderen uns näher nicht bekannten physikalisch-chemischen Eigenschaften — in situ kristallisiert. Wie wir bereits erwähnten, waren die Kristalle allgemein im Inneren der entweder glattwandigen oder nur spärlich mit Ribosomen umgebenen Zisternen gelagert, während wir sie in den klassischen Strukturen des granulären ergastoplasmatischen Reticulums nicht mit Sicherheit nachweisen konnten. Dadurch unterscheidet sich die beschriebene Ultrastruktur von der Lokalisation der bekannten plasmocytären Russellschen Körperchen, bei denen sich die Einlagerungen typisch im hypertrophischen, dilatierten, mit Ribosomen umgebenen ergastoplasmatischen Reticulum bilden (WELLENSIEK, 1957; HAN, 1961; WELSH, 1962). Diese Disparität berechtigt uns zur Ansicht, daß — zum Unterschied von den Plasmocysten — die in den Podocyten kristallisierenden Proteine nur transportiert und nicht vielleicht dort in situ synthetisiert werden.

Intracelluläre Eiweißkristalle sind zwar ein seltener, aber nicht vereinzelter Befund. Größtenteils handelt es sich um Nierengewebe oder Zellen des Reticuloendothels.

Zum ersten Male wurden kristallisierende Proteine in der Lichtung der Nierentubuli von LÖHLEIN (1913) beschrieben und später direkt im Cytoplasma der tubulären Zellen (APITZ, 1940). ŠIKL (1949) brachte eine Übersicht von 14 Mitteilungen aus dem Schrifttum, wo neunmal eine Hämoblastose als Grundleiden angeführt wurde und zwar siebenmal (im achten Falle nicht ausgeschlossen) aus der plasmocytären Reihe. Im eigenen Falle von ŠIKL, der eine diffuse Plasmocytose betrifft, kamen Proteinkristalle sowohl in der Lichtung als auch den Zellen der Nierentubuli und vereinzelt auch in einer mononuclearen Lymphknotenzelle (wahrscheinlich einem Histiocysten) vor. Im Laufe weiterer systematischer Nachforschung sammelte VALACH (1955, 1957) in demselben Institut eine Zusammenstellung von 45 an Myelom Verstorbener;

bei diesen wurde zehnmal eine Proteinkristallisierung in den Nieren nachgewiesen, davon dreimal innerhalb der tubulären Zellen, aber nie in den Glomeruli.

Vereinzelte Beobachtungen intraglomerulärer Kristallbildung werden von NEUMANN (1949) und SICKEL (1959) angeführt. Auch hier handelte es sich in der ersten Mitteilung bestimmt und in der zweiten wahrscheinlich um ein Myelom, wo die nadelförmigen und rhombischen Kristallgebilde das Capillarkonvolut umringten und den Bowmanschen Raum völlig ausfüllten.

Intracelluläre Eiweißkristalle wurden neuerdings auch elektronenoptisch und zwar vor allem in den Elementen des Reticuloendothels (BESSIS, 1961; LIÈVRE u. Mitarb., 1961; ARGANI u. KIPKIE, 1965) beim Myelom, eventuell bei anderen Hämoblastosen und bei der Waldenströmschen Makroglobulinämie dargestellt. Das gemeinsame Kennzeichen dieser Einlagerungen besteht darin, daß sie nicht frei in der cytoplasmatischen Matrix, sondern immer in breiten, dilatierten, mit einfacher Membran begrenzten Zisternen gelagert sind, also im System des endoplasmatischen Reticulum. In enger Nachbarschaft dieser Membranen befinden sich äußerlich — zumindest herdförmig — die Ribosomen. Die Kristalle sind häufig in nächster Nähe des Kernes oder sogar tief in den Einbuchtungen der Kernmembran eingelagert, wie dies auch in unserem Fall war. Die Einlagerungen haben eine rhombische oder hexagonale Form und manchmal wird eine deutliche periodische Längsgliederung in Schichten von höherer und niedrigerer Elektronendichte bemerkbar. Die Breite der einzelnen Lamellen wird zwischen 60 Å (WELLENSIEK, 1957; ARGANI u. KIPKIE, 1965) und 100 bzw. 140 Å (BESSIS, 1961, in kristalloiden Formen plasmatischer Proteine bei Makroglobulinämie) angegeben.

Die Vorliebe der kristalloiden Einlagerungen zu dem Podocyten cytoplasma ist in unserem Falle recht auffallend; in diesen Zellen kommen nicht selten wohlbekannte acidophile Eiweißeinschlüsse, die jedoch eine ganz abweichende histologische und ultrastrukturelle Morphologie besitzen. Dasselbe gilt auch von zwei von HAMBURGER u. Mitarb. (1964) beschriebenen Fällen, bei denen sich in den Podocyten in Ultrastruktur zahlreiche Myelinfiguren befanden.

Wir danken Frau HANA HLADKÁ und Frau JANA POKORNÁ für die wertvolle technische Mitarbeit.

Literatur

- APITZ, K.: Zit. ŠIKL, 1949.
 ARGANI, J., and G. F. KIPKIE: Macroglobulinaemic nephropathy. *Amer. J. Med.* **36**, 151—157 (1964).
 — — The cellular origin of macroglobulins. *Lab. Invest.* **14**, 720—728 (1965).
 BESSIS, M. C.: Ultrastructure of lymphoid and plasma cells in relation to globulin and antibody formation. *Lab. Invest.* **10**, 1040—1067 (1961).
 ENGLŠ, M., u. M. ENGLŠOVÁ: Immunoelktrophorese in der Diagnostik von Paraproteinämien [Tschechisch]. Praha: Gesundheitsverlag 1967.
 HALLÉN, J.: Discrete gamma-globulin (M-) component in serum. Malmö: Sydsvenska Dagbladet Aktiebolag 1966.
 HAMBURGER, J., J. DORMONT, H. DE MONTÉRA et N. HINGLAIS: Sur une singulière malformation de l'épithélium rénal. *Schweiz. med. Wschr.* **94**, 871—876 (1964).
 HAN, S. S.: The ultrastructure of the mesenterial lymph node in the rat. *Amer. J. Anat.* **109**, 183—225 (1961).
 LIÈVRE, J. A., J. P. CAMUS, R. LÈVY, J. BADIN, M. BESSIS et F. TESSIER: Myélome à globuline cristallisable. *Nouv. Rev. franç. Hémat.* **1**, 23—35 (1961).
 LÖHLEIN, M.: Zit. ŠIKL, 1949.

- NEUMANN, V.: Multiple plasma cell myeloma with crystalline deposits in the tumour cells and in the kidneys. *J. Path. Bact.* **61**, 165—169 (1949).
- SICKEL, G.W.: Crystalline glomerular deposits in multiple myeloma. *Amer. J. Med.* **27**, 354—356 (1959).
- ŠIKL, H.: A case of diffuse plasmocytosis with deposition of protein crystals in the kidneys. *J. Path. Bact.* **61**, 149—163 (1949).
- VALACH, V.: Kristallinische Veränderung von Paraproteinen beim plasmocytärem Myelom [in Tschechisch]. *Univ. Carol. Med.* **1**, 379—392 (1955).
- Kristallisation von Paraproteinen beim Plasmozytärmyelom. *Schweiz. Z. Path.* **20**, 383—396 (1957).
- WELLENSIEK, H.J.: Zur submikroskopischen Morphologie von Plasmazellen mit Russellschen Körperchen und Eiweißkristallen. *Beitr. path. Anat.* **118**, 173—202 (1957).
- WELSH, R.A.: Light and electron microscopy correlation of the P.A.S. reaction in the human plasma cell. *Amer. J. Path.* **40**, 285—296 (1962).

Dr. PAVEL ROSSMANN
Institut für Kreislaufforschung
Praha-Krč/Tschechoslowakei
Budějovická 809