

Chronische interstitielle Nephritis (Coli-Pyelonephritis) im Tierexperiment

K. SACK, W. HENKEL und R. COMMICHAU

II. Medizinische Klinik und Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. A. Kleinschmidt) und
Institut für Hygiene und medizinische Mikrobiologie (Direktor: Prof. Dr. R. Preuner)
der Medizinischen Akademie Lübeck

Eingegangen am 3. November 1970

Chronic Interstitial Nephritis (Coli-Pyelonephritis) in Rats

Summary. Since a chronic non-obstructive coli-pyelonephritis (pn) could not be induced in animals up to the present date, albino Wistar rats were infected endovesically with the O 25:19:12 strain of *E. coli*. The histological and bacteriological changes were followed up to 90 days. During the test-interval the animals received 0.5 mg estradiol-undecylate/kg/week i.m.

The pn-rates were significantly higher 3, 6 and 12 weeks after infection 25 compared with the control-groups. The so-called indexes of infection ($\log_{\bar{x}}$ bact/g kidney) of rats with hormonally induced pn remained almost constant. The morphological findings changed from subacute to chronic focal-destructive interstitial nephritis. In contrast to the anatomical renal changes caused by ligation of ureters, purulent abscesses and parenchymal necroses were absent. From the bacteriological and histo-pathological results the administration of estrogen promotes the development of a chronic-progressive renal infection.

Zusammenfassung. Da eine chronische nichtobstruktive Coli-Pyelonephritis (Pn) im Tierexperiment bisher nicht reproduziert werden konnte, erfolgte eine bakteriologische und histologische Langzeitstudie an endovesical infizierten (*E. coli* O 25:19:12) Albino-Wistarratten, denen 0,5 mg Oestradiolundecylat/kg/Woche i.m. injiziert wurden. Nach 3-, 6- und 12wöchigem Verlauf konnten bei hormonaler Infektbahnung gegenüber den Kontrollserien signifikant höhere Pn-Quoten erzielt werden. Die Infektionsindices ($\log K_{\bar{x}}$) lagen als Ausdruck des kontinuierlichen Infektablaufs auf einem weitgehend konstanten Niveau.

Die morphologischen Befunde entsprachen nach 21 Tagen einer subakuten, bei 6- bis 12wöchiger Versuchsdauer dem Bild der chronisch-interstitiellen Nephritis. Das pathologisch-anatomische Substrat der Oestrogen-induzierten Pn unterscheidet sich von der experimentell-obstruktiven Form nach temporärer Ureterligatur vor allem durch sein herdförmiges Infiltrationsmuster ohne größere Abscesse oder Parenchymnekrosen. Aufgrund der bakteriologischen Ergebnisse bewirkt die hormonale Bahnung eine mindestens 3 Monate fortschwelende Niereninfektion, die histologisch als chronisch-progrediente Pn anzusprechen ist.

Die chronische Pyelonephritis (Pn) des Menschen, der als häufigster Nierenkrankung (Berning, 1960) insbesondere wegen ihrer Therapieresistenz (Kleinschmidt, 1961) zunehmendes klinisches Interesse gewidmet wird, konnte bisher im Tierexperiment nicht nachvollzogen werden. Da ohne mechanische Verschädigung der Nieren (Braude u. Mitarb., 1955) oder der ableitenden Harnwege (Vivaldi u. Mitarb., 1959) bei Ratten und Kaninchen keine renale Coli-Infektion auszulösen ist, wurde bislang zur urologischen Infektbahnung eine temporäre partielle Ureterligatur erforderlich (Prät u. Mitarb., 1959). Nach ascendierender oder hämatogener Infektion der Versuchstiere entwickelt sich dann eine akute, meist

einseitig-abscedierende Pn, die jedoch innerhalb von 6—8 Wochen spontan ausheilt (Guze u. Beeson, 1956); eine chronisch-progrediente Nierenentzündung ist mit dieser Methode nicht zu induzieren (Prát, 1965).

Durch Vorbehandlung von Ratten mit einem Oestrogen- oder Progesteronester gelang es inzwischen erstmals, ohne mechanische Läsion des Harntraktes an Ratten bei ascendierendem Weg eine signifikante renale Infektion zu bahnen (Commichau, 1970). An diese Untersuchungen anknüpfend, wurde jetzt durch eine bakteriologische und lichtmikroskopische Verlaufsstudie geprüft, *wie lange* die Niereninfektion persistiert und ob aufgrund der histologischen Befunde die Annahme gerechtfertigt ist, daß sich eine *chronische* Pn entwickelt.

Material und Methode

Weiblichen Albino-Wistarratten (Stamm AF-Han) wurde während der gesamten Versuchsdauer 0,5 mg Oestradiolundezylat (Progynon-Depot)/kg/Woche i.m. injiziert. Die Kontrollgruppen erhielten keinen Oestrogenester. Am 7. und 14. Tag nach der ersten Hormongabe transurethral-intravesicale Instillation einer Keimsuspension von 10^8 — 10^9 Keimen/ml (E. coli O 25 K 19 H 12). Die Sektionen erfolgten 3, 6 oder 12 Wochen nach der 2. Keiminjektion in Pentobarbitalnarkose (25 mg/kg i.p.) bei zusätzlicher intraperitonealer Applikation von 5 mg Furosemid (Lasix) und 2 ml Wasser pro Tier zur Stimulation der Diurese. Blasenpunktion und Entnahme der Nieren unter sterilen Kautelen. Quantitative Keimbestimmung in Harn und Nierenhomogenat. Identifizierung des initial applizierten Serotyps durch Objektträgeragglutination. Als Infektionsbeweis galten, da methodisch gerade noch erfaßbar, Keimzahlen $\geq 10^2$ /g Nierengewebe und Erregermengen $\geq 10^1$ /ml Harn.

Histologische Untersuchung der bei Exstirpation halbierten, dann formalinfixierten (5%) Nieren, die nach Paraffineinbettung zu HE-Schnitten verarbeitet wurden. Statistische Auswertung der Ergebnisse durch Vierfeldertest.

Ergebnisse

1. *Bakteriologische Verlaufsstudie.* 3 Wochen post infectionem fanden wir bei den Oestrogen-vorbehandelten Wistarratten eine im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant höhere Pn-Rate (Abb. 1).

Auch 42 Tage nach der zweiten Keiminstitution waren 15 von 20 Nieren mit dem initial applizierten Coli-Serotyp infiziert, so daß unverändert ein statistischer Unterschied zur Leerserie ohne Hormonbehandlung bestand.

Selbst nach Verlängerung des Versuchsintervalls auf 12 Wochen fand sich noch eine spezifische Keimbesiedlung in annähernd 50% der Nieren. Auch diese Infektionsquote ist signifikant größer als die der Vergleichsgruppe. Eine Keimkonzentration (E. coli O 25) von 10^3 — 10^3 /g Organgewebe wiesen 3 der 24 infizierten Nieren auf. In 4 Präparaten, für die kein Erregernachweis gelang, bot sich histologisch das typische Bild einer chronischen Entzündung. Diese Diskrepanz ist sehr wahrscheinlich methodisch bedingt, weil aufgrund der bakteriologischen Substratverarbeitung erst eine Gewebskonzentration ab 10^2 Keimen/g Niere erfaßt wurde.

Die statistische Analyse der Keimraten im Harn ergab nach 3-, 6- und 12wöchiger Testdauer in keinem Fall einen Unterschied zwischen Hormon- und Kontrollgruppen.

2. *Infektionsgrad.* Als bakteriologisches Maß für die Akuität des pyelonephritischen Prozesses bzw. die Intensität des Harnwegsinfektes wurde die Keimzahl/g Niere bzw. Erregerquote/ml Harn gewählt. Der renale Infektionsindex

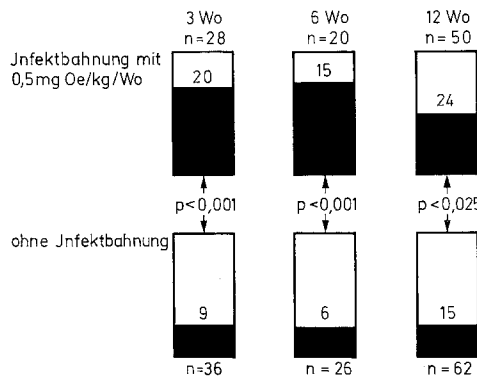


Abb. 1. Oestrogen-gebaunte Pyelonephritis (■ $\geq 10^2$ E. coli O 25/g Niere) an Albino-Wistarratten bei differenter Versuchsdauer im Vergleich zum Kontrollkollektiv

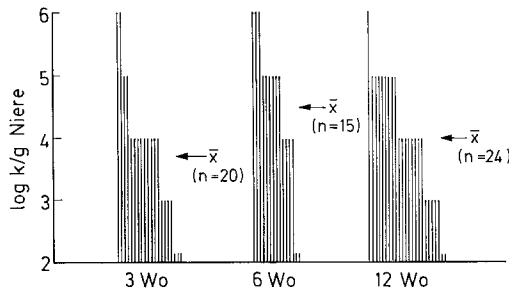


Abb. 2. Keimkonzentrationen von E. coli O 25:19:12/g Rattenniere nach transurethraler Infektion bei unterschiedlicher Versuchsdauer

(log K_x) betrug nach 21 Tagen 3,8 und im 6- sowie 12wöchigen Intervall 4,5 bzw. 4. Er lag damit während der 3 verschiedenen Versuchsperioden auf einem fast konstanten Niveau (Abb. 2). Bei mehr als zwei Dritteln der infizierten Wistarratten war die Pn doppelseitig ausgeprägt. Der urinogene Infektionsindex ergab bei analoger Auswertung 2,8 bzw. 3,8 und wurde nach 90 Tagen an 12 von 15 erkrankten Tieren zu 3,2 bestimmt.

3. *Makroskopische Beobachtungen.* Die mit dem verwendeten Coli-Serotyp infizierten Nieren zeigten an der Ober- und Schnittfläche unabhängig vom Testintervall weitgehend ähnliche pathologisch-anatomische Veränderungen. Neben herdförmig angeordneten, leicht prominenten Entzündungsarealen fanden sich vor allem narbig eingesunkene, zackig begrenzte sowie am Kratergrunde granulierte Parenchymbezirke. Die parahilären Organabschnitte waren am stärksten betroffen; beidseitiger Nierenbefall überwog. Makroskopisch wirkte die entzündliche Umgestaltung der Nierenkonturen nach 6- und 12wöchigem Verlauf ausgeprägter als nach 21tägiger Versuchsdauer.

4. *Histologische Befunde.* Das mikroskopische Bild wurde nach 3 Wochen als Ausdruck der subakuten Entzündung vor allem von dichten interstitiellen

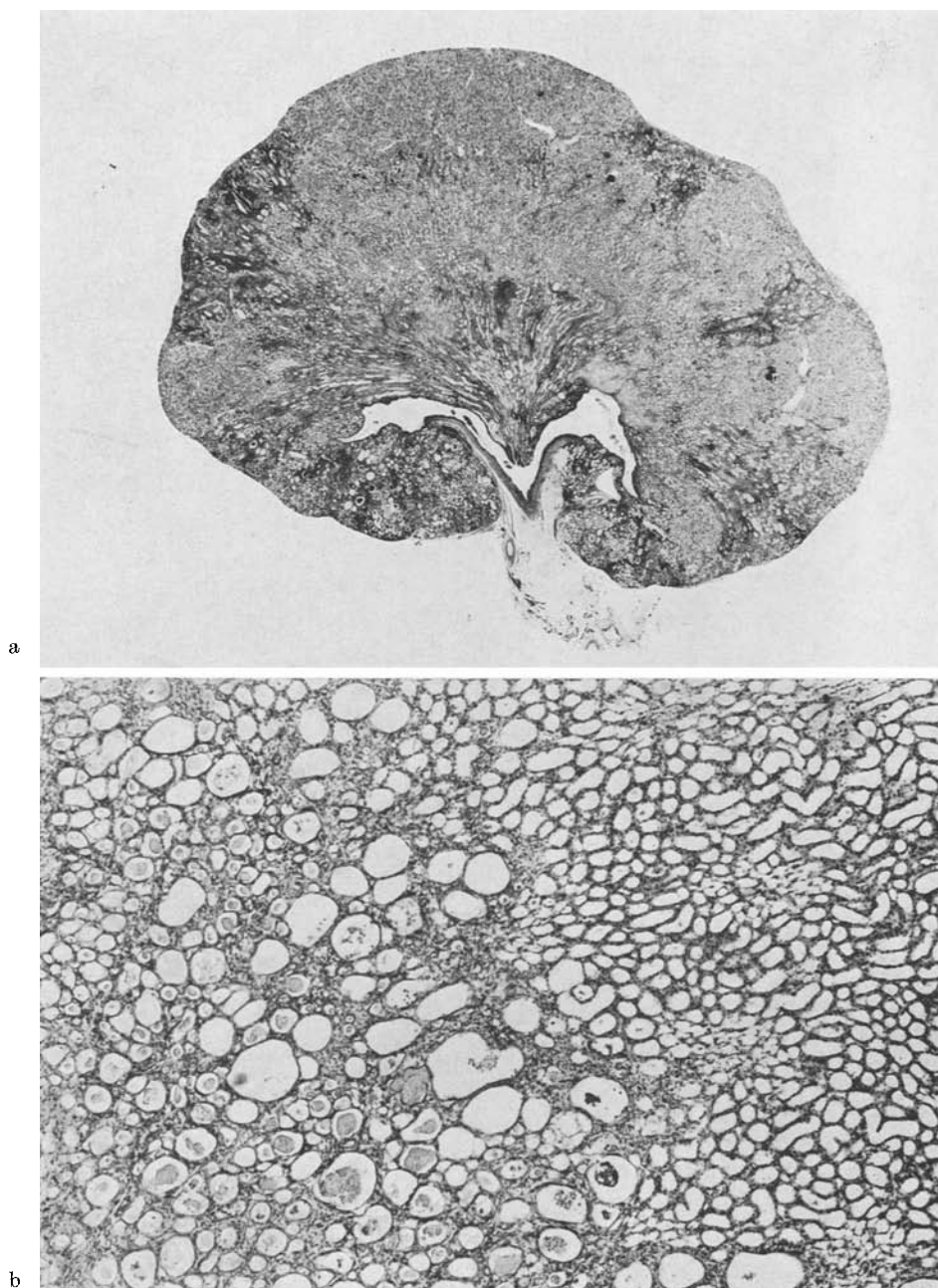


Abb. 3a u. b. Nichtobstruktive Pyelonephritis nach hormonaler Bahnung: a Sektorförmige, entzündliche Destruktion (10^4 E. coli O 25/gN) vor allem der Papille und des hilusnahen Parenchyms (60/69 L, 12 Wo, HE. $7\times$); b chronischer Infiltrationstyp (10^4 E. coli O 25/g N) mit sog. Strumabild nach 12wöchiger Versuchsdauer (8/70 R, HE. $40\times$)

Infiltraten aus Granulocyten und Rundzellen beherrscht. In den Harnkanälchen waren oft zahlreiche Leukocytenzylinder anzutreffen. Umschriebene Gewebsareale ließen bereits eine Vernarbungstendenz erkennen. Größere Abscedierungen und Papillennekrosen, wie wir sie bei der obstruktiv-gebahnten Pn nach temporärer Ureterligatur regelmäßig sahen, fehlten.

Nach 6wöchigem Verlauf zeichnete sich in den Nieren meist schon die Entwicklung einer chronisch-interstitiellen Nephritis ab. Bei 12wöchiger Versuchsdauer fanden sich dann regelmäßig die typischen histologischen Merkmale der chronischen Pn: Sektorförmig angeordnete lympho-plasmacelluläre Infiltration des durch bindegewebige Proliferation verbreiterten Interstitiums neben intakten Parenchymbezirken, geschrumpften Vernarbungszonen sowie strumaähnlich umgewandelten Tubulus- und Sammelrohrarealen (Abb. 3). Selbst nach 3 Monaten waren als morphologisches Äquivalent der persistierenden Infektion noch in zahlreichen Nieren interstitiell angeordnete Mikroinfiltrate aus Granulocyten und cellcasts in erweiterten Harnkanälchen aufzufinden.

Diskussion

In einer Langzeitstudie über 3 Monate wurde am Modell der nichtobstruktiven Oestrogen-gebahnten Pyelonephritis (Pn) der Infektionsverlauf bakteriologisch und histologisch verfolgt.

Untersuchungsergebnisse der obstruktiven Niereninfektion nach mechanischer Infektbahnung mittels temporärer Ureterligatur basieren in der Regel auf einer bakteriellen Schwellenkonzentration von mindestens 10^3 K/g Niere (Koničková u. Mitarb., 1967; Ritzerfeld u. Mitarb., 1969). Diesem mikrobiologischen Auswertungsmodus entgeht, wie auch eigene Versuche ergaben, eine jeweils unbestimmte Zahl von experimentell induzierten renalen Infekten. Um diese Fehlerquote bei vertretbarem technischem Aufwand möglichst klein zu halten, legten wir unseren Resultaten als Infektionsbeweis eine Keimzahl von $K \geq 10^2$ /g Niere zugrunde. So konnten in der 12-Wochen-Serie 3 Nieren mit Keimzahlen von nur 10^2 — 10^3 /g Gewebe ermittelt werden, von denen 2 histologisch das charakteristische Bild einer disseminierten interstitiellen Nephritis boten. Als Ursache für den fehlenden lichtmikroskopischen Befund einer Pn im 3. Organ mit niedriger Erregerquote ist in Betracht zu ziehen, daß histologisch lediglich 2 Übersichtschnitte je Niere durchmustert wurden, die herdförmige Infiltrate nicht regelmäßig erfassen, und der entzündliche Prozeß nur in der zur bakteriologischen Verarbeitung abgetrennten Nierenhälfte manifestiert war. Hiermit ist teilweise auch zu erklären, warum 4 weitere Nieren bakteriologisch steril ausfielen, obgleich die lichtoptisch geprüften Organanteile ein typisches Infiltrationsmuster erkennen ließen. Ferner ist eine geringe Keimbesiedlung dieser Nieren in einer Größenordnung von 10^0 — 10^2 /g Gewebe methodisch nicht auszuschließen. Diese vergleichende Versuchsauswertung zeigt, daß die experimentell induzierte chronische Niereninfektion nicht mit einem massiven Erregerbefall einhergehen muß, sondern auch von kleinen Bakterienkonzentrationen unterhalten werden kann.

Der bakteriologischen Verlaufsanalyse ist zu entnehmen, daß die renalen Infektquoten der Oestrogen-vorbehandelten Tiere nach 3, 6 und 12 Wochen stets signifikant höher sind als die der Kontrollkollektive. Demgegenüber ist anhand

der quantitativen Keimbestimmungen im Harn keine statistische Differenz zwischen den Vergleichsserien festzustellen; auch bei doppelseitigen Pyelonephritiden waren die Harnproben häufig steril. Zur Deutung dieser Beobachtung muß zunächst davon ausgegangen werden, daß nur ein Teil der bakteriell besiedelten Parenchymbezirke canaliculär drainiert ist. Ferner hängt die Keimkonzentration im Harn von seiner endovesicalen Verweildauer ab (Stamey u. Mitarb., 1965), die unter den experimentellen Bedingungen relativ kurz war. Sie wird außerdem vom aktuellen Nährmilieu des Urins bestimmt: Bei Saluretika-provozierter Harnverdünnung ist die absolute Keimvermehrungsrate offenbar infolge Substratmangels reduziert (Freiesleben, 1970). Deshalb muß die Keimbestimmung im Harn gegenüber der bakteriologischen Analyse des Nierenhomogenats als wesentlich unzuverlässigeres Kriterium zur Beurteilung eines entzündlichen renalen Prozesses gelten.

Um quantitativ definierte Niereninfekte in ihrer Akuität zu verschiedenen Zeitintervallen miteinander vergleichen zu können, wurde als sog. Infektionsindex die mittlere Keimzahl/Nieren ($\log K_x$) bestimmt. Er bewegte sich 3, 6 und 12 Wochen nach der transurethralen Bakterieninjektion mit 3,8 und 4,5 sowie 4,0 in einem engen Bereich. An der Größenordnung und der weitgehenden Konstanz der Infektionsindices ist abzulesen, daß die hormonal-gebahnte Pn einen mitigierten sowie kontinuierlichen Verlauf nimmt. Hierin ähnelt die Oestrogen-induzierte Niereninfektion der bakteriellen chronisch-interstitiellen Nephritis des Menschen. Sie unterscheidet sich grundsätzlich von der experimentell-obstruktiven Verlaufsform, bei der initial aufgrund der massiven Organvorschädigung, die zur Absceßbildung disponiert, sehr hohe renale Keimzahlen (10^6 — 10^8 K/gNiere) bestehen, und bereits nach etwa 6 Wochen die Mehrzahl der Nieren steril ist.

Den Ergebnissen der bakteriologischen Verlaufsanalyse entsprechen unsere pathologisch-anatomischen Beobachtungen. Das morphologische Substrat der experimentell-nichtobstruktiven Pn stimmt mit den von Gloor (1966) und Zollinger (1966) beschriebenen makro- sowie mikroskopischen Charakteristika der herdförmig-destruktiven interstitiellen Nephritis des Menschen annähernd überein. Die makroanatomischen Veränderungen der Nieren — wie narbige Umgestaltung der Konturen oder Ausdehnung der hilusnahen Infiltrationsareale — nahmen mit der Versuchsdauer graduell zu. Anhand der histologischen Kontrollen ist der Übergang des primär subakuten Entzündungstyps in eine chronische Verlaufsform überzeugend zu verfolgen. Nach 3wöchigem Testintervall überwiegen in dem meist herdförmigen Infiltrationsmuster granulocytäre Elemente. Diese Gewebsreaktion wird in der Folgezeit von Rundzellinfiltraten abgelöst, die chronische Entzündungen histologisch kennzeichnen. So besteht nach 90 Tagen in zahlreichen Nieren als histologisches Äquivalent der persistierenden Infektion ein buntes Bild aus lympho-plasmacellulärer Infiltration, intakten, narbig-geschrumpften, interstitiell-bindegewebig proliferierten oder strumaähnlich umgewandelten Parenchymbezirken. Damit kann erstmals von einer chronisch-progredienten Coli-Pn im Tierexperiment gesprochen werden.

Literatur

- Berning, H.: Pyelonephritis. In: Die Prognose der chronischen Erkrankungen, Hrsg. F. Linneweh, S. 111. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
 Braude, A. I., Shapiro, A. P., Sieminski, J.: Hematogenous pyelonephritis in rats. I. Its pathogenesis when produced by a simple new method. J. clin. Invest. **34**, 1489 (1955).

- Commichau, R.: Nicht-obstruktive Coli-Pyelonephritis durch hormonale Infektbahnung. Methode und Anwendungsbereich der tierexperimentellen Modellkrankheit. Habil.-Schr. Lübeck 1970.
- Freiesleben, H.: Ergebnisse manometrischer Untersuchungen zur Bakteriostase im Urin. 12. Tagg der Österreich. Ges. f. Mikrobiol. u. Hygiene, Baden bei Wien 1970.
- Gloor, F.: Pathologische Anatomie der Pyelonephritis. In: Die Pyelonephritis, Hrsg. Losse, H., u. M. Kienitz, S. 56. Stuttgart: Thieme 1966.
- Guze, L. B., Beeson, P. B.: Experimental pyelonephritis. I. Effect of ureteral ligation on the course of bacterial infection in the kidney of the rat. *J. exp. Med.* **104**, 803 (1956).
- Kleinschmidt, A.: Pathogenetische Bedeutung und Therapie der Pyelonephritis. Regensburg. *Jb. ärztl. Fortbild.* **11**, 695 (1961).
- Koničková, L., Prát, V., Ritzerfeld, W., Losse, H.: Der Chloramphenicol-Effekt bei der experimentellen Coli-Pyelonephritis und bei der in vitro-Prüfung. 5. Internat. Kongr. f. Chemotherapie, S. 171. Wien 1967.
- Prát, V.: Diskussionsbemerkung. 1. Pyelonephritis-Symposium Bad Salzungen 1965. In: Die Pyelonephritis, Hrsg. Losse, H., u. M. Kienitz. Stuttgart: Thieme 1966.
- Benešová, D., Pávková, L., Cervinka, F.: The relationship of urinary obstruction to experimental chronic pyelonephritis in the rabbit. *Acta med. scand.* **165**, 305 (1959).
- Ritzerfeld, W., Prát, V., Koničková, L., Losse, H.: Carbenicillin und Gentamycin bei der experimentellen Pyelonephritis. *Fortschr. Med.* **87**, 189 (1969).
- Stamey, T. A., Govan, T. E., Palmer, J. M.: The localization and treatment of urinary tract infections: the role of bactericidal urine levels as opposed to serum levels. *Medicine (Baltimore)* **44**, 1 (1965).
- Vivaldi, E., Cotran, R., Zangwill, D. P., Kass, E. H.: Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non obstructive pyelonephritis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **102**, 242 (1959).
- ZOLLINGER, H. U.: Pathologische Anatomie der Pyelonephritis. In: Spezielle pathologische Anatomie, Hrsg. Doerr, W., u. E. Uehlinger, Bd. III, S. 436. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

Dr. Klaus Sack
II. Med. Klinik und Poliklinik
der Medizinischen Akademie
BRD-2400 Lübeck, Ratzeburger Allee 160
Deutschland