

Vergleichende Untersuchungen an Konkrementen der menschlichen Niere mit dem Rasterelektronenmikroskop*

KONRAD MORGENROTH JR. und RUPERT BACKMANN

Pathologisches Institut der Universität Münster (Direktor: Prof. Dr. W. GIESE)

Eingegangen am 6. Dezember 1968

Comparative Examinations of Concrements of the Human Kidney by Scanning Electron-Microscopy

Summary. The scanning electron microscope "Stereoscan" yields new results of the stereo-ultrastructure of crystalline deposits in the human kidney in diseases as oxalosis, gout, uric acid infarcts of newborns and calcification. The method seems particularly suited for the examining of the different morphological characteristics of crystals.

Zusammenfassung. Mit dem Rasterelektronenmikroskop „Stereoscan“ konnten Kristallablagerungen in der menschlichen Niere bei Oxalose, Gicht, Harnsäureinfarkten des Neugeborenen und Verkalkungen nachgewiesen werden. Mit dieser Methode ist es möglich, im sublichtmikroskopischen Bereich die morphologischen Unterschiede bei den verschiedenen Kristallisationsformen herauszustellen und gegeneinander abzugrenzen.

Die Darstellung kristalliner Strukturen in Geweben im sublichtmikroskopischen Bereich bereitet präparative Schwierigkeiten und war bisher nur durch Anwendung von Abdruckverfahren möglich. Bei solchen Untersuchungen haben sich vor allem auch wegen des geringen präparativen Aufwandes die Methoden der Rasterelektronenmikroskopie bewährt (MORGENROTH, BACKMANN und BLASCHKE, 1968; MORGENROTH, 1968). Das Rasterelektronenmikroskop hat zwar ein geringeres Auflösungsvermögen als das konventionelle Durchstrahlungselektronenmikroskop, bietet dafür aber eine bedeutend höhere Schärfentiefe. Dadurch wird es möglich, kristalline Strukturen in ihrer Beziehung zum umgebenden Gewebe in ihrer räumlichen Anordnung zu beurteilen.

In vergleichenden Untersuchungen, die stets in Kombination mit histologischen Kontrolluntersuchungen durchgeführt wurden, sollen verschiedene Konkrementtypen in der menschlichen Niere mit unterschiedlichen Ablagerungs- und Kristallisationsformen mit dem Rasterelektronenmikroskop dargestellt und die besonderen charakteristischen Merkmale der verschiedenen Ablagerungsformen gegeneinander abgegrenzt werden.

Untersuchungsgut und Methode

Bei dem Untersuchungsgut handelt es sich um Obduktionsmaterial. Das Nierengewebe mit Calciumoxalatkrystallablagerungen entstammt einem 27jährigen Mann, der an einer endogenen Oxalose erkrankt war und in der Urämie verstarb.

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

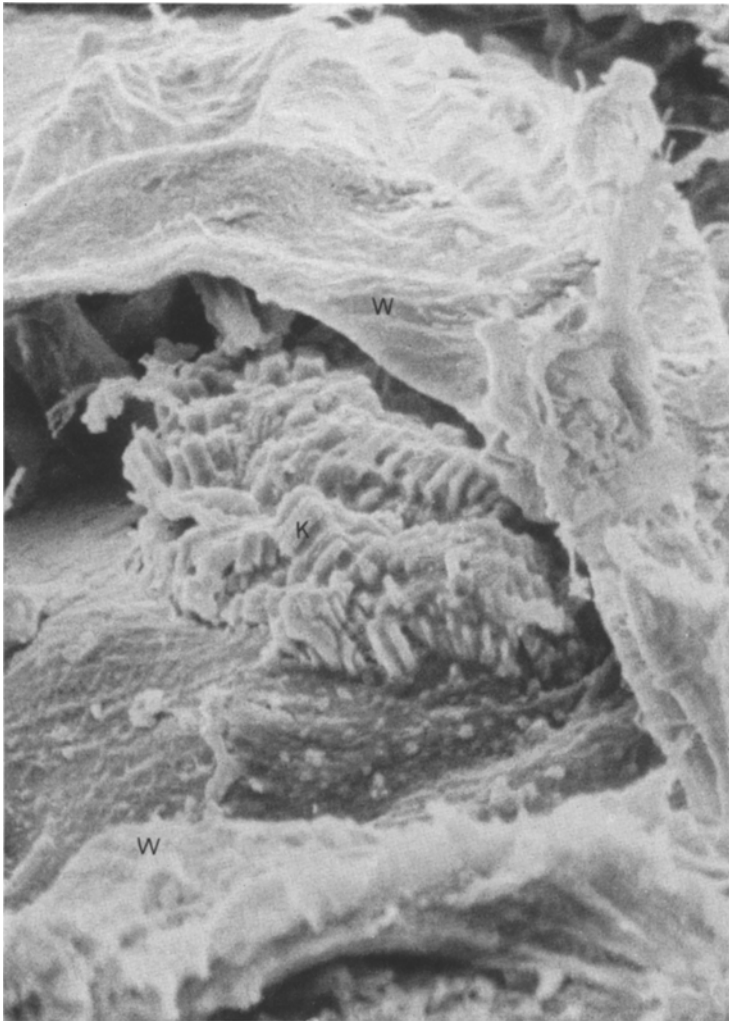


Abb. 1. Nierenanschnitt bei endogener Oxalose. In einem quergetroffenen Tubuluslumen (W-Tubuluswand) liegt ein Cylinder (K), der aus kleinen Kristallplättchen besteht. Vergr. 850:1

Für die Darstellung der Harnsäureinfarkte stand Material eines 3 Tage alt gewordenen Neugeborenen zur Verfügung, das an Herz- und Gefäßmißbildungen litt.

Der Nachweis der Natriumuratkristalle wurde an der Niere eines 63jährigen Mannes durchgeführt, bei dem seit Jahren eine Gicht mit Erhöhung des Serumharnsäurespiegels auf Werte zwischen 11,3 und 12,6 mg-% bekannt war.

Die Kalkablagerungen konnten an der Niere eines 59jährigen Mannes untersucht werden, der an Schwachsinn und einer Emphysebronchitis litt. Er verstarb an einer Lungenembolie bei Wadenvenenthrombosen.

Die Fixierung erfolgte, entsprechend den zu erwartenden Ablagerungen, bei der endogenen Oxalose und den Verkalkungen in 4%igem Formalin und bei der Gichtniere und der Niere mit Harnsäureinfarkten des Neugeborenen in 96%igem Alkohol.

Ein Teil des Materials wurde für die histologische Kontrolluntersuchung an Gefrier- und Paraffinschnitten nach Hämatoxylin-Eosin-, PAS-Färbung und für die Untersuchung im



Abb. 2. Nierenanschnitt bei endogener Oxalose. Einzeln oder in Gruppen stehende, an der Wand senkrecht aufgewachsene Calciumoxalatkristalle. Vergr.: 12700:1

polarisierten Licht an ungefärbten Schnitten entnommen und der übrige Teil für das Rasterelektronenmikroskop präpariert.

Für diesen Zweck wurden kleine Gewebstückchen, die eine Kantenlänge von ca. 5 mm hatten und ca. 2—3 mm dick waren, nach der Fixation aus den entsprechenden Anteilen der Niere abgetrennt. Die Gewebstückchen wurden nach der Formalinfixierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Die Präparate wurden nach der Entwässerung bzw. nach der Alkoholfixierung im Exsiccator getrocknet und auf kleine Metallplättchen aufgeklebt, die als Objektträger dienten. Danach wurde, um die Orientierung zu erleichtern, ein glatter Anschnitt der Oberfläche mit einer scharfen Rasierklinge gelegt.

Für die Untersuchungen im Rasterelektronenmikroskop muß die Oberfläche der Präparate mit einer leitenden Schicht versehen werden. Eine Mischbedampfung mit Kohle und Gold hat sich bei der Untersuchung biologisch-medizinischer Objekte bewährt (AMELUNXEN, MORGENROTH und PICKSAK, 1967; BLÜMCKE und MORGENROTH, 1967; MORGENROTH, 1967).

Für die Untersuchung stand ein Rasterelektronenmikroskop des Typs „Stereoscan“ der Firma Cambridge Instruments im Institut für Medizinische Physik der Universität Münster

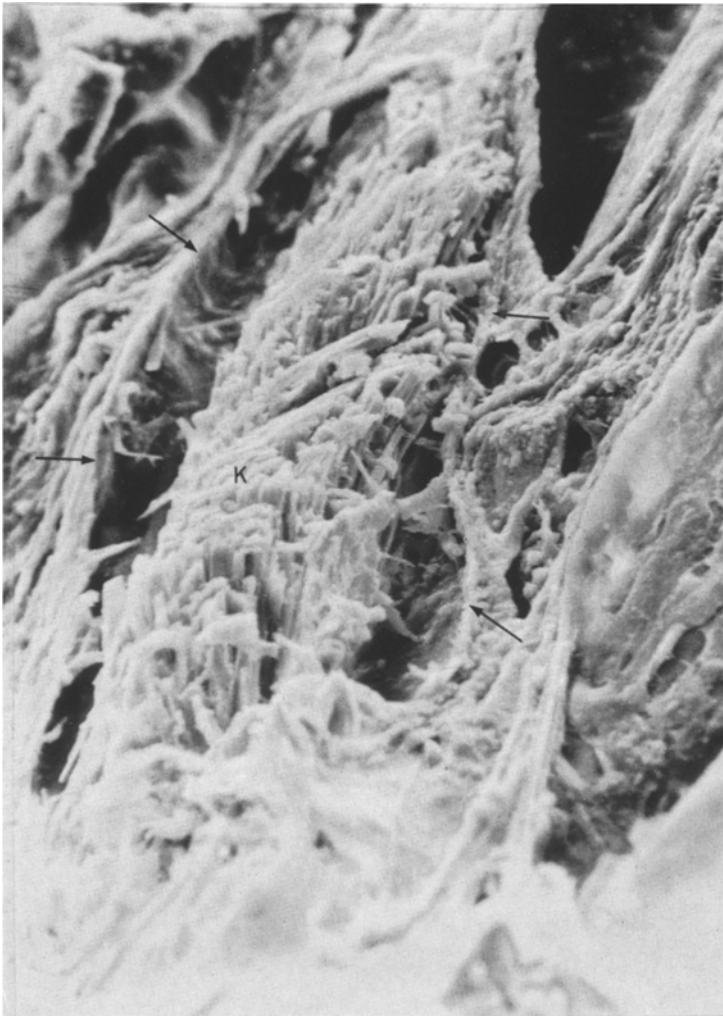


Abb. 3. Tangential eröffneter Tubulus in einem Anschnittpräparat der Niere bei Gicht.
Tubuluswand — Pfeile. Das Lumen ist von einem Kristallcylinder (K) ausgefüllt.

Vergr.: 640:1

zur Verfügung. Es wurde bei verschiedenen Neigungswinkeln der Objekte zwischen 30° und 60° und einer Strahlspannung von 20 kV gearbeitet.

Befunde

Die aus lichtmikroskopischen Untersuchungen bekannte Anordnung der Kristalle bei der Oxalose (ALLEN, 1960; ZOLLINGER, 1966; LARGIADER und ZOLLINGER, 1960) ist mit dem Rasterelektronenmikroskop genauer zu analysieren. In tangential oder quergetroffenen Anschnitten der Tubuli sind dichte Ansammlungen von Kristallen zu finden, die aus kleinen, deutlich abgrenzbaren Kristallplättchen bestehen (Abb. 1). Die Tubuli sind vereinzelt vollständig von solchen Kristallen ausgefüllt. Die Schichtung der Kristallplättchen kann zu rosetten-

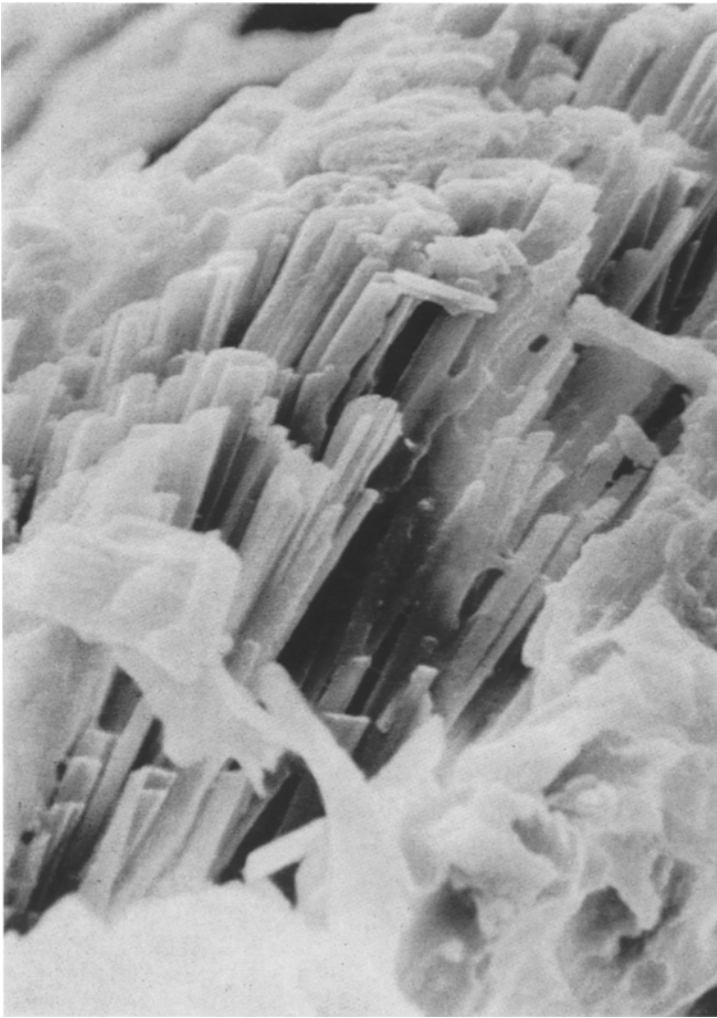


Abb. 4. Ausschnittvergrößerung aus Abb. 3. Die schlanken, nadelförmigen Kristalle bestehen aus deutlich abgrenzbaren Einzelementen. Vergr.: 3470:1

förmigen oder spiraligen Ablagerungsformen führen. Daneben sind einzelne Tubuli aufzufinden, an deren Wand einzelne oder in kleinen Gruppen zumeist senkrecht auf der Wand aufgewachsene Kristallplättchen nachzuweisen sind (Abb. 2).

In der Gichtniere sind die Ablagerungen auf einzelne Tubuli beschränkt. In der Übersichtsvergrößerung (Abb. 3) ist in einem tangential angeschnittenen Tubulus ein Cylinder zu erkennen, der das Lumen vollständig ausfüllt. Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 4) zeigt sich, daß dieser Cylinder aus dicht, in Büschelform aufeinander geschichteten, feinen, nadelförmigen, scharfkantigen Kristallen besteht. Diese Kristalle bestehen aus deutlich abgrenzbaren Einzelementen, die $2\text{ }\mu\text{m}$ breit und ca. $40\text{ }\mu\text{m}$ lang sind. Solitär oder in kleinen Gruppen stehende Kristalle wurden nicht aufgefunden.

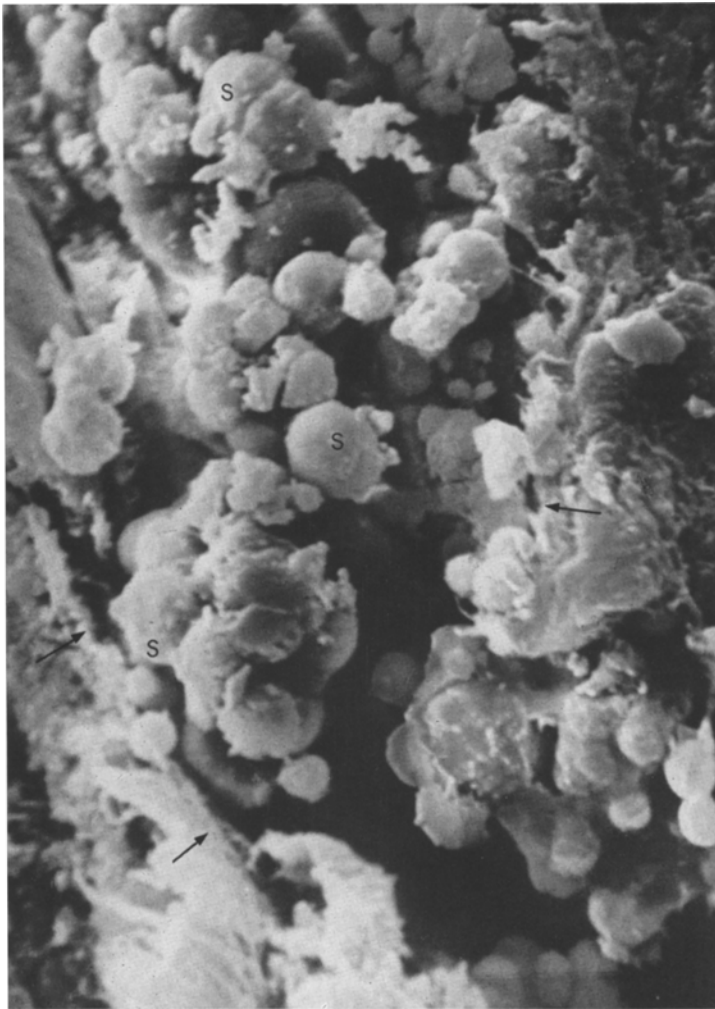


Abb. 5. Anschnittpräparat einer Niere eines Neugeborenen. Im Sammelrohlumen, Sammelrohrwand — Pfeile, sind einzelne und dicht zusammenliegende Sphärolithen zu erkennen (S).
Vergr.: 3600:1

Entsprechend den aus histologischen Untersuchungen bekannten Befunden (HEINRICHS, 1932; EHRLICH, 1932; HERMANN, 1963) konnten in der Niere des Neugeborenen Sphärolithen in allen Sammelrohren nachgewiesen werden, die als kugelige Gebilde in Erscheinung treten (Abb. 5). Sie liegen meistens in Haufen zusammen, daneben finden sich jedoch auch einzelne, der Wand der Sammelrohre anliegende Kugeln. Bei stärkerer Vergrößerung ist zu erkennen, daß den einzelnen Sphärolithen bröcklige Substanzen aufliegen. Wenn sie dichter gelagert sind, scheinen sie durch diese bröckligen Substanzen miteinander in Verbindung zu stehen.

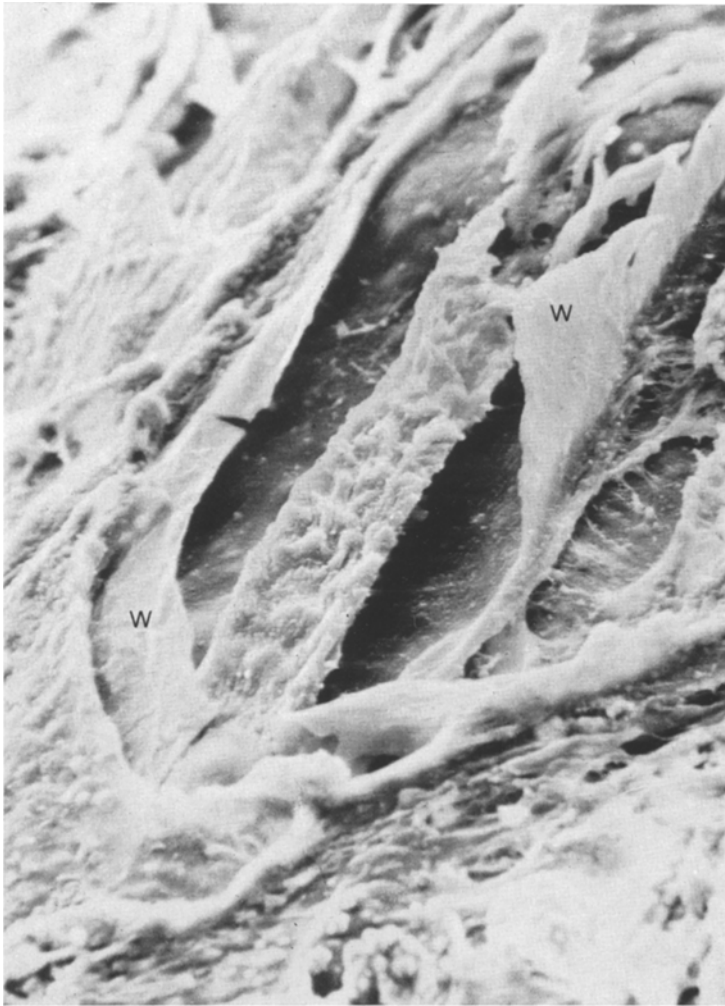


Abb. 6. Tangential eröffnetes Sammelrohr mit einem an der Wand haftenden Kalkstrang. Sammelrohrwand (W). Vergr.: 890:1

Bei den untersuchten Verkalkungen können zwei Typen unterschieden werden. In einem tangential eröffneten Sammelrohr ist ein relativ glatt begrenzter und gleichmäßig breiter, stabförmiger Strang zu erkennen, der der Wand des Sammelrohres anhaftet (Abb. 6). Dieser Strang zeigt bei stärkerer Vergrößerung eine unregelmäßige, nicht sehr tiefe Höckerung (Abb. 7).

Bei der Papillensklerose findet sich lichtmikroskopisch eine Verkalkung der Basalmembran des umgebenden Interstitiums und eine intracanaliculäre Verkalkung. Diese intracanaliculäre Verkalkung kann mit dem Rasterelektronenmikroskop dargestellt werden. Sie zeigt eine schollige Struktur und durchspannt wie ein Gerüst das Sammelrohrumen, in dem größere und kleinere Lücken zu

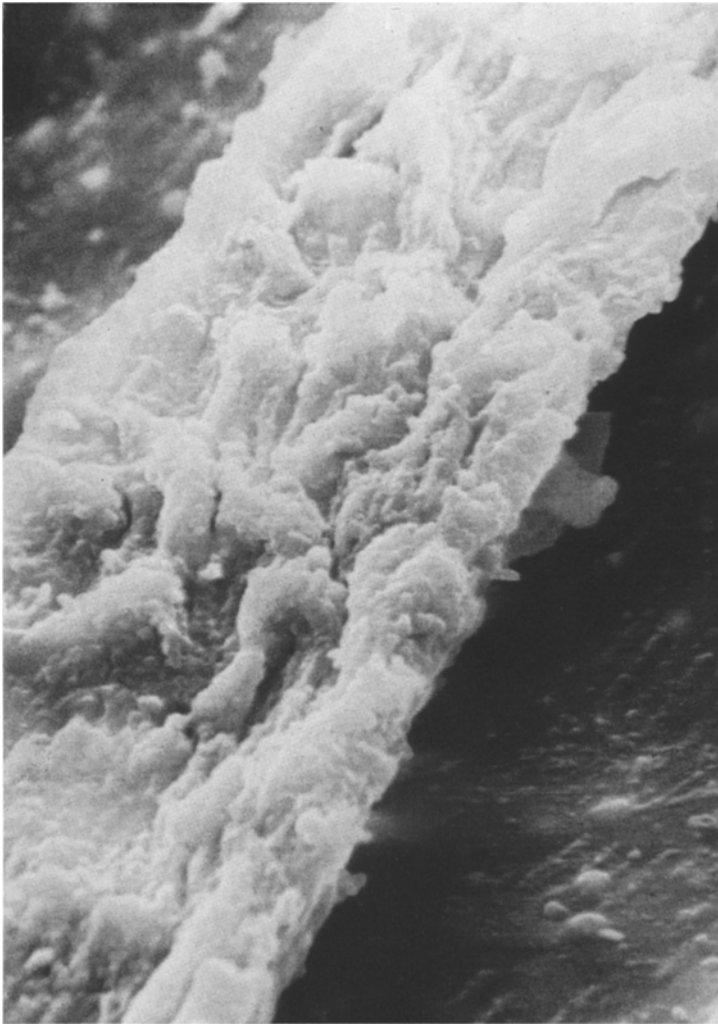


Abb. 7. Ausschnittvergrößerung aus Abb. 6. An der Oberfläche des Kalkstranges ist eine unregelmäßige flache Höckerung zu erkennen. Vergr.: 3450:1

erkennen sind (Abb. 8). Die einzelnen scholligen Formationen sind durch schmale Brücken miteinander verbunden (Abb. 9). Es ist nicht genau zu unterscheiden, ob diese Brücken aus Hartsubstanzen bestehen oder ob es sich um möglicherweise bei der Fixation ausgefallene schleimartige Substanzen oder um abgeschilferte Zellbestandteile handelt.

Besprechung der Befunde

Über die Morphologie von kristallinen Ablagerungen in der Niere ist ein umfangreiches Schrifttum vorhanden. In histologischen und histochemischen Untersuchungen (EHRlich, 1932; RANDErATH und BOHLE, 1959; HERMANN, 1963; LARGIADÈr und ZOLLINGER, 1966) ist die Anordnung der Ablagerungen im



Abb. 8. Tangential eröffnetes Sammelrohr mit scholligen Kalkablagerungen (K), die das Lumen wie ein Gerüst durchspannen. Sammelrohrwand — Pfeil. Vergr.: 840:1

Nierenparenchym bei verschiedenen Erkrankungen beschrieben worden. Die Zuordnung der verschiedenen Kristallablagerungen zu den entsprechenden Krankheitsbildern gelingt anhand histologischer Untersuchungen, vor allem mit Untersuchungen der Präparate im polarisierten Licht (SCHULTZ und SCHMIDT, 1931; JOHNSON und PANI, 1962). Der feinere Bau der Kristallformationen und ihre Anordnung im Tubulus- bzw. Sammelrohlumen ist mit diesen Methoden jedoch nicht zu erfassen.

Durch die besonderen technischen Eigenschaften des Rasterelektronenmikroskops, das die Untersuchung an Oberflächenstrukturen ermöglicht, gelingt es an Organanschnitten, hier an Anschnittpräparaten der Niere, Konkreme nte nachzuweisen und ihren Bau im sublichtmikroskopischen Bereich zu studieren. Die besonders hohe Schärfentiefe des Rasterelektronenmikroskops, die bis zu 1000mal

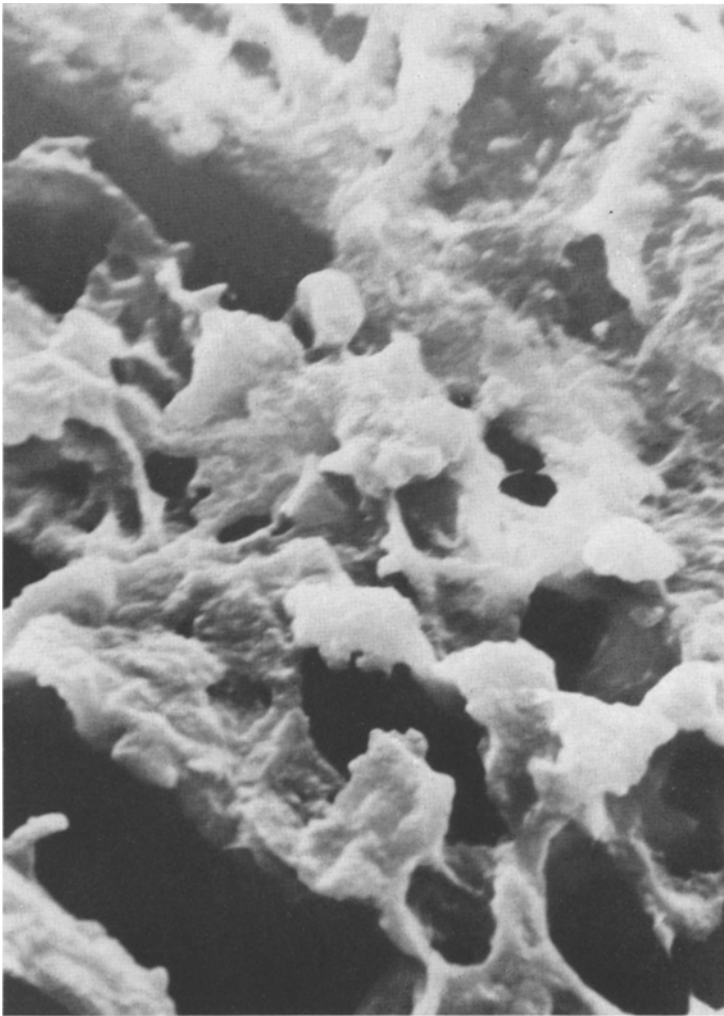


Abb. 9. Ausschnittvergrößerung aus Abb. 8. Die Kalkschollen sind durch schmale Brücken miteinander verbunden und haben unterschiedlich große Lücken zwischen sich. Vergr.: 3300:1

höher ist als beim normalen Lichtmikroskop, gestattet es, besonders gut die räumliche Struktur und Lage der abgelagerten Substanzen zu untersuchen.

Die Befunde zeigen, daß es mit relativ geringem präparativem Aufwand möglich ist, mit dem Rasterelektronenmikroskop ein genaues Bild von der Art und der Anordnung der Konkreme zu machen. Die einzelnen Konkrementtypen können durch die hier sichtbar gemachten charakteristischen Strukturunterschiede ohne Schwierigkeiten sehr eindeutig differenziert werden, so daß es möglich ist, diese Methode als diagnostische Hilfsmittel zu verwenden.

Da auch sehr kleine Kristalle mit dieser submikroskopischen Untersuchungsmethode dargestellt werden können, kann diese Differenzierung auch schon an sehr geringen Ablagerungen vorgenommen werden.

Literatur

- ALLEN, C. A.: The kidney. New York: Grune & Stretton 1962.
- AMELUNXEN, F., K. MORGENROTH u. T. PICKSAK: Untersuchungen an der Epidermis mit dem Stereoscan-Elektronenmikroskop. *Z. Pflanzenphysiol.* **57**, 79—95 (1967).
- BLÜMCKE, S., and K. MORGENROTH JR.: The stereo ultrastructure of the external and internal surface of the cornea. *J. Ultrastruct. Res.* **18**, 502—518 (1967).
- EHRLICH, S.: Über den Harnsäureinfarkt der Neugeborenen. *Virchows Arch. path. Anat.* **283**, 194—212 (1932).
- HEINRICH, H.: Das Vorkommen der Harnsäureinfarkte in der Niere Neugeborener. *Beitr. path. Anat.* **89**, 229—232 (1932).
- HERMANN, W. R.: Histochemische Untersuchungen am sogenannten Harnsäureinfarkt der Nieren. *Virchows Arch. path. Anat.* **336**, 465 (1963).
- JOHNSON, F. B., and K. PANI: Histochemical identification of calcium oxalate. *Arch. Path.* **74**, 347 (1962).
- LARGIADÈR, F., u. H. U. ZOLLINGER: Oxalose. *Virchows Arch. path. Anat.* **333**, 368—389 (1960).
- MORGENROTH, K. M.: The stereo ultrastructure of natural and artificial surface of biological materials. In: stereology. Proc. of the second intern. Congr. for Stereology, Chicago, 1967, p. 143—144. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- MORGENROTH, K., JR.: Harnsäurekristallisation in der Gichtniere. Vortrag gehalten auf der Sitzg der Arbeitsgem. Rhein.-Westf. Pathologen in Dortmund 1968.
- R. BACKMANN u. R. BLASCHKE: Über die Formen der Calciumoxalatablagerungen in der Niere bei Oxalose. *Beitr. path. Anat.* **136**, 454—463 (1968).
- RANDERATH, E., u. A. BOHLE: Morphologische Grundlagen akuter extrarenal bedingter Nierenfunktionsstörungen. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **65**, 250 (1959).
- SCHULTZ, A., u. W. SCHMIDT: Histologische Darstellungsmethoden der Harnsäure und der Urate. *Virchows Arch. path. Anat.* **280**, 529—533 (1931).
- ZOLLINGER, H. U.: Niere und ableitende Harnwege. In: Spezielle Pathologie, hrsg. von W. DOERR u. E. UEHLINGER. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

Dr. K. MORGENROTH
Pathologisches Institut
44 Münster i. Westf., Westring 17