

Nierenschädigung nach Serotonin- und Kaliumdichromatinjektion bei chronischer Natriumbelastung oder -restriktion* **

G. E. SCHUBERT, K. GEBHARD und F. HÖNLEIN

Pathologisches Institut der Universität Tübingen (Direktor: Prof. Dr. A. Bohle)

Eingegangen am 27. Juni 1970

Renal Lesions after Serotonin- or Potassiumdichromate-injections in Sodium Loaded and Sodium Depleted Rats

Summary. Extent and distribution of serotonin- or dichromate induced renal lesions are different in sodium loaded and sodium depleted animals as could be shown in experiments with 46 female Wistar rats. In sodium loaded rats serotonin injection causes few renal necroses which are localized in the outer medulla and only occasionally in juxtamedullary cortical areas. In sodium depleted animals however, much more necroses were found affecting large areas of the whole cortex and of the outer stripe of the outer medulla. After dichromate injection necroses—limited on proximal segments of proximal convolutions—likewise are less in sodium loaded than in sodium depleted rats. These morphological findings and some values of urine excretion are discussed, particularly with regard to distribution of intrarenal blood flow, vascular spasm and their relation to sodium load.

Zusammenfassung. Untersuchungen an insgesamt 46 weiblichen Wistarratten führten zu dem Ergebnis, daß Ausmaß und Anordnung der Nierenläsionen nach Serotonin- oder Kaliumdichromatinjektion bei chronischer Natriumbelastung anders sind als bei Natriumrestriktion. So treten bei natriumbelasteten Tieren nach Serotonininjektion weniger Nekrosen auf, die bevorzugt in der gesamten Markaußenzone lokalisiert sind und nur vereinzelt auf die juxtaglomerulären Rindenabschnitte übergreifen, während bei chronischem Natriumentzug sehr viel umfangreichere Nekrosen gefunden werden, die große Abschnitte der gesamten Rindenzone und des Außenstreifens der Markaußenzone durchsetzen. Auch nach Dichromatinjektion sind die auf proximale Hauptstückanteile beschränkten Nekrosen bei natriumbelasteten Ratten geringer als bei Tieren, denen längere Zeit natriumarme Ernährung verabreicht wurde. Diese morphologischen Befunde und gleichzeitig registrierte Funktionsstörung werden vor allem im Hinblick auf die Frage unterschiedlicher renaler Blutverteilung und Gefäßspasmen in Abhängigkeit von der Natriumbelastung diskutiert.

Die ischämische oder toxische Vulnerabilität der Nieren scheint nach einzelnen tierexperimentellen und klinischen Beobachtungen bei unterschiedlichen Diuresezuständen oder Elektrolytbelastungen verschieden zu sein (Hallwachs, 1966; Henry et al., 1968; McDonald et al., 1970; Schubert et al., 1967; Thiel et al., 1970; u.a.). So haben neuere Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Oken (Oken et al., 1966; McDonald et al., 1970; Thiel et al., 1970) ergeben, daß natriumreiche Ernährung die Manifestation eines glycerininduzierten akuten Nierenversagens bei Ratten verhindern kann, und Henry konnte zeigen, daß bei chronisch natriumbelasteten Tieren nach Dichromatinjektion keine Tubulusnekrosen auf-

* Herrn Prof. Dr. E. Letterer zum 75. Geburtstag gewidmet.

** Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

treten. Als Ursache dieser geringeren Empfindlichkeit wurden, von den Versuchsergebnissen Thuraus und seiner Mitarbeiter ausgehend (Thurau u. Schnermann, 1965; Schnermann, Nagel u. Thurau, 1966), vor allem hämodynamische Faktoren in Abhängigkeit vom Reningehalt der Nieren diskutiert und der Reaktion intrarenaler Blutgefäße dabei eine entscheidende Bedeutung beigemessen.

Um diesen Fragen weiter nachzugehen, haben wir bei natriumarm und natriumreich ernährten Ratten mit zwei Substanzen Nierenschädigungen erzeugt, deren eine (Serotonin) nach unserer bisherigen Kenntnis allein über Gefäßspasmen ischämische Läsionen hervorruft, während die andere (Kaliumdichromat) als tubulotoxische Substanz zur direkten Schädigung definierter Anteile des Nephron führt.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 46, zu Versuchsbeginn 130–170 g schweren weiblichen Wistar-Ratten durchgeführt. 16 Tiere erhielten zunächst eine natriumarme Diät (200 g pulverförmigen Futters Altromin, Diät-Nr. 1740, Charge 1067 + 150 ml Aqua dest.) und Aqua dest. als Trinkflüssigkeit. 16 Tiere wurden natriumreich ernährt (vier Gewichtsteile des o.g. Pulvers + drei Gewichtsteile 1%iger NaCl-Lösung), als Trinkflüssigkeit wurde diesen Tieren 1%iger NaCl-Lösung verabreicht. 13 Ratten erhielten Normalfutter. Hier wurde das gleiche pulverförmige Futter durch Zusatz von 0,41%iger NaCl-Lösung auf den Natriumgehalt der üblichen Altrominstandarddiät angereichert (305 mg NaCl auf 100 g Pulver) und als Trinkflüssigkeit Leitungswasser gegeben.

Im einzelnen stellten wir folgende Versuchsgruppen auf:

Serotoninversuche

S I: 10 Ratten wurden nach 33 Tagen natriumarmer Diät in kurzer Äthernarkose 8 mg Serotonin/100 g KG s.c. injiziert (8 ml Serotonin-Kreatininsulfat, Merck 7768, in 1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung jeweils frisch gelöst).

S II: 10 Ratten erhielten nach 33 Tagen natriumreicher Diät wie in Gruppe S I 8 mg Serotonin/100 g KG s.c.

S III: 10 Ratten injizierten wir nach 33tägiger Ernährung mit Normalfutter 8 mg Serotonin/100 g KG s.c.

In allen drei Versuchsgruppen wurde die jeweilige Diät bis zum Töten der Tiere 37 Std nach der Serotonininjektion weitergeführt.

Dichromatversuche

D I: 6 Ratten wurden nach 28 Tagen natriumarmer Diät in kurzer Äthernarkose 1,0 mg Kaliumdichromat (Merck 4864) pro 100 g KG als 0,1%ige wäßrige Lösung s.c. injiziert.

D II: 6 Ratten erhielten nach 28 Tagen natriumreicher Diät wie Gruppe D I 1,0 mg Kaliumdichromat/100 g KG s.c.

D III: 4 Ratten injizierten wir nach 28tägiger Ernährung mit Normalfutter 1,0 mg Kaliumdichromat/100 g KG s.c.

Auch in diesen drei Versuchsgruppen gaben wir die jeweilige Diät bis zum Töten 61 Std nach der Dichromatinjektion.

Harnuntersuchungen

Zur Festlegung der Ausgangswerte wurden vor Beginn der verschiedenen Diäten 18 Tiere in Einzelstoffwechselkäfige gebracht und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen die tägliche Harnmenge und Elektrolytkonzentration gemessen. Die letzten zwei Tage vor der Serotonin- bzw. Dichromatinjektion und die anschließende Zeit bis zur Tötung saßen die Tiere weiterhin in den Stoffwechselkäfigen, um Urinmenge und Elektrolytgehalt (Na^+ und K^+) bestimmen zu

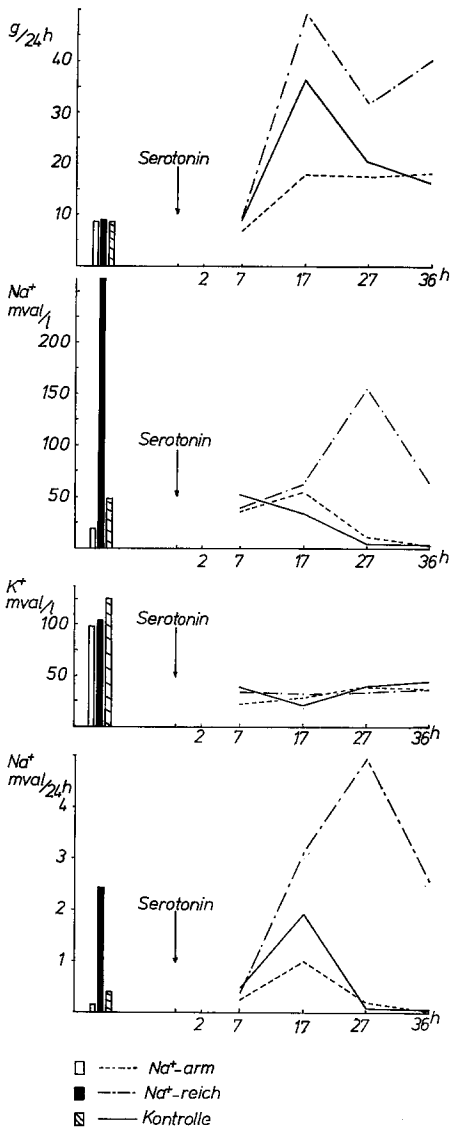


Abb. 1

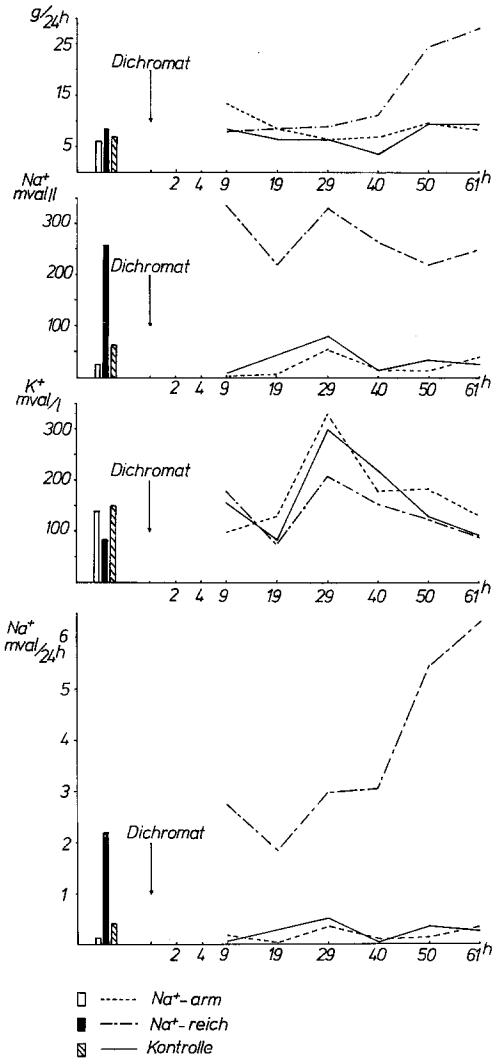


Abb. 2

Abb. 1. Harnmenge, Natrium- und Kaliumkonzentration sowie Gesamtnatriumausscheidung im Urin vor und nach Serotonininjektion. Die Säulen geben jeweils die Mittelwerte der an den letzten beiden Tagen vor der Serotonininjektion bestimmten Werte an

Abb. 2. Harnmenge, Natrium- und Kaliumkonzentration sowie Gesamtnatriumausscheidung im Urin vor und nach Dichromatinjektion

können. Nach den Injektionen wurden die Harnmenge in den auf Abb. 1 und 2 angegebenen Abständen gemessen und in der Kurve auf 24 Std-Werte umgerechnet. Der quantitative Nachweis der Harnelektrolyte erfolgte flammenfotometrisch.

Morphologische Untersuchungen

Die Nieren wurden dekapulsiert, nach dem Wiegen in der Frontalebene aufgeschnitten, in 4%igem gepuffertem Formadehyd fixiert und in Paraffin eingebettet. Von jeder Niere haben wir dann aus zwei verschiedenen Schnittebenen nahe der ersten Schnittführung im Abstand von etwa 1 mm drei bis sechs 10 μ dicke hämatoxylin-eosingefärbte Präparate angefertigt. Nach vorausgehender orientierender Ansicht sämtlicher Schnitte wurden bei einer zweiten eingehenden Durchsicht nach einem zuvor schon beschriebenen semiquantitativen Verfahren (Schubert et al., 1969) getrennt in äußerer und innerer Rindenzone sowie Außen- und Innenstreifen des Markes das Ausmaß der Coagulationsnekrosen und die Menge weitgestellter Harnkanälchen registriert.

Ergebnisse

Reaktion der Tiere auf die Injektion

Nach Serotonininjektion trat bei allen Tieren ein Schock mit anfänglicher Unruhe, Dyspnoe, starker Cyanose sowie anschließender Apathie mit flacher Atmung und fehlender Reaktion auf äußere Reize ein. Dieser Zustand dauerte etwa 2—3 Std. Bei vier Tieren der Gruppe S I, zwei Tieren der Gruppe S II und drei Ratten der S III-Gruppe waren erhebliche Cornealtrübungen zu beobachten. Dagegen ließen die Tiere nach der Dichromatinjektion keine Änderung der Verhaltensweise erkennen. Statistisch signifikante Differenzen der *Körpergewichte* konnten wir zwischen den einzelnen Gruppen in den verschiedenen Versuchsphasen nicht nachweisen. Nach der Serotonin- oder Dichromatinjektion fiel jedoch bei allen Tieren das Körpergewicht bis zum Tode um 5—10% ab, wobei der Gewichtsabfall bei den natriumreich ernährten Tieren am geringsten war (Einzeldata s. Gebhard, 1970).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, waren nach Serotonininjektion die Nierengewichte der natriumarm sowie auch der natriumreich ernährten Tiere signifikant größer als bei Ratten, die Normalfutter erhalten hatten (in der Dichromatserie reichte die Zahl der Tiere für eine statistische Auswertung nicht aus).

Tabelle 1. *Mittelwerte der Gewichte beider Nieren*

Gruppe	Nieren- gewichte (g)	Standard- abweichung	<i>p</i> gegenüber Gruppe III
S I	1,593	$\pm 0,16$	$0,01 < p < 0,05$
S II	1,676	$\pm 0,17$	$p < 0,01$
S III	1,455	$\pm 0,07$	
D I	1,450		
D II	1,612		
D III	1,570		

Urinausscheidung

Vor Beginn der Diät wurden durchschnittlich pro Tier $6,16 \pm 3,99$ g Urin/24 Std ausgeschieden. Am 27. und 28. Tag der Diät schieden die für Dichromatinjektionen vorgesehenen Ratten im Mittel folgende Hammengen pro 24 Std aus:

Gruppe D I (Na ⁺ -arm)	6,24 g ($s = \pm 1,36$)
Gruppe D II (Na ⁺ -reich)	8,56 g ($s = \pm 3,83$)
Gruppe D III (Normalfutter)	6,87 g ($s = \pm 4,06$)

Nach 31—32tägiger Diät betrug die tägliche Urinmenge der für Serotoninversuche eingeteilten Tiere:

Gruppe S I (Na ⁺ -arm)	8,81 g ($s = \pm 4,29$)
Gruppe S II (Na ⁺ -reich)	9,05 g ($s = \pm 4,84$)
Gruppe S III (Normalfutter)	8,80 g ($s = \pm 4,15$)

Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Differenzen der Mittelwerte in beiden Serien.

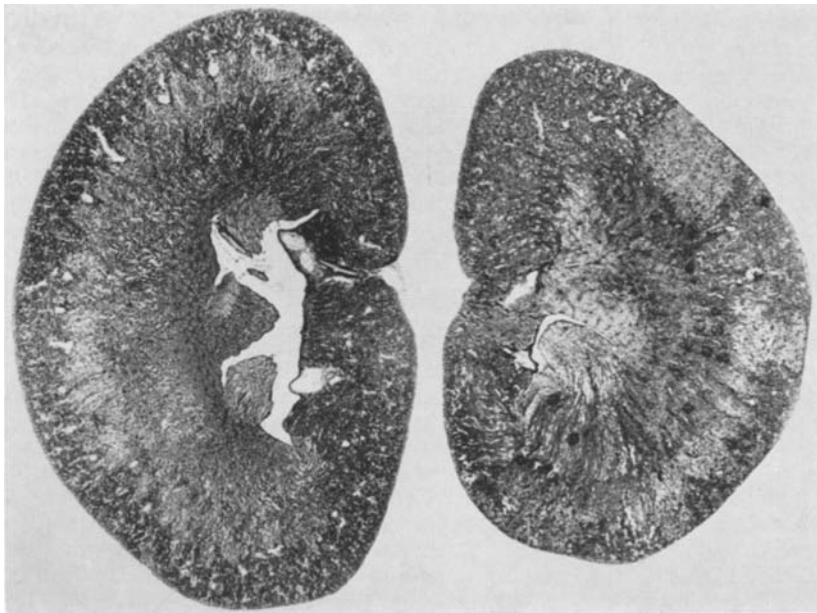


Abb. 3a u. b. Rattenniere nach 33tägiger Natriumbelastung (a) oder Natriumrestriktion (b) und Injektion gleicher Serotoninindosen 36 Std vor dem Tod. a Herdförmige Coagulationsnekrosen in der Außenzone des Markaußenstreifens, nur ganz vereinzelt bis in juxtamedulläre Rindenbezirke reichend. b Umfangreiche Nekrosen in allen Rindenschichten und der Markaußenzone. Mikrophotogramme, Färbung HE, ursprüngliche Vergrößerung 8,5fach

Nach der *Serotonininjektion* trat bei allen Ratten eine Anurie von etwa 2 Std Dauer auf, der sich ein oligurisches Stadium anschloß, das nach 5 Std in eine polyurische Phase überging, die bis zum Tode anhielt (s. Abb. 1). Abb. 1 zeigt weiterhin, daß die Harnausscheidung in allen drei Gruppen etwa 17 Std nach der Serotonininjektion ein Maximum erreichte, in dem die Natriummangeltiere mit 17,9 g/24 Std etwa das Doppelte, die natriumreich ernährten Ratten mit 49,3 g/24 Std etwa das Fünffache, die Tiere der Gruppe S III mit 36,4 g/24 Std ungefähr das Viereinhalbfache der Harnmenge vor der Injektion ausschieden.

Die Natriumkonzentration des Urins war nach der Serotonininjektion bei natriumarm ernährten Tieren bereits am Ende der oligurischen Phase leicht erhöht, erreichte zum Zeitpunkt der stärksten Polyurie ein Maximum und sank bis Versuchsende bei gleichbleibender Polyurie langsam unter den Ausgangswert (Abb. 1). Bei natriumreich ernährten Tieren nahm die anfänglich weit unter dem Ausgangswert liegende Natriumkonzentration bis zum Maximum in der 27. Std nach der Serotonininjektion stark zu, doch war auch dieser Höchstwert mit 156,4 mval/l wesentlich niedriger als die Natriumkonzentration vor der Serotoningabe. Bis zum Versuchsende sank bei starker Polyurie die Natriumkonzentration dann wieder ab. Die Tiere der Gruppe III ließen mit ansteigender Polyurie einen leicht abfallenden Natriumgehalt des Urins erkennen, die Absolutmenge ausgeschiedenen Natriums entsprach etwa der Harnausscheidung (Abb. 1).

Der *Dichromatinjektion* folgte zunächst ein anurisches Stadium von 4 Std, dem sich bei den natriumarm ernährten Ratten eine polyurische Phase anschloß, die schon ziemlich früh nach 9 Std mit dem Zweifachen des Ausgangswertes das Maximum erreichte. Dagegen begann bei den natriumreich ernährten Tieren die polyurische Phase erst 40 Std nach der Injektion, die Harnmenge stieg hier auf das Dreieinhalbfache des Wertes vor der Dichromatinjektion an. Die Tiere der Gruppe D III entwickelten keine ausgeprägte polyurische Phase (s. Abb. 2).

In dem leichten polyurischen Stadium nach der Dichromatinjektion sank bei den natriumarm ernährten Ratten die Natriumkonzentration des Urins auf 1,5 mval/l, die Kaliumkonzentration betrug 99 mval/l. Im weiteren Verlauf stieg die Konzentrationsleistung der Niere wieder an und erreichte um die 29. Std einen Gipfelwert mit 54,3 mval/l Natrium und eine auffällig hohe Kaliumkonzentration von 330 mval/l. Die natriumreich ernährten Ratten schieden in der 9.—29. Std nach der Dichromatgabe den Ausgangswerten entsprechende Urinmengen aus, deren Elektrolytkonzentrationen mit 338,5 mval/l Na^+ und 180 mval/l K^+ indes über den Ausgangswerten lagen, nach der 29. Std bis zum Versuchsende auf Werte vor der Dichromatinjektion abfielen, während die Urinmenge sprunghaft anstieg (weitere Einzelheiten s. Abb. 2).

Tabelle 2. Ausmaß der Nekrosen in den verschiedenen Nierenzonen nach Serotonininjektion. Die Zahlen geben den Prozentsatz der untersuchten Nieren an, in denen sich der jeweilige Schädigungsgrad 0 bis + + + + fand. (20 Nieren = 100%, in Gruppe II 19 Nieren = 100%)

	Ausmaß der Nekrosen					
	0	(+)	+	++	+++	++++
<i>Gruppe S I</i>						
Äußere Rinde	20	10	10	5	50	5
Innere Rinde	15	10	15	5	45	10
Markaußenzone:						
Außenstreifen	10	15	5	10	30	30
Innenstreifen	45	10	10	15	20	—
<i>Gruppe S II</i>						
Äußere Rinde	53	5	5	36	—	—
Innere Rinde	5	42	5	32	16	—
Markaußenzone:						
Außenstreifen	—	5	21	32	16	26
Innenstreifen	—	—	30	24	47	—
<i>Gruppe S III</i>						
Äußere Rinde	45	10	20	10	15	—
Innere Rinde	20	25	10	30	15	—
Markaußenzone:						
Außenstreifen	5	10	25	35	15	10
Innenstreifen	30	10	25	25	5	5

Morphologische Befunde

Serotoninversuche. In allen drei Versuchsgruppen dieser Serie waren an den dekapsulierten Nieren makroskopisch unregelmäßig begrenzte infarktartige grauweiße Zonen zu erkennen, die in der Gruppe S I (natriumarm) eindrucksmäßig etwa 40—60% der Oberfläche ausmachten, in den Gruppen S II (natriumreich) und S III (Kontrolle) geringer ausgeprägt waren. Die hilusnahen und polnahen Abschnitte blieben von diesen Veränderungen stets frei (Abb. 3 und 4). Insgesamt erschienen die Nieren der natriumarm ernährten Tiere dunkler, die der natriumreich ernährten Ratten heller als die der S III-Gruppe.

Mikroskopisch fiel entsprechend dem makroskopischen Eindruck auf, daß die hilus- und polnahen Zonen (s. Abb. 3 und 4) weitgehend unverändert waren. In

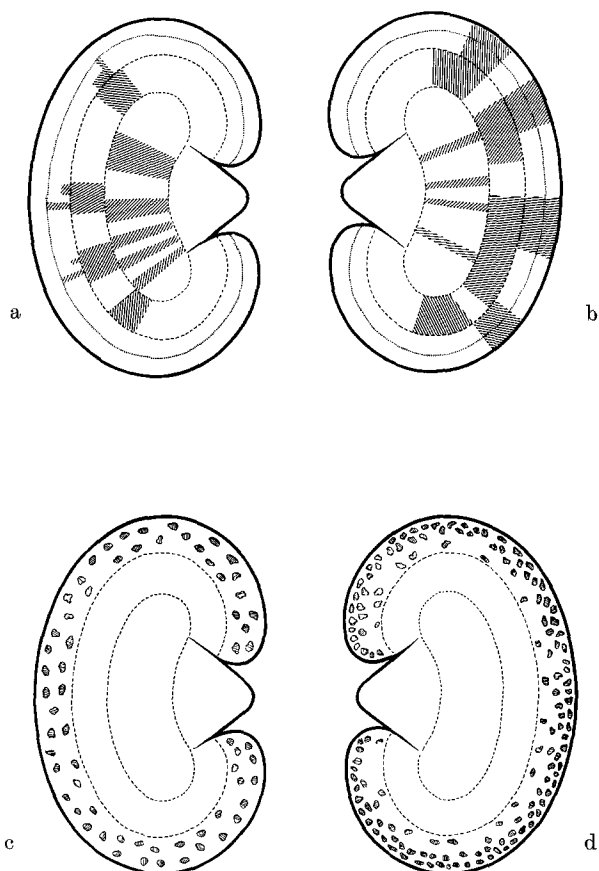


Abb. 4a—d. Schematische Darstellung der Anordnung von Nekrosen 36 Std nach s.c. Injektion von Serotonin oder 61 Std nach Dichromat. a Gruppe S II, Serotonininjektion bei natriumreich ernährten Ratten, b Gruppe S I, Serotonininjektion bei natriumarm ernährten Ratten, c Gruppe D II, Dichromatinjektion bei natriumreich ernährten Ratten, d Gruppe D I, Dichromatinjektion bei natriumarm ernährten Ratten

den anderen Bezirken fanden sich neben Nekroseherden weitgestellte Harnkanälchen mit gut erhaltenen Epithelien, andere mit fehlendem Epithelbelag oder von flachen Epithelregeneraten ausgekleidete Tubuli. Umfang und Lokalisation der Coagulationsnekrosen sind in Tabelle 2 und Abb. 4 dargestellt.

Als auffälligster Befund zeigte sich dabei, daß bei den natriumarm ernährten Tieren in über 50% der Fälle 30—60% der Schnittfläche von Rinden- und Markaußenzonen nekrotisch waren, während nur 10—20% der Nieren keine Nekrosen in diesen Arealen aufwiesen. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den natriumreich ernährten Ratten in 53% der Fälle in der äußeren Rinde überhaupt keine Nekrosen, die innere Rindenzone enthielt ebenso wie der Markaußenstreifen häufiger, in der Ausdehnung jedoch meist kleinere Nekroseherde als in der S I-Gruppe. Lediglich im Markinnenstreifen kamen bei den natriumbelasteten Tieren ausgedehntere Nekrosen vor als bei den Natriummangeltieren. Insgesamt war also

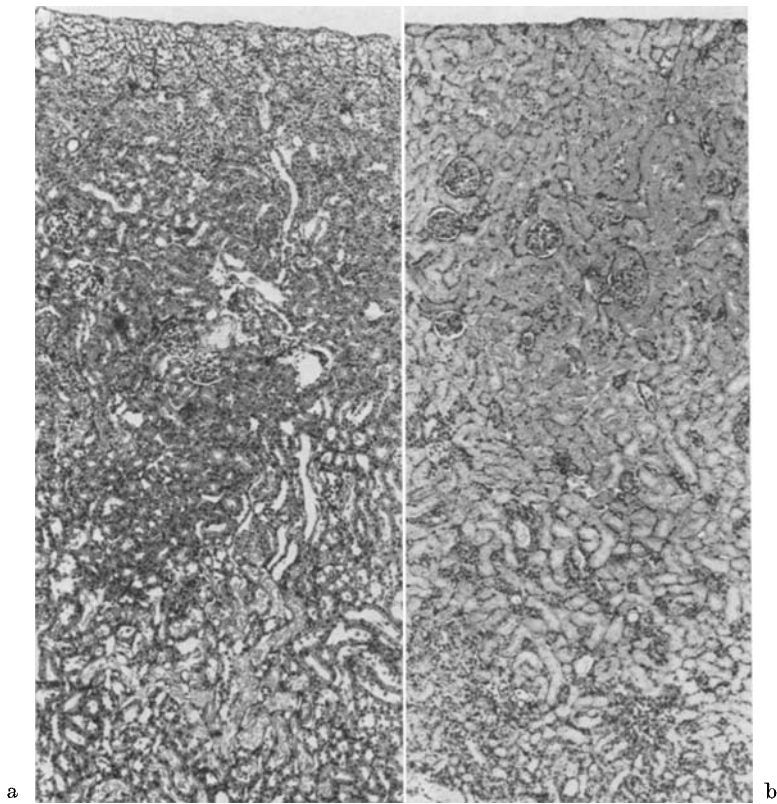


Abb. 5a u. b. Nierenschäden bei natriumreich (a) und natriumarm (b) ernährten Ratten 36 Std nach Serotonininjektion. a Wenige herdförmige Nekrosen im Außenstreifen der Markaußenzone. b Ausgedehnte Coagulationsnekrosen der gesamten Rindenzone und des angrenzenden Markaußenstreifens. Vergr. 60fach, Färbung HE

das Ausmaß der Nekrosen in den Nieren natriumreich ernährter Ratten geringer, schwerpunktmäßig waren die Nekrosen mehr in den inneren Zonen der Nierenrinde und der Markaußenzone lokalisiert. Bei den mit Normalfutter ernährten Tieren (S III) lag der Umfang der Nekrosen etwa zwischen den Gruppen S I und S II, der Verteilungstyp entsprach mehr den natriumreich ernährten Tieren, d.h. die äußere Rindenzone enthielt meist keine, oder nur geringfügige Nekrosen. Zwischen den nekrotischen Bezirken fanden sich herdförmig angeordnete Zonen weitgestellter Harnkanälchen, die in den Nieren häufiger auftraten, in denen die nekrotischen Veränderungen geringer ausgeprägt waren. Bei den natriumarm ernährten Tieren (S I) wurden in 40% der Nieren keine oder nur sehr wenig weitgestellte Hauptstücke gefunden, in den übrigen Nieren dieser Gruppe entsprach das Ausmaß etwa 5—10% des Rindenquerschnittes, das Epithel dieser weiten Kanälchen war meist erhalten. In der Markaußenzone waren dagegen in 60—70% der Nieren weitgestellte Tubuli vorhanden, die in 20% der Fälle 30—50% der Schnittfläche ausmachten, in der Mehrzahl epithelfreien Basalmembran-

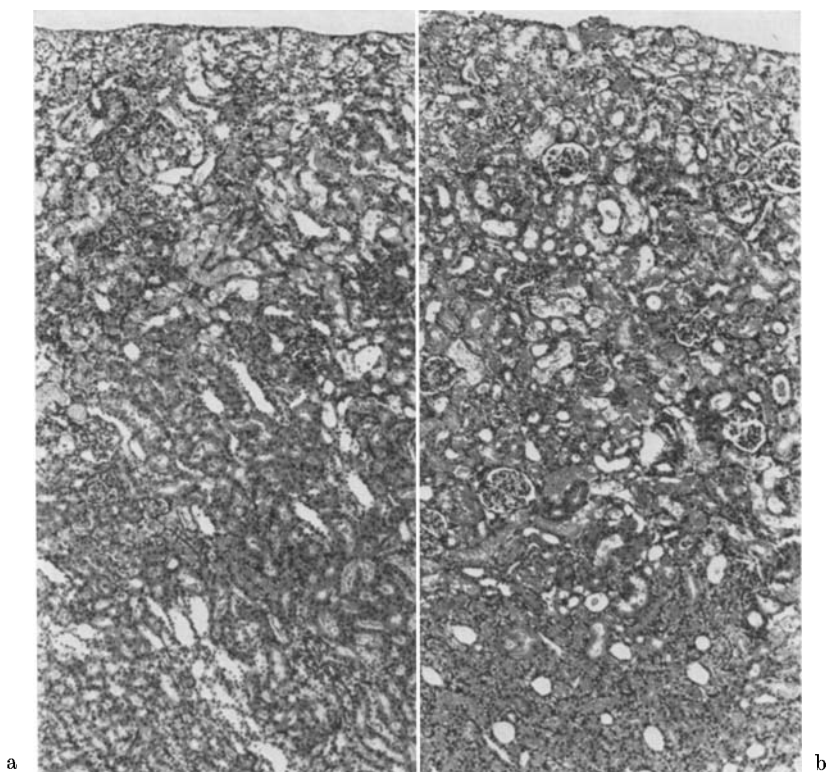


Abb. 6a u. b. Nierenschäden bei natriumreich (a) und natriumarm (b) ernährten Ratten 61 Std nach Dichromatinjektion. a Bevorzugt im äußeren Rindenabschnitt gelegene und insgesamt weniger umfangreich erscheinende Hauptstücknekrosen als bei b. b Ausgedehnte Hauptstücknekrosen in allen Rindenabschnitten. Vergr. 60fach, Färbung HE

schläuchen entsprachen oder von flachen Epithelregeneraten ausgekleidet wurden und z.T. Zelldetritus im Lumen enthielten. Bei den natriumreich ernährten Ratten waren diese im Prinzip gleichartigen Veränderungen in der Markaußenzone sehr viel stärker ausgeprägt als in der S I-Gruppe, der Rindenbefund glich jedoch dieser Gruppe. Die Veränderungen der Gruppe S III lagen wiederum zwischen denen der Gruppe S I und S II (Einzelheiten s. Gebhard, 1970).

Dichromatversuche. Makroskopisch erschienen die Nieren aller Versuchsgruppen unauffällig. Mikroskopisch fiel auf, daß die auf die proximalen Anteile der Hauptstücke beschränkten Coagulationsnekrosen wie die sonstigen Parenchymveränderungen im Gegensatz zu den Serotoninversuchen gleichmäßig über die gesamte Nierenrinde verstreut waren. Ausdehnung und Verteilungsmuster der Nekrosen sind in Tabelle 3 und der schematischen Abb. 4 zusammengefaßt. Bei den natriumarm ernährten Tieren waren Anzahl und Ausdehnung der Hauptstücknekrosen in der äußeren Rinde stärker ausgeprägt als im inneren Rindenbereich und insgesamt umfangreicher als bei den Tieren, die natriumreiche Diät erhalten hatten (Abb. 6). Die ausgedehntesten Nekrosen wurden in den Nieren

der Tiere gefunden, denen Normalfutter verabreicht worden war (Gruppe D III). Auch in den dichromatgeschädigten Nieren fanden sich weite Harnkanälchen, die wie die Nekrosen diffus in der gesamten Rinde angeordnet waren. Es handelte sich dabei einmal um Tubuli, in denen nur noch die Basalmembran erhalten war, zum anderen um weitgestellte Hauptstücke, die von lichtoptisch unauffälligen Epithelien ausgekleidet wurden. Diese weitgestellten Harnkanälchen wurden bei natriumbelasteten Tieren seltener angetroffen als bei natriumarm ernährten Ratten. In den Nieren der Gruppe D III entsprach der Befund etwa der Gruppe D I (Einzelheiten s. Gebhard, 1970).

Tabelle 3. *Ausmaß der Nekrosen in der Nierenrinde nach Dichromatinjektion. Zahlen und Symbole wie in Tabelle 2. (12 Nieren = 100%, in Gruppe D III 8 Nieren = 100)*

	Ausmaß der Nekrosen					
	Ø	(+)	+	++	+++	++++
<i>Gruppe D I</i>						
Äußere Rinde	—	8,3	8,3	8,3	75,0	—
Innere Rinde	—	8,3	8,3	58,3	25,0	—
<i>Gruppe D II</i>						
Äußere Rinde	16,6	—	16,6	49,8	16,6	—
Innere Rinde	16,6	—	25,0	41,5	16,6	—
<i>Gruppe D III</i>						
Äußere Rinde	—	—	—	12,5	75,0	12,5
Innere Rinde	—	—	12,5	50	37,5	—

Diskussion

Wie aus den vorliegenden Untersuchungen hervorgeht, ist der Umfang von Coagulationsnekrosen der Nierenrinde und Markaußenzone nach Serotonininjektion und der Hauptstücke nach Dichromatzufuhr bei natriumreich ernährten Ratten wesentlich geringer als bei Tieren, die eine natriumarme Diät erhalten haben. Chronische Kochsalzzufuhr gewährt also der Niere einen gewissen Schutz vor Läsionen durch Serotonin oder Tubulotoxin. Damit können wir auch nach Injektion einer am intrarenalen Blutgefäßsystem angreifenden Substanz Beobachtungen bestätigen, die von anderen Autoren beim glycerininduzierten akuten Nierenversagen (McDonald et al., 1970; Thiel et al., 1970) oder bei Dichromatvergiftungen (Henry et al., 1968) erhoben wurden. Weiterhin fällt beim Vergleich beider Versuchsgruppen auf, daß die Nierenläsionen bei natriumreich ernährten Tieren mehr in der inneren Rindenzone und allen Abschnitten der Markaußenzone lokalisiert sind, während bei natriumarm ernährten Ratten besonders umfangreiche Läsionen in der äußeren Rindenzone und dem Außenstreifen der Markaußenzone auftreten, der Innenstreifen dagegen weniger betroffen ist. Diese, vor allem nach Serotonininjektion deutlich hervortretenden Differenzen in der Verteilung der Nekrosen schienen eindrucksmäßig auch bei den dichromatvergifteten Tieren häufig vorhanden zu sein, doch war der Unterschied hier wegen der iso-

lierten Nekrose der proximalen Hauptstücke mit relativ gleichförmig disseminiertem Schädigungsmuster schwerer zu beurteilen und nicht ganz so augenscheinlich wie bei den leichter bewertbaren ausgedehnten konfluierenden Nekroseherden der Serotoningruppe.

Funktionell fanden wir, wie schon in vorausgehenden Untersuchungen nach temporärer Ischämie der Nieren durch Hilusabklemmung (Schubert, Helmchen u. Reifferscheid, 1967) und wie Henry et al. (1968) nach Dichromatinjektion eine bei den natriumbelasteten Tieren sehr stark, bei den natriumarm ernährten Ratten geringer ausgeprägte polyurische Phase, die in allen Gruppen der Serotoninserie nach einer 2stündigen Anurie einsetzte und hier relativ rasch nach 17 Std den Maximalwert erreichte. Gleichzeitig stieg in der Natriummangelgruppe wie bei etwa 90% der akuten Nierenversagen des Menschen (Gayer u. Dürr, 1968) und nach temporärer Ischämie in einzelnen Tierversuchen (Schnermann, Nagel u. Thureau, 1966) die Natriumkonzentration im Urin über den Ausgangswert. Auch die natriumbelasteten Ratten schieden in dieser Phase etwa das Doppelte der Natriummenge vor der Serotoningabe aus, ohne allerdings die vorherige Natriumkonzentration im Urin zu erreichen.

In der Dichromatserie war nach 4stündiger Anurie bei den natriumarm ernährten Tieren wie nach temporärer Ischämie (Schubert et al., 1967) nur eine kurzdauernde Polyurie mit der doppelten Harnmenge des Ausgangswertes zu erkennen. Im Gegensatz zu den Serotoninversuchen trat bei den natriumbelasteten Tieren nach der anurischen Phase nicht gleich eine ausgeprägte Polyurie auf. Hier folgte der Anurie zunächst ein Zeitabschnitt von 40 Std, in dem die Urinausscheidung mit erhöhter Natriumkonzentration etwa der Harnmenge vor der Dichromatinjektion entsprach, erst danach wurden diese Tiere stark polyurisch.

Zwischen den grundsätzlich gleichen Ergebnissen von Henry et al. (1968) und den Befunden unserer Dichromatserie besteht insofern ein Unterschied, als die genannten Autoren bei den kochsalzbelasteten Tieren schon nach 24 Std eine starke Polyurie feststellten, die bei uns verzögert erst nach 40 Std einsetzte. Auch die morphologischen Befunde Henrys konnten wir in einem Punkt nicht bestätigen. Obwohl Henry et al. eine 50%ig höhere Dichromatdosis injizierten, sahen sie bei den natriumbelasteten Tieren keine Tubulusnekrosen, die wir in dieser Gruppe — wenn auch in geringerem Maße als bei den Natriummangeltieren — deutlich nachweisen konnten. Ob für diese unterschiedlichen Ergebnisse die Verwendung eines anderen Rattenstammes oder ein höherer Natriumgehalt der Diät verantwortlich sind, vermögen wir nicht zu entscheiden.

Gemeinsam ist den natriumarm und natriumreich ernährten Ratten ebenso wie den Kontrolltieren, unabhängig von der Schädigungsart, eine Phase vermehrten Natriumverlustes durch die Niere nach der Läsion.

Versuchen wir Struktur und Funktion aufgrund der vorliegenden Daten und morphologischen Veränderungen zu korrelieren, so ergeben sich gewisse Schwierigkeiten, den Schädigungsablauf in allen Einzelheiten zu erklären, die vor allem in der Serotoningruppe auftreten, da hier entsprechend der herdförmigen Anordnung der Nekrosen oft größere oder sämtliche Anteile vieler Nephren zerstört, andere Nephren weitgehend intakt geblieben sind. Menge und Elektrolytkonzentration des Endharnes sind daher Summation der Ausscheidungsfunktion unterschiedlich geschädigter Nephren. Immerhin dürfen wir annehmen, daß die besonders ausgedehnten Nekrosen im Bereich der Markaußenzone mit der dort gelegenen „Natriumpumpe“ im dicken Teil der aufsteigenden Henleschen Schleife *ein*

ursächlicher Faktor des Natriumverlustes sind. Für das verspätete Einsetzen der Polyurie bei den Dichromattieren mit entsprechendem Natriumverlust der natriumbelasteten Ratten dieser Gruppe haben wir keine befriedigende Erklärung. Es wäre denkbar, daß hier die anfangs noch ausreichende resorptive Kapazität der distalen Nephronabschnitte bei zunehmendem Angebot von proximal infolge erhöhter glomerulärer Filtrationsrate (GFR) oder verminderter tubulärer Rückresorption im Hauptstück nach einigen Stunden nicht mehr genügt und erst jetzt größere Harnmengen ausgeschieden werden.

Auf der Suche nach den Ursachen der unterschiedlichen morphologischen und funktionellen Veränderungen natriumbelasteter und natriumarm ernährter Tiere gibt uns die Größe der Endharnmenge zum Zeitpunkt der Serotonin- oder Dichromatinjektion keinen Hinweis, denn wie Henry et al. (1968) sahen auch wir nur eine geringfügige, statistisch nicht signifikante Differenz der Harnausscheidung beider Tiergruppen. Das sagt jedoch nichts über die renale Durchblutung, die GFR oder den tubulären Harnstrom in verschiedenen Nephronpopulationen aus. So konnten Horster und Thureau (1968) zeigen, daß bei natriumarm ernährten Ratten die GFR juxtamedullärer Nephren mehr als doppelt so groß ist wie die mittlerer und oberflächlicher Rindenbezirke, während sich bei natriumbelasteten Tieren die Verhältnisse umkehren (s. auch Jamison, 1970). Dabei ist die tubuläre Flußrate der distalen Hauptstücke unter Natriumbelastung etwa viermal größer in den äußeren als in den juxtamedullären Nephren. Vergleichen wir diese Ergebnisse mit unseren morphologischen Befunden, so finden sich gewisse Parallelen, die besonders in der Serotoningruppe auffallen. In der natriumarm ernährten Tiergruppe, in der nach Horster und Thureau die GFR der mengenmäßig weit überwiegenden Nephren äußerer Rindenbezirke besonders niedrig ist, finden sich umfangreiche Nekrosen der äußeren Rindenabschnitte und der Markaußzone, während bei natriumreich ernährten Ratten mit höherer GFR der äußeren Rindenbezirke in diesen Abschnitten keine Nekrosen auftreten, die hier dagegen im Innenstreifen der Außenzone des Markes sehr ausgedehnt sind. Berücksichtigen wir, daß natriumarme Ernährung zur Zunahme, natriumreiche Ernährung zur Abnahme des Reningehaltes der Nieren führt (Hartroft et al., 1953, 1964; u.a.) und daß nach den Untersuchungen des Arbeitskreises um Thureau (Thureau u. Schnermann, 1965; Schnermann, Nagel u. Thureau, 1966) in chronisch natriumbelasteten Nieren der natriumsensitive Rückkoppelungsmechanismus zwischen Macula densa und juxtaglomerulärem Apparat (JGA) nicht mehr oder vermindert anspricht, so wäre es mit Horster und Thureau denkbar, daß unter diesen Bedingungen Änderungen im Renin-Angiotensin-System das Ausmaß des Glomerulumfiltrates in verschiedenen Abschnitten der Rinde unterschiedlich beeinflussen. Eine Reninverarmung des Nierengewebes durch vermehrte Kochsalzzufuhr (Cockett et al., 1965; Gross et al., 1964; Oda et al., 1964; u.a.) würde sich im wesentlichen auf Kosten oberflächlicher Nephren auswirken, deren JGA nach Brown et al. (1965) entsprechend dem hohen Granulationsindex normalerweise einen hohen Reningehalt besitzen, während die juxtamedullären Nephren mit niedriger Granulationsindices reninärmer sind. Eine verringerte Aktivität des Renin-Angiotensin-Systems mit Reduktion der vasoconstrictorischen Aktivität in diesem Areal könnte so zur Verlagerung der intrarenalen Durchblutung führen, und bei der unterschiedlichen Vulnerabilität des Nierengewebes in Abhängigkeit

von der Salzdiät insofern eine Rolle spielen, als eine verringerte äußere Rindendurchblutung die Entstehung der Nekrosen vor allem nach Serotoningabe begünstigt, eine vermehrte Durchblutung die Rindennekrosen weitgehend verhindert. Darüber hinaus bleibt die Frage, ob reninreiche Nieren nicht zu stärkeren und länger anhaltenden Gefäßspasmen neigen als reninararme Organe und schließlich könnte die sehr viel ausgeprägtere polyurische Phase natriumbelasteter Tiere nach Serotonin- bzw. Dichromatinjektion in dem Sinne gedeutet werden, daß bei vermindertem Reningehalt der Nieren der natriumsensitive Rückkoppelungsmechanismus nicht mehr zu einer stärkeren Reduktion der GFR befähigt ist. Es wird jedoch eingehenderen Untersuchungen vorbehalten bleiben, diese Vermutungen im einzelnen zu überprüfen und zu erhärten, denn, ob Änderungen des Reningehaltes der verschiedenen Nierenrindenzonen überhaupt die entscheidende Ursache dieser Unterschiede sind, muß sehr kritisch geprüft werden, da unter unseren Versuchsbedingungen auch Veränderungen des Gesamtblutvolumens auftreten und der ausschlaggebende Faktor bei der Durchströmungsänderung der Nieren gewesen sein können.

Für die Serotoningruppe würde sich darüber hinaus die Frage ergeben, ob eine Verschiebung der intracellulären Natriumkonzentration glatter Muskelzellen (Blair-West u. McKenzie, 1966) intrarenaler Blutgefäße ihre Reagibilität gegenüber vasoaktiven Substanzen ändert, was jedoch ohne Kenntnis der Natriumkonzentration innerhalb der Muskelzellen nicht zu entscheiden ist. Schließlich ist noch zu fragen, welche Bedeutung einer nervalen Steuerung der intrarenalen Blutverteilung und der GFR unter dem Einfluß verschiedener Salzdiäten zukommt. Zumindest kann diese Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, seitdem Moffat (1967) gezeigt hat, daß die Arteriolen juxtamedullärer Glomerula im Gegensatz zu den anderen Nierenarteriolen von Fasern innerviert werden, die wahrscheinlich cholinergisch sind, nach Beobachtungen von Gill und Bartter (1966) der Sympathicotonus durch Natriumrestriktion erhöht wird und Gross (1968) darauf hingewiesen hat, daß eine intakte sympathische Innervierung der Niere für die Reninsekretion eine Rolle spielt.

Warum die hilus- und polnahen Abschnitte der Nieren in Übereinstimmung mit Beobachtungen zahlreicher Autoren nach Serotonininjektion frei von Nekrosen bleiben (Erspamer, 1953, 1966; Hedinger u. Langemann, 1955; Waugh u. Pearl, 1960; McDonald, 1959; Murphy u. Lawson, 1963; Stacey, 1966), während z.B. nach Dichromatzufuhr die proximalen Tubuli der gesamten Nierenrinde gleichförmig geschädigt werden, ist bis heute nicht geklärt. Die Bevorzugung der lateralen Nierenrindenanteile für Serotoninschäden ist möglicherweise auf eine unterschiedliche Reagibilität oder bisher unbekannt gebliebener anatomischer Besonderheit der Blutgefäße dieser Areale zurückzuführen. Vom Natriumgehalt der Nahrung bleibt diese Anordnung der Serotoninschäden offenbar unbeeinflusst. Der Versuch einer funktionellen Interpretation unserer morphologischen Befunde hinterläßt eine Fülle offenbar, z.T. durch die vorgelegten Befunde neu eröffneter Fragen, die weiterer Untersuchungen bedürfen. Wir konnten jedoch in dieser Versuchsserie zeigen, daß nicht nur bei Zufuhr tubulotoxischer Substanzen, sondern auch bei Einwirkung vasoaktiver Stoffe chronische Natriumbelastung oder -restriktion einen Einfluß auf Umfang und Lokalisation der Nekrosen ausübt und wir nehmen an, daß für die unterschiedliche Anordnung der Nekrosen die

jeweilige Funktion der Nephren, wahrscheinlich die davon nicht zu trennende Größe des Blutstromes der sie versorgenden Gefäße eine wesentliche Bedeutung hat.

Literatur

- Blair-West, J. F., McKenzie, J. S.: Sodium concentration and the effect of angiotensin II on ileal smooth muscle. *Experientia* (Basel) **22**, 291 (1966).
- Brown, J. J., Davies, D. L., Lever, A. F., Parker, R. A., Robertson, J. I. S.: The assay of renin in single glomeruli in the normal rabbit and the appearance of the juxta-glomerular apparatus. *J. Physiol. (Lond.)* **176**, 418—428 (1965).
- Cockett, A. T. K., Moore, R. S., Kazmin, M., Roberts, A. P.: Extraction and bioassay of renin from kidneys of sodium-depleted and sodium loaded rats. *J. Urol. (Baltimore)* **97**, 168 (1967).
- Erspamer, V.: Pharmacological studies on enteramine. VIII. Action of enteramine on the diuresis and the renal circulation of the rat. *Arch. int. Pharmacodyn.* **93**, 177—201 (1953).
- Peripheral physiological and pharmacological actions of indolealkylamines. In: Eichler, O. und A. Farah: *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, vol. XIX, 5-Hydroxytryptamine and related indolealkylamines. S. 245—359. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Gill, J. R., Bartter, F. C.: Adrenergic nervous system in sodium metabolism. II. Effects of guanethidine on the renal response to sodium deprivation in normal man. *New Engl. J. Med.* **275**, 1466—1471 (1966).
- Gross, F.: Physiologie und Pathologie des Renin-Angiotensin-Systems. In: Schwiegl, H. Hrsg.: *Handbuch der inneren Medizin*, Bd. 8/II, 5. Aufl. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Schaechtelin, G., Brunner, H., Peters, G.: The role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation and kidney function. *Canad. med. Ass. J.* **90**, 258 (1964).
- Hallwachs, O.: In: Just, O. H., Lutz, H.: *Genese und Therapie des haemorrhagischen Schocks*, S. 194—198. Stuttgart: Thieme 1966.
- Hartroft, P. M., Hartroft, W. S.: Studies on renal juxta-glomerular cells. I. Variations produced by sodium chloride and desoxycorticosterone acetat. *J. exp. Med.* **97**, 415 (1953).
- Sutherland, L. E., Hartroft, W. S.: Juxta-glomerular cells as the source of renin. Further studies with fluorescent antibody technique and the effect of passive transfer of antirenin. *Canad. med. Ass. J.* **90**, 163 (1964).
- Hedinger, Chr., Langemann, H.: Nierenschädigung mit Rindennekrosen bei Ratten unter Behandlung mit 5-Oxytryptamin. *Schweiz. med. Wschr.* **85**, 541—544 (1955).
- Henry, L. N., Lane, C. E., Kashgarian, M.: Micropuncture studies of the pathophysiology of acute renal failure in the rat. *Lab. Invest.* **19**, 309—314 (1968).
- Horster, M., Thurnau, K.: Micropuncture studies on the filtration rate of single superficial and juxtamedullary glomeruli in the rat kidney. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **301**, 162—181 (1968).
- Jamison, R. L.: Micropuncture study of superficial and juxtamedullary nephrons in the rat. *Amer. J. Physiol.* **218**, 46—55 (1970).
- McDonald, F. D., Thiel, G., Wilson, D. R., Dibona, G. F., Oken, D. E.: The prevention of acute renal failure in the rat by long-term saline loading. A possible role of the renin-angiotensin axis. (Im Druck).
- McDonald, R. A.: Pathogenesis of lesions induced by serotonin: nutritional, vascular, autoradiographic, and comparative studies using epinephrine. *Amer. J. Path.* **35**, 297—313 (1959).
- Moffat, D. B.: The fine structure of the blood vessels of the renal medulla with particular reference to the control of the medullary circulation. *J. Ultrastruct. Res.* **19**, 532—545 (1967).
- Murphy, G. P., Lawson, N. L.: Experimental acute renal failure. Functional and morphologic alterations induced by serotonin. *Invest. Urol.* **1**, 65—75 (1963).
- Oda, M., Ziegler, M.: Reningehalt der Nieren und des Blutes bei Kochsalzzug und im Durst. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **251**, 174 (1969).

- Oken, D. E., Arce, M. L., Wilson, D. R.: Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. I. Micropuncture study of the development of oliguria. *J. clin. Invest.* **45**, 724—735 (1966).
- Schnermann, J., Nagel, W., Thureau, K.: Die fröhdistale Na-Konzentration in Rattennieren nach renaler Ischämie und haemorrhagischer Hypotension. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **287**, 296—310 (1966).
- Schubert, G. E., Helmchen, U., Reifferscheid, P.: Morphologische Befunde der Nieren nach temporärer Ischämie bei unterschiedlichem Granulationsindex der juxtaglomerulären Zellen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **51**, 308—312 (1967).
- Müller, J.-A., Schöll, A., Linden, U.: Seitenverschiedene Nierenschäden nach Serotonininjektion bei einseitiger Hydronephrose. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **347**, 69—79 (1969).
- Stacey, R. S.: Morphological changes caused by injections of 5-HT in animals and man. In: Eichler, O. und A. Farah, *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, vol. XIX, 5-Hydroxytryptamine and related indolealkylamines. Berlin-Heidelberg-NewYork: Springer 1966.
- Thiel, G., McDonald, F. D., Oken, D. E.: Micropuncture studies of the basis of protection of renin depleted rats from glycerol induced acute renal failure. *Nephron* **7**, 67—79 (1970).
- Thureau, K., Schnermann, J.: Die Natriumkonzentration an den Macula densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche). *Klin. Wschr.* **43**, 410—413 (1965).
- Waugh, D., Pearl, M. J.: Serotonin-induced acute nephrosis and renal cortical necrosis in rats. A morphologic study with pregnancy correlations. *Amer. J. Path.* **36**, 431—455 (1960).

Priv.-Doz. Dr. med. G. E. Schubert
Pathologisches Institut der Universität
D-7400 Tübingen, Liebermeisterstr. 8