

## Resistenz des Nierengewebes 'gegen Dichromatschäden nach Folsäureinjektion\*

G. E. SCHUBERT, E. SINNER und G. OTTEN

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

Eingegangen am 3. April 1971

### Resistance to Dichromate Induced Renal Lesions after Injection of Folic Acid

**Summary.** A single intravenous injection of folic acid in rats results in a resistance to dichromate induced renal lesions. The animals used in our experiments were 66 male rats of the Wistar strain showing extensive necroses in the proximal parts of the proximal convolutions following s.c. injection of 1.5 mg of potassium dichromate/100 g, whereas such necroses only occurred in 10 to 46% of the animals if folate had been injected before. This resistance could be determined 1) during and immediately after the peak of increased synthesis of nucleic acids induced by the folate 2 days after its injection; 2) in the phase of maximal renal content of DNS and RNS 4 days after the folate; and 3) at the ninth day when the folate induced polyuria had declined. It is suggested that a change from functional to proliferative metabolism might be the most important cause of this folate induced resistance of kidneys. Moreover, decreased transport of the nephrotoxin might be responsible for this protection against renal lesions.

**Zusammenfassung.** Untersuchungen an insgesamt 78 männlichen Wistar Ratten führten zu dem Ergebnis, daß Ratten Nieren nach einmaliger Injektion einer höheren Folsäuredosis gegen Dichromatschäden weitgehend resistent sind. Während nach s.c. Injektion von 1,5 mg Dichromat/100 g Körpergewicht bei allen Tieren ausgedehnte Nekrosen der proximalen Hauptstückanteile auftraten, waren derartige Nekrosen nach vorausgehender Folsäure-(FS)-Gabe nur bei 10—46% der Ratten nachzuweisen. Diese Resistenz besteht während und unmittelbar nach dem Maximum der FS-induzierten Nucleinsäuresyntheserate nach 2 Tagen, in der Phase des höchsten renalen DNS- und RNS-Gehaltes nach 4 Tagen und nach Abklingen der gesteigerten Nucleinsäuresynthese am 9. Tag, an dem auch die nach der FS-Zufuhr auftretende Polyurie abgeklungen ist. Da FS-Injektionen in dieser Dosierung zur starken Proliferation des Nierengewebes bei gleichzeitig bestehender renaler Funktionsstörung führen, wird als Ursache der unterschiedlichen morphologischen Befunde vor allem eine herabgesetzte Empfindlichkeit des vom Funktions- auf den Proliferationsstoffwechsel umgestellten Nierengewebes diskutiert. Darüber hinaus wird die Frage nach einem verminderten Antransport des Nephrotoxins hervorgehoben.

Mit einer einmaligen Folsäureinjektion kann in Ratten- und Mäusenieren ein Proliferationsschub der Epithelien aller Nephronabschnitte ausgelöst werden, der mit erheblicher Zunahme der DNS- und RNS-Synthese, entsprechendem Anstieg des Trockengewichts und starker Vergrößerung der Nieren einhergeht; ein Prozeß, der von Taylor als chemisch induzierte Hypertrophie bezeichnet wurde (Taylor u. Mitarb., 1966; Threlfall u. Mitarb., 1966, 1967; Baserga u. Mitarb., 1968).

Vorausgehende Untersuchungen haben ergeben, daß die Nieren während dieses Proliferationsschubes und in den darauffolgenden Tagen weniger empfind-

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

lich gegen einen Serotonin-schock sind und die typischen, durch Gefäßspasmen ausgelösten ischämischen Nekrosen nach Injektion von 5-Hydroxytryptamin hier sehr viel seltener oder gar nicht auftreten (Schubert, Otten und Sinner, 1971). Es erschien uns daher lohnend, in einer weiteren Versuchsserie zu prüfen, ob diese verminderte Vulnerabilität der Nieren nach Folsäuregabe auch gegenüber einem Nephrotoxin besteht. Als nephrotoxische Substanz verwendeten wir Kalium-dichromat, das im Hinblick auf unsere Fragestellung den Vorteil hat, über die Nierenrinde gleichmäßig verteilte lichtmikroskopisch eindeutig faßbare Läsionen definierter Nephronabschnitte zu erzeugen (Baines, 1965; Biber u. Mitarb., 1968; Schubert u. Mitarb., 1970, u.a.). Unterschiede im Schweregrad der Schädigung sind wesentlich leichter zu erkennen als bei herdförmig stärker differierenden Tubulusrandschäden.

### Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 78 männlichen, zu Versuchsbeginn 150—205 g schweren Wistar-ratten (Zucht Ivanovacs, Kisslegg) durchgeführt. Folsäure (FS) injizierten wir in einer Dosierung von 250 mg/kg Tiergewicht (Folsäure rein, Merck 500010, in einer Konzentration von 25 mg/ml 0,3 m NaHCO<sub>3</sub>-Lösung) in die Schwanzvene. Dichromat in einer Dosis von 15 mg/kg Tiergewicht (Kaliumdichromat, Merck 4864, als 0,15%ige Lösung in Aqua dest.) s.c. unter die Nackenhaut. Die FS-Injektionen erfolgten an nicht narkotisierten Tieren, die Dichromatinjektionen in flacher Äthernarkose.

Bei Versuchsbeginn wurden zur Bestimmung der normalen Harnausscheidung alle Tiere in Einzelstoffwechselkäfige gesetzt, in denen wir den Sammelurin des ersten Tages untersuchten, am zweiten Tag die Harnausscheidung nach 2, 7, 15 und 24 Std registrierten. Nach der FS-Injektion wurden die Harnausscheidungen ebenfalls nach 2, 7, 15 und 24 Std gemessen, in den folgenden Tagen nur noch der 24 Std-Urin erfaßt. In gleicher Weise erfolgte die Urin-sammlung nach der Dichromatinjektion zunächst nach 2, 7, 15 und 24 Std, dann nach 48 und 60 Std. Ausgangswert dieser Meßperioden war der Zeitpunkt der Folsäure- oder Dichromatinjektion um 20.00 Uhr abends. Nur bei je 4 Tieren der Gruppen Ic, IIc und IIIc injizierten wir zur Überprüfung der circadianen Rhythmen die FS-Injektionen morgens um 8.00 Uhr. Der Urin wurde gewogen und flammenphotometrisch auf den Na<sup>+</sup>- und K<sup>+</sup>-Gehalt untersucht.

Im einzelnen bildeten wir folgende Versuchsgruppen, wobei die Gruppen der nur mit Folsäure oder nur mit Dichromat behandelten Tiere kleiner gehalten werden konnten, da die Befunde aufgrund vorausgehender gleichartiger Untersuchungen hier bekannt waren (Folsäure: Schubert, Otten und Sinner, 1971; Dichromat: Schubert, Gebhard und Hönlein, 1970):

*Gruppe I* [2 Tage nach Folsäureinjektion (FS) Dichromatgabe (Di)].

a) 10 Tiere (FS + Di) 48 Std nach FS-Injektion wird Dichromat verabreicht, nach weiteren 60 Std Töten der Tiere.

b) 5 Tiere (Di) 48 Std nach i.v. Injektion von etwa 1,6 ml Bicarbonatlösung [= gleiche Menge, in der bei a) und c) die FS gelöst ist] s.c. Gabe von 1,5 mg Kaliumdichromat/100 g Tiergewicht, 60 Std danach werden die Tiere getötet.

c) 7 Tiere (FS) 48 Std nach FS-Injektion s.c. Injektion 0,9%iger NaCl Lösung, deren Volumen von etwa 1,7 ml dem Dichromatlösungsmittel entspricht. Nach weiteren 60 Std Töten der Tiere.

*Gruppe II* (4 Tage nach Folsäureinjektion Dichromatzufuhr).

a) 10 Tiere (FS + Di) 4 Tage nach FS-Injektion Dichromatgabe, nach weiteren 60 Std Töten der Tiere.

b) 5 Tiere (Di) 4 Tage nach i.v. Injektion von Bicarbonatlösung gleiche Behandlung wie I b.

c) 7 Tiere (FS) 4 Tage nach Folsäureinjektion, weiteres Vorgehen wie in Gruppe Ic.

*Gruppe III* (9 Tage nach Folsäureinjektion Dichromatinjektion).

a) 10 Tiere (FS + Di) 9 Tage nach FS-Injektion Dichromatgabe, nach weiteren 60 Std Töten der Tiere.

b) 5 Tiere (Di) 9 Tage nach Di i.v. Injektion der Bicarbonatlösung, weitere Behandlung wie Ib.

c) 7 Tiere (FS) 9 Tage nach FS-Injektion gleiches Vorgehen wie in Gruppe Ic.

*Gruppe IV* (Kontrollgruppe) 12 Ratten, 48 Std nach i.v. Injektion von etwa 1,6 ml Bicarbonatlösung (= gleiche Menge, in der die Folsäure gelöst ist) Töten der Tiere.

Die Zeitpunkte für die Dichromatinjektionen waren so gewählt, daß unmittelbar nach Ablauf der höchsten RNS- und während der größten DNS-Syntheserate (2. Tag nach FS-Injektion), in der Phase des höchsten Nucleinsäuregehaltes der Nieren (4. Tag nach FS-Injektion nach Threlfall u. Mitarb., 1967) und nach Abklingen der polyurischen Phase (9. Tag nach FS) das Nephrotoxin zugeführt wurde.

Alle Ratten erhielten Altromin Standardfutter und Leitungswasser ad libitum. Am Ende der Versuche wurden den Tieren in kurzer Äthernarkose beide Nieren entnommen. Nach Wägen der dekapsulierten Organe diente eine Nierenhälfte zur Trockengewichtsbestimmung, die anderen 3 Hälften wurden zur mikroskopischen Untersuchung weiterverarbeitet. Trockengewichtsbestimmung, Herstellung und Auswertung der mikroskopischen Präparate erfolgten nach bereits beschriebenen Methoden (Schubert, Otten und Sinner, 1971).

### Ergebnisse

Das äußere Verhalten der Tiere ist nach der FS- und nach der Dichromatinjektion unauffällig. Die Tiere verlieren in den ersten 2 Tagen nach der FS-Zufuhr etwa 7% ihres Körpergewichtes, anschließend steigt das Gewicht bis Versuchsende langsam wieder an. Nach der Dichromatinjektion bleibt dagegen das Körpergewicht konstant (s. Sinner, 1972).

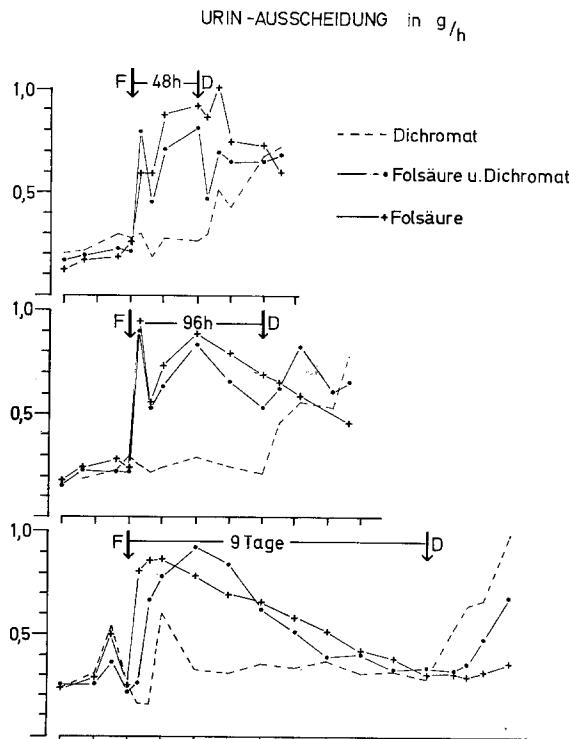


Abb. 1. Harnmenge nach Folsäure- ( $\downarrow F$ ) und Dichromatinjektion ( $\downarrow D$ ). Ordinate: Harnmenge in g/Std; Abszisse: Tage

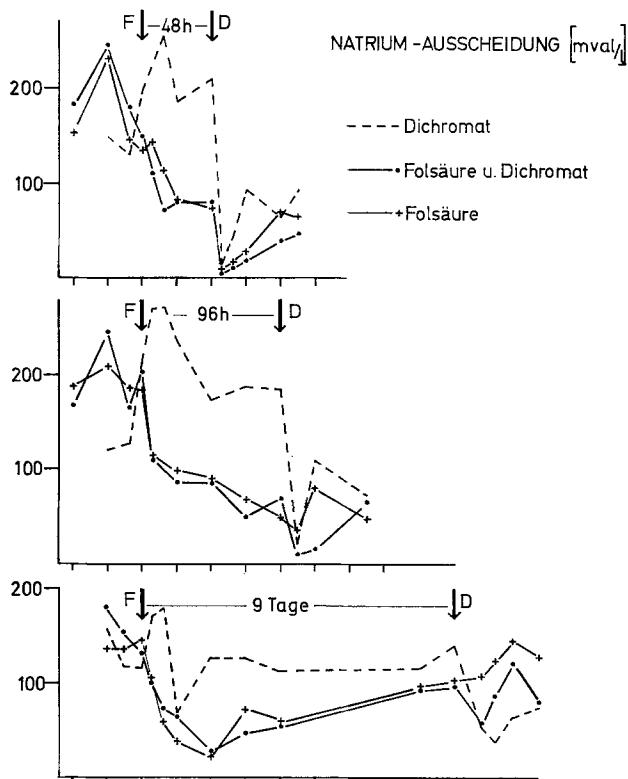


Abb. 2. Natriumkonzentration des Urins nach Folsäure- und Dichromatinjektion. Ordinate: Natriumkonzentration des Urins in mval/l, Beschriftung sonst wie Abb. 1

### Harnausscheidung

Unmittelbar nach der FS-Injektion tritt eine kurzdauernde Diurese mit Harnmengen von etwa dem 4fachen der Norm auf, geht bei 2 Gruppen (I und II) nach vorübergehendem leichten Abfall der Harnausscheidung in eine langdauernde polyurische Phase über, die erst 7—8 Tage nach FS-Injektion abgeklungen ist (s. Abb. 1). Die initiale Diurese tritt in Gruppe III, wenn auch in geringerem Ausmaß, auch bei den Tieren auf, denen statt FS nur Bicarbonatlösung injiziert wurde. Unabhängig vom Zeitpunkt der Dichromatzufuhr folgt dieser zweiten Injektion eine erneute polyurische Phase, die in dem untersuchten Zeitraum, d.h. bis zu 60 Std nach der Dichromatinjektion, das Ausmaß der FS-induzierten Polyurie nicht übersteigt. In keiner der Gruppen ist nach der FS- oder der Dichromatinjektion eine Oligoanurie zu beobachten. Die stündlichen Harnmengen liegen nach den Injektionen nie unter den Kontrollwerten.

Wird dagegen die FS morgens um 8.00 Uhr injiziert, so fehlt dieser initiale kurze Diuresegipfel. Nach einer etwa 2stündigen „Oligoanurie“, die der geringen physiologischen Harnausscheidung der Kontrolltiere zu dieser Tageszeit entspricht, beginnt 5 Std nach der FS-Injektion die polyurische Phase, deren Ablauf vollständig der Ausscheidungskurve der Tiergruppen entspricht, denen die FS abends verabreicht wurde.

### Harnelektrolyte

Mit Beginn der Diurese folgt der Folsäureinjektion ein Abfall der Natriumkonzentration im Urin, die zum Zeitpunkt der maximalen Polyurie, 2—4 Tage nach FS-Zufuhr mit Werten

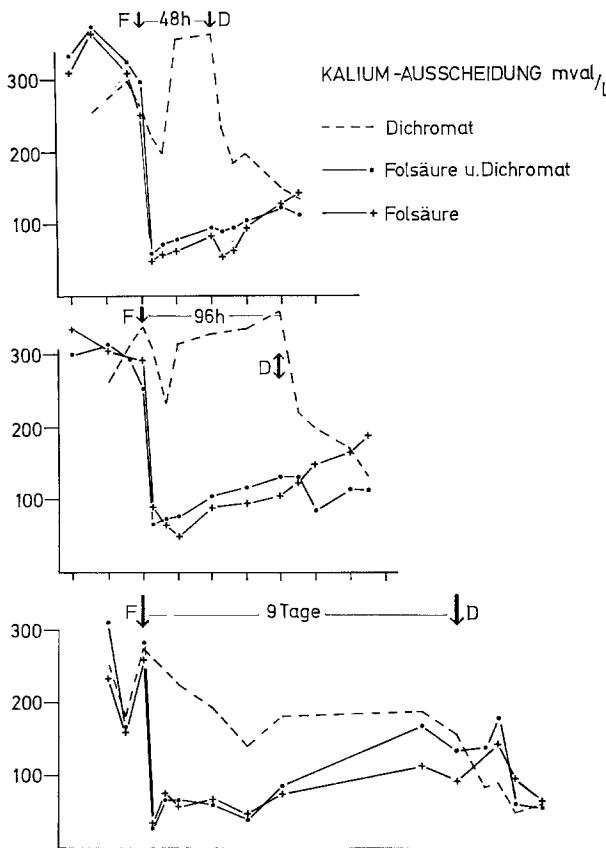


Abb. 3. Kaliumkonzentration des Urins nach Folsäure- und Dichromatinjektion. Ordinate: Kaliumkonzentration in mval/l, Beschriftung sonst wie Abb. 1

von etwa 25 mval/l das Minimum erreicht. Auch nach der Dichromatinjektion nimmt die  $\text{Na}^+$ -Konzentration im Urin ab (s. Abb. 2). In gleicher Weise fällt die Kaliumkonzentration des Urins nach der FS- und der Dichromatinjektion auf 25—75 mval/l ab (s. Abb. 3). Die Absolutmengen des täglich mit dem Urin ausgeschiedenen Natriums und Kaliums bleiben in allen Gruppen gleich, d.h. es tritt nach der FS-Injektion kein Verlust dieser Elektrolyte auf.

#### Nierengewichte

Nach der FS-Zufuhr nimmt das Nierengewicht erheblich zu, ist 4,5 Tage nach der Injektion mit +66,4% signifikant größer als das entsprechender Kontrolltiere (s. Abb. 4). Auch nach 6,5 Tagen sind die Nieren FS-behandelter Ratten noch 54,6% schwerer als die Kontrollnieren, und selbst nach 11,5 Tagen liegen die Nierengewichte mit +41,3% noch signifikant über dem Normbereich. Diese Gewichtszunahme ist zwar vorwiegend Folge einer vermehrten Wassereinlagerung, die Trockengewichtsbestimmungen zeigen jedoch, daß auch die Trockenmasse der Organe ansteigt, 6,5 Tage nach der FS-Gabe mit +33,3% gegenüber dem Kontrollwert signifikant am größten ist.

Dichromatinjektion allein führt zum signifikanten Anstieg des Nierengesamtgewichtes um 26,4%, während das Trockengewicht dieser Organe zum Zeitpunkt der Tötung nicht signifikant erhöht ist. Die zusätzliche Dichromatinjektion verursacht bei den FS-behandelten

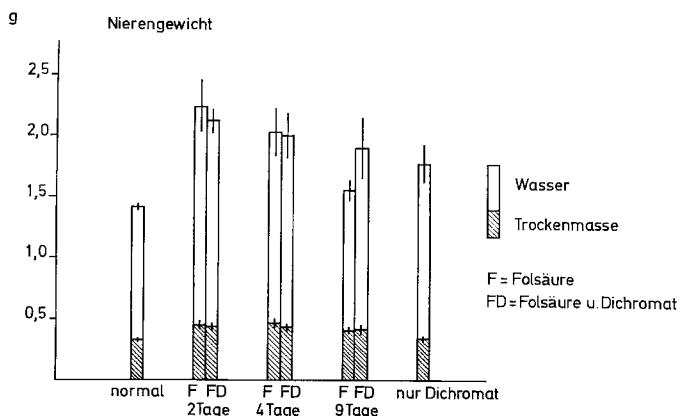


Abb. 4. Nierengewichte nach Folsäureinjektion (F) und nach Folsäurezufuhr mit nachfolgender Dichromatinjektion (FD). 2, 4 und 9 Tage geben den Zeitpunkt der Dichromatinjektion nach der Folsäurezufuhr an



Abb. 5. Rattenniere 4,5 Tage nach Folsäureinjektion. Veränderungen der Mittelstückepithelien am „Kontaktpunkt“ mit Bowmanscher Kapsel und Vas afferens oder efferens des Glomerulum: Zellschwellung mit Aufhellung des Cytoplasma, Schwellung oder Pyknose der Kerne. Semidünnsschnitt, Versilberung nach Movat, Vergr. 600:1

Ratten nur in Gruppe I eine signifikante Erniedrigung der Nierengewichte, die Trocken Gewichte differieren hier nicht signifikant, sie liegen jedoch in Gruppe II signifikant unter denen nur mit FS behandelter Ratten.

### Morphologische Nierenbefunde

#### *Nur mit Folsäure behandelte Ratten*

Mikroskopisch finden sich in den vergrößerten Nieren mit glatter blasser Oberfläche 4,5 Tage nach FS-Injektion (Gruppe Ic, s. Abb. 6b) weitgestellte Harnkanälchen in Rinde und Mark mit katabiotischen Veränderungen einiger Tubulusepithelgruppen, einzelnen kleinen Granulomen, knotenförmigen Epithelproliferationen im Rindenbereich, interstitiellen Rundzellinfiltraten und verkalkten Zylindern. Diese Zylinder liegen bevorzugt in den Mittelstücken am Kontakt-punkt mit dem glomerulären Gefäßpol, die Epithelien dieses Nephronabschnittes zeigen häufiger regressive Veränderungen oder Zeichen der Regeneration (siehe Abb. 5). Mitosen sind in allen Kanälchenbezirken häufig nachzuweisen (ausführliche Beschreibung der lichtmikroskopischen Nierenveränderungen nach FS-Gabe s. Schubert, Otten und Sinner, 1971).

Nach 6,5 Tagen (Gruppe IIc) ist die Weitstellung der Harnkanälchen leicht zurückgegangen. Jetzt treten herdförmig angeordnete zellreiche Tubulusbezirke mit ungewöhnlich dicht stehenden basophilen Epithelien stärker hervor. Diese in allen Nephronabschnitten einschließlich der Sammelrohre erkennbaren Epithelproliferate heben sich besonders im Rindenbereich von dem umgebenden eosinophileren Parenchym deutlich ab. Die Läsionen der Mittelstücke am glomerulären Gefäßpol sind nicht wesentlich verändert, Mitosen werden selten gefunden.

11,5 Tage nach FS-Injektion (Gruppe IIIc) sind diese Gruppen zellreicherer, basophilerer Tubuli in den sonst wieder weitgehend unauffälligen Nieren (siehe Abb. 7a) deutlich erkennbar. Daneben sind auch jetzt noch verkalkte Zylinder in den Mittelstücken am Kontakt-punkt mit dem Gefäßpol des Glomerulum vorhanden, werden von abgeflachten Epithelien umgeben.

#### *Nur mit Dichromat behandelte Ratten*

Der histologische Nierenbefund nur mit Dichromat behandelter, stets 60 Std nach der Injektion getöteter Ratten ist bei sämtlichen Tieren identisch: Gleichmäßig über die gesamte Rinde verteilt sind die proximalen Anteile der Hauptstücke nekrotisch (s. Abb. 7b). Vereinzelt bestehen diese Nephronsegmente nur noch aus entblößten Basalmembranschläuchen mit leeren Tubuluslichtungen. Die Lumina der Partes rectae der Hauptstücke und der Henleschen Schleifen sind stellenweise von zylinderförmigen Detritusmassen angefüllt; Henlesche Schleifen und Mittelstücke in der Rindenzone enthalten häufiger hyaline Zylinder. Wiederholt finden sich Mitosen noch erhaltener, d.h. distalerer Hauptstück-epithelien, die hydropisch geschwollen erscheinen.

#### *Mit Folsäure und Dichromat behandelte Ratten*

*Gruppe I (2 Tage nach FS Dichromatinjektion).* Im Vordergrund steht der oben beschriebene typische Befund nach 4,5 Tage zurückliegender FS-Injektion mit weiten Harnkanälchen, Läsionen kleiner Epithelgruppen, Granulomen, knotenförmigen Epithelproliferationen und zellreicherem basophileren Tubulusabschnitten sowie verkalkten Zylindern bevorzugt an den „Kontaktpunkten“ der Mittelstücke am glomerulären Gefäßpol. Die für Dichromatschäden kennzeichnenden Koagulationsnekrosen proximaler Hauptstückanteile sind nur in zwei

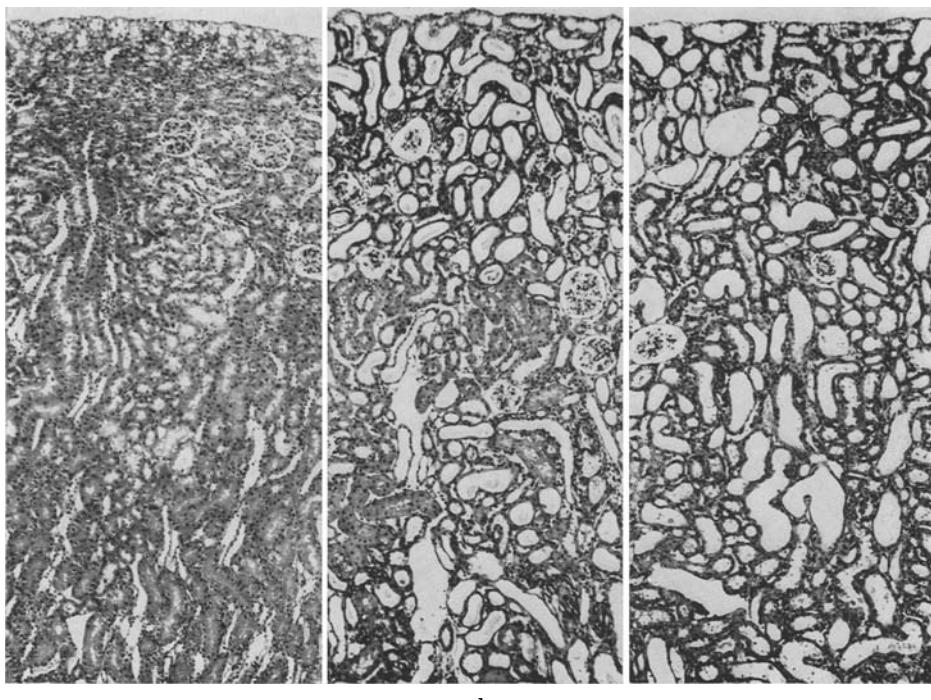


Abb. 6a—c. Gegenüberstellung normalen Rattennierengewebes mit Nierengewebe nach Folsäurebehandlung und nach Folsäureinjektion mit anschließender Dichromatzufuhr. a Kontrollniere (Gruppe IV): Normales histologisches Bild mit unauffälligen Harnkanälchen, Hauptstücklichtungen eng. b Ratteniere 4,5 Tage nach Folsäureinjektion (Gruppe Ic): Vorwiegend weitgestellte Harnkanälchen, nur geringfügige Läsionen einzelner Tubulusepithelgruppen (im Bild links oben), einzelne Rundzellen im Interstitium. c 2 Tage nach Folsäureinjektion Zufuhr von Dichromat (Gruppe Ia); gleiches Bild wie nach alleiniger Folsäureinjektion, keine „Dichromatnekrosen“. Färbung jeweils HE, Vergr. 85:1

Tieren deutlich, doch auch hier wesentlich geringfügiger ausgeprägt als bei Ratten ohne vorausgehende FS-Behandlung. Bei weiteren 3 Tieren finden sich nur ganz vereinzelte Hauptstücke mit nekrotischen proximalen Anteilen, in Nieren von 4 Tieren sind diese Nekrosen nicht nachzuweisen.

*Gruppe II (4 Tage nach FS Dichromatinjektion).* Auch in dieser Gruppe überwiegen die Folsäurebefunde, die dem beschriebenen Bild 6,5 Tage nach FS-Injektion entsprechen. Daneben sind als Folge der Dichromatinjektion Nekrosen im proximalen Hauptstückanteil erkennbar, deren Ausmaß indessen wesentlich geringer ist als bei Tieren, denen vorher keine Folsäure verabreicht wurde. Insgesamt ist der Umfang der Nekrosen eindrucksmäßig etwas schwerer als in der Gruppe, in der Dichromat bereits 2 Tage nach FS-Injektion injiziert wurde. Bei 2 Ratten fanden wir keine „Dichromatnekrosen“.

*Gruppe III (9 Tage nach FS Dichromatinjektion).* Der Befund entspricht einerseits dem der Nieren 11,5 Tage nach FS-Injektion mit kleinen Gruppen zellreicherer basophilerer Tubulusabschnitte in allen Nephronsegmenten und noch

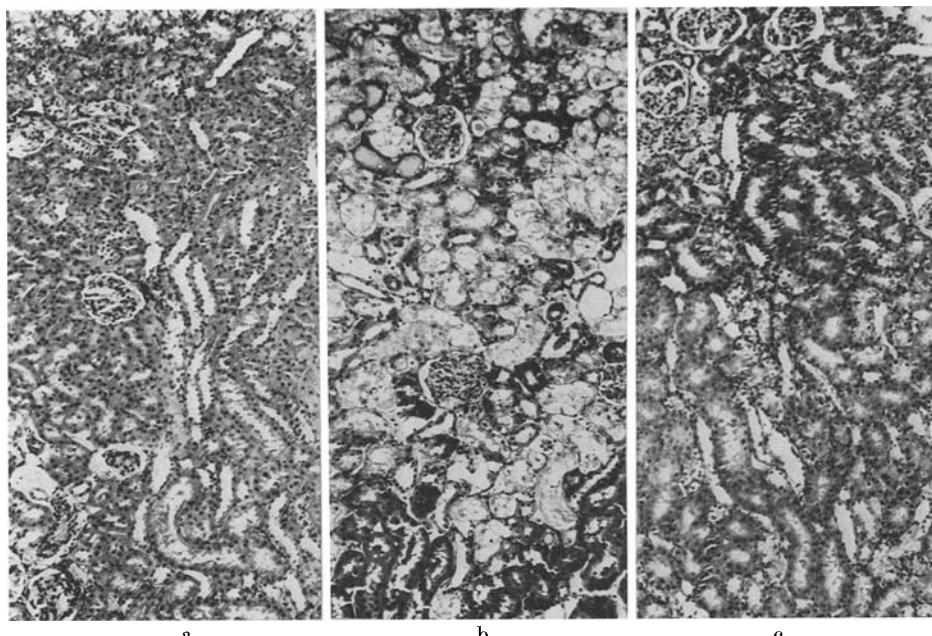


Abb. 7a—c. Vergleich des Nierengewebes 9 Tage nach alleiniger Folsäureinjektion sowie nach Dichromatinjektion ohne und mit vorausgehender Folsäurebehandlung. a Rattenniere 11,5 Tage nach Folsäureinjektion (Gruppe IIIc): Nahezu normales histologisches Bild, nur vereinzelte Harnkanälchenzylinder. b Rattenniere nach Dichromatinjektion (Gruppe IIIb): Typische „Dichromatnekrosen“ der proximalen Hauptstückanteile. c 9 Tage nach Folsäureinjektion Zufuhr von Dichromat (Gruppe IIIa): Nahezu gleiches Bild wie nach alleiniger Folsäureinjektion, keine Dichromatnekrosen. Färbung jeweils HE, Vergr. 110:1

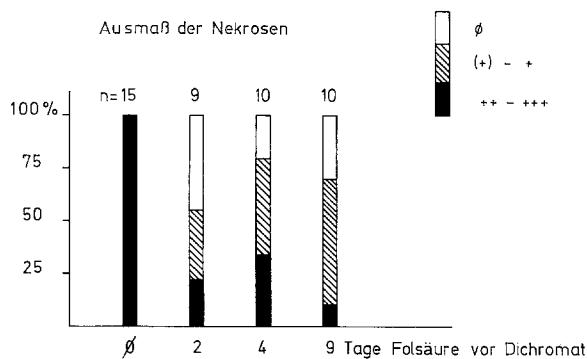


Abb. 8. Ausmaß der Nekrosen proximaler Hauptstückanteile in Rattennieren nach Dichromatinjektion und nach Dichromatinjektion im Anschluß an vorausgehende Folsäuregabe

vereinzelten weitgestellten Harnkanälchen. Zusätzlich finden sich die charakteristischen, durch Dichromat ausgelösten Nekrosen der proximalen Hauptstückanteile, die ebenfalls in wesentlich geringerem Ausmaß als bei nicht mit FS

vorbehandelten Tieren angetroffen werden. Bei 3 Tieren dieser Gruppe konnten wir Dichromatnekrosen nicht nachweisen (s. Abb. 7c).

Wie in Abb. 8 zusammenfassend dargestellt, entstehen also nach vorausgehender FS-Injektion wesentlich seltener „Dichromatnekrosen“ der Nieren als bei vorher unbehandelten Ratten.

### Diskussion

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß nach Dichromatinjektion in Rattenieren sehr viel geringere oder gar keine Tubulusepithelnekrosen auftreten, wenn den Tieren zuvor eine einmalige größere FS-Dosis verabreicht wurde. Damit können wir auch bei Anwendung eines Tubulotoxins ein Phänomen bestätigen, das in früheren Versuchen am Modell des Serotoninshocks beobachtet wurde, dem ebenfalls geringere oder keine Nierennekrosen folgten, wenn die Tiere vorher Folsäure (FS) erhalten hatten (Schubert, Otten und Sinner, 1971).

Auf der Suche nach einer Erklärung für diese verminderte Empfindlichkeit der Nieren gegenüber einem Nephrotoxin ergeben sich vor allem folgende Fragen: Ist die Resistenz der Tubulusepithelien durch die Folsäurebehandlung verändert worden? Können Änderungen der renalen Durchblutung und der glomerulären Filtration die Wirkung des Dichromat beeinträchtigen? Bietet die FS-induzierte Diurese einen gewissen Schutz vor stärkeren Läsionen? Wird durch die einmalige Gabe großer FS-Mengen die allgemeine Abwehrlage des Organismus verändert, z. B. die Aktivität des RES gesteigert?

Von den Beobachtungen der Arbeitsgruppe um Taylor ausgehend (Taylor u. Mitarb., 1966; Threlfall u. Mitarb., 1966, 1967) ist vor allem zu diskutieren, ob durch die vorausgehende FS-Injektion die Tubulusepithelien in einer Weise verändert wurden, die sie weniger empfindlich gegenüber einem Nephrotoxin werden ließen. Wie diese Autoren zeigen konnten, tritt nach FS-Gabe ein ungewöhnlich starker, offenbar für das Nierengewebe spezifischer Proliferationsschub mit erheblicher Zunahme der Mitoseaktivität sowie hochgradig vermehrter DNS- und RNS-Synthese auf. Der renale DNS-Gehalt nimmt nach der auch von uns verwendeten FS-Dosis in dieser Phase um 70%, der RNS-Gehalt um 100% zu, ohne daß lichtmikroskopisch nennenswerte Schädigungen des Nierengewebes durch die FS zu erkennen sein sollen, was Taylor u. Mitarb. (1966) veranlaßte, diesen Prozeß als chemisch induzierte Hypertrophie anzusehen. Wenn auch spätere Untersuchungen von Brade u. Mitarb., (Brade u. Mitarb., 1969; Brade und Propping, 1970), Schmidt u. Mitarb. (Schmidt und Torhorst, 1969; Schmidt, Dubach und Torhorst, 1970) und eigene lichtmikroskopische Verlaufsstudien (Schubert, Otten und Sinner, 1971) ergeben haben, daß durch derartig hochdosierte FS-Injektionen doch morphologisch faßbare Nierenläsionen auftreten, erscheint der darauf folgende Proliferationsschub zu umfangreich, um — gemessen am Ausmaß der strukturellen Schädigung — als einfacher Regenerationsvorgang angesehen zu werden, wie Vergleiche mit regenerierenden Nieren, z. B. nach Quecksilber- oder Dichromatschäden mit ausgedehnten Tubulusnekrosen, zeigen. Hier liegt ein überschießender proliferativer Prozeß vor (Altmann, 1966), dessen Ablauf besonders hinsichtlich des Eingriffes der FS in den Zellstoffwechsel indessen noch unklar ist.

Ungeachtet dieser offenen Fragen haben die Untersuchungen der oben genannten Autoren gezeigt, daß nach FS-Injektion eine Umstellung vom Funktions- auf den Proliferationsstoffwechsel eingetreten ist (Brade u. Mitarb., 1969; Schmidt u. Mitarb., 1970), die Nieren jetzt eine Generation wenige Stunden bis Tage alter Tubulusepithelien enthalten und eine Zellart auftritt, die sich zum Teil durch geringe Zahl der Zellorganellen auszeichnet (Brade u. Mitarb., 1969), wie allgemein bei frisch regenerierenden Zellen beobachtet wird, die in gewissem Sinne als relativ undifferenziert angesehen werden können (Cuppage und Tate, 1968; Cuppage, Cunningham und Tate, 1969). Diese neugebildeten Epithelien sind offenbar gegen Toxine und Ischämie resistenter (Reber, 1953; Staemmler, 1957; Gloor, 1969) als eine voll ausgereifte, im Funktionsstoffwechsel stehende Zellpopulation. Weitere Anhaltspunkte für die Annahme einer geringeren Vulnerabilität im Proliferationsstoffwechsel stehenden Nierenparenchym gegenüber ischämischen Einwirkungen ergab die Beobachtung, daß innerhalb von 12 Tagen nach unilateraler Ureterenligatur durch einen Serotoninshock sehr viel weniger Nekrosen in dem hydronephrotischen Organ als in der kontralateralen Niere erzeugt werden (Schubert u. Mitarb., 1969). Auch nach einseitiger Unterbindung des Ureters ist in der gleichseitigen Niere ein starker Proliferationsschub mit Steigerung der DNS-Syntheserate, Zunahme der Mitoserate und Zellzahl zu beobachten (Herlant, 1948; Fautrez und Roels, 1954; Gross und Rankin, 1960; Benitez und Shaka, 1964), der eine auffällige Ähnlichkeit mit der FS-induzierten Proliferation des Nierengewebes besitzt und sich von der einfachen Hyperplasie z.B. nach unilateraler Nephrektomie unterscheidet (Threlfall u. Mitarb., 1966, 1967). Wenn auch diese Parallele noch keinen Beweis dafür liefert, daß Änderungen des Zellmetabolismus die entscheidende Ursache der erhöhten Resistenz des Nierengewebes sind, bestärkt sie uns doch in der Vermutung, daß ein differenter Stoffwechsel unterschiedlich alter (Rotter, Lapp und Zimmermann, 1964) und verschieden aktiver (Thoenes, 1964) Zellen dabei eine wesentliche Rolle spielt. In diesem Zusammenhang sollte jedoch berücksichtigt werden, daß nach Injektion hoher FS-Dosen eine Reduktion der Nierendurchblutung und der glomerulären Filtration eintritt.

So fanden Brade u. Mitarb. (1969) bei Ratten 4 Tage nach einmaliger Gabe von 500 mg FS/kg Tiergewicht einen Abfall der PAH-Clearance von normal 24,9 auf 12,9 ml/kg·min. Ebenso war die glomeruläre Filtrationsrate am 4. Tag von 7,2 auf 2,5 ml/kg·min abgesunken und betrug auch nach 10 Tagen nur 56% der Norm.

Damit könnte auch ein verminderter Antransport des Dichromat Ursache der geringeren Schäden in den Nieren FS-behandelter Ratten sein, wobei jedoch zu fragen ist, ob die pro Zeiteinheit angebotene Toxinmenge oder die Absolutmenge das Ausmaß der Schädigung stärker bestimmen. Wenn wir von der Voraussetzung ausgehen, daß Dichromat in der Tubuluszelle angereichert wird, müßte auch bei verminderter GFR bald die gleiche toxische Konzentration erreicht werden wie bei normaler GFR.

Die Toxinaufnahme der Zelle kann indes auch infolge reduzierter trans-tubulärer Transportvorgänge verringert sein, wie Reber (1953) an Rattennieren gezeigt hat, in denen durch vorausgehende Eiweiß- und Rohrzuckerspeicherung die Rückresorption anschließend verabreichten Sublimats verhindert und die Niere damit vor der toxischen Wirkung des Sublimats weitgehend geschützt

wurde. In ähnlicher Weise deutete Staemmler (1957) die vorübergehende Resistenz der Nieren gegen die Zweitinjektion des gleichen [z.B. Viomycin-Viomycin oder Sublimat-Sublimat (Sarre, 1955)] oder eines anderen (z.B. Viomycin-Sublimat) Nephrotoxins in begrenzten Zeitabständen als Folge einer verminderten Rückresorptionskapazität der regenerierenden Tubuluszellen, während sich Hayes u. Mitarb. (1970) hinsichtlich des gleichen Phänomens beim glycerininduzierten akuten Nierenversagen der Ratte zurückhaltender äußern und andere Faktoren nicht ausschließen, da das Ausmaß der Hämoglobinspeicherung in den Tubulusepithelien nach der zweiten glycerinbedingten Hämolyse nicht verringert erschien. Dagegen führte Selye (1940) den Schutzeffekt einer vorausgehenden Testosteronbehandlung gegenüber  $HgCl_2$ -Intoxikation auf die renotrope Wirkung anaboler Steroide zurück. In neueren Untersuchungen beobachteten Selye u. Mitarb. (1970) darüber hinaus einen gleichartigen, indes wesentlich wirksameren Effekt nach Behandlung mit thioacetylhaltigen Steroiden (z.B. Spironolactone, Spiroxason oder Emdabol), ohne dafür eine befriedigende Erklärung geben zu können. Angaben über die Harnausscheidung fehlen in dieser Veröffentlichung.

In unseren Versuchen scheint die FS-bedingte Polyurie als solche für die erhöhte Resistenz der Nieren gegen Dichromatschäden nicht verantwortlich zu sein. Hier traten auch bei den Tieren wesentlich weniger Nekrosen auf, denen das Dichromat 9 Tage nach der FS, d.h. nach vollständigem Abklingen der Polyurie, injiziert wurde.

In Bestätigung vorausgehender Beobachtungen (Schubert, Otten und Sinner, 1971) konnten wir im Gegensatz zu Brade u. Mitarb. (1969, 1970) sowie Schmidt u. Mitarb. (1969, 1970) auch in dieser Versuchsserie keine Oligoanurie nach der FS-Injektion beobachten, wenn diese abends um 20.00 Uhr vorgenommen wurde. Der Zufuhr gleicher FS-Mengen morgens um 8.00 Uhr folgte dagegen eine zweistündige Anurie. Auch unbehandelte Ratten schieden jedoch um diese Tageszeit keinen Urin aus. Offenbar wurde bei unseren abends begonnenen Versuchen diese „oligoanurische Phase“ durch den physiologischen Nachtgipfel der Harnausscheidung bei Ratten überlagert, was erneut die Notwendigkeit bestätigt, circadiane Rhythmen bei der Interpretation nephrologischer Versuchsergebnisse zu berücksichtigen (Übersicht bei Mertz, 1964; Gerritzen, 1967).

Nicht vollständig übergangen werden darf schließlich die Frage nach einer Veränderung der allgemeinen Abwehrlage durch die vorausgehende FS-Injektion, seitdem Altura und Hershey (1968) darauf hingewiesen haben, daß infolge der Zufuhr verschiedenster exogener Stoffe die phagocytierende Funktion des RES vorübergehend gesteigert werden kann und die erneute Injektion einer gleichen oder anderen Substanz in normalerweise tödlicher Dosierung jetzt ohne weiteres vertragen wird. Ob eine derartige Aktivierung des RES auch bei unserer Versuchsanordnung eine Rolle spielt, muß jedoch in eingehenderen Untersuchungen geprüft werden.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse können wir noch nicht endgültig entscheiden, welche der diskutierten Faktoren für die Resistenz erhöhung der Nieren nach FS-Behandlung ausschlaggebend sind. Die größte Bedeutung scheint jedoch der FS-induzierten Umstellung vom Funktions- auf den Proliferationsstoffwechsel in den Nieren und einem verminderten Antransport des Nephrotoxins zuzukommen.

men. Unabhängig von diesen offenen Fragen haben die vorliegenden Versuche vor allem gezeigt, daß Nieren in der Erholungsphase einer leichten — folsäurebedingten — Insuffizienz gegen eine erneute Schädigung vorübergehend resistent sein können, was vereinzelte klinische Beobachtungen bestätigt (Schreiner und Maher, 1970), denen zufolge das erneute Auftreten eines akuten Nierenversagens in der Rekonvaleszenz einer renalen Insuffizienz selten sei.

### Literatur

- Altmann, H. W.: Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen. Verh. dtsch. Ges. Path. **50**, 15—53 (1966).
- Altura, M., Hershey, S. G.: RES phagocytic function in trauma and adaptation to experimental shock. Amer. J. Physiol. **215**, 1414—1419 (1968).
- Baines, A. D.: Cell renewal following dichromate induced renal tubular necrosis. An enzyme histochemical study. Amer. J. Path. **47**, 851—876 (1965).
- Baserga, R., Thatcher, D., Marzi, D.: Cell proliferation in mouse kidney after a single injection of folic acid. Lab. Invest. **19**, 92—96 (1968).
- Benitez, L., Shaka, J. A.: Cell proliferation in experimental hydronephrosis and compensatory hyperplasia. Amer. J. Path. **44**, 961—972 (1946).
- Biber, Th. U. L., Mynne, M., Baines, A. D., Gottschalk, C. W., Oliver, J. R., MacDowell, M. C.: A study by micropuncture and microdissection of acute renal damage in rats. Amer. J. Med. **44**, 664—705 (1968).
- Brade, W., Herken, H., Merker, H. J.: Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. **262**, 228—250 (1969).
- Propping, P.: Akutes Nierenversagen nach Pteridinapplikation. Klin. Wschr. **48**, 1209—1216 (1970).
- Cuppage, F. E., Cunningham, N., Tate, A.: Nucleic acid synthesis in the regenerating nephron following injury with mercuric chloride. Lab. Invest. **21**, 449—457 (1969).
- Tate, A.: Repair of the nephron in acute renal failure. Comparative regeneration following various forms of acute tubular injury. Path. et Microbiol. (Basel) **32**, 327—344 (1968).
- Fautrez, F., Roels, H.: Mitose et synthèse d'acide désoxyribonucléique. Le cas des mitoses provoquées dans le tube contourné du rein par l'hydronephrose unilatérale. Arch. Biol. (Liège), **65**, 459—496 (1954).
- Gerritsen, F.: Constancy and rhythm. In: The cellular aspects of biosynthesis, ed. by H. v. Mayersbach, p. 181—183. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Gloor, F.: Morphological aspects of the acute toxic nephropathies. In: Progress in nephrology. Proceedings of the Vth Symposium of the "Gesellschaft of Nephrology" held in Lausanne (Switzerland) 21—23 Sept. 1967. Ed. by G. Peters, F. Roch-Ramel, p. 173—192. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Gross, R. J., Rankin, M.: Physiological factors affecting compensatory renal hyperplasia in the rat. J. exp. Zool. **145**, 209—216 (1960).
- Hayes, J. M., Boonshaft, B., Maher, J. F., O'Connell, J. M. B., Schreiner, G. E.: Resistance to glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure. Nephron **7**, 155—164 (1970).
- Herlant, M.: Activité mitotique des cellules rénales au cours de l'hydronephrose unilatérale. Bull. Acad. roy. Méd. Belg. **13**, 315—330 (1948).
- Mertz, D. P.: Tagesrhythmische Schwankungen der Nierenfunktion und einiger endokriner Funktionskreise. Dtsch. med. Wschr. **89**, 2327—2334 (1964).
- Reber, K.: Blockierung der Speicherfunktion der Niere als Schutz bei Sublimatvergiftung. Schweiz. Zschr. Path. **16**, 755—771 (1953).
- Rotter, W., Lapp, H., Zimmermann, H.: Pathogenese und morphologisches Substrat des „akuten Nierenversagens“ und seine Erholungszeit. Dtsch. med. Wschr. **87**, 669—677 (1962).
- Sarre, H.: Klinik der Nierenkrankheiten, 3. Freiburger Symposium. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

- Schmidt, U., Dubach, U. C., Torhorst, J.: Behaviour of sodium potassium-activated adenosine triphosphatase in rat kidney tissue by folic acid. *Experientia (Basel)* **25**, 1288—1290 (1969).
- Torhorst, J., Dubach, U. C.: The behaviour of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase and enzymes of glycolysis (HK, LDH), of the tricarbonic acid cycle (ICDH, MDH) and of the hexose monophosphate shunt (G-6-PDH) during temporary renal insufficiency induced by folic acid. In: Gessler und Weidinger, *Pathogenese und Klinik des akuten Nierenversagens*, pp. 159—165. Stuttgart: Thieme 1971.
- Schreiner, G. E., Maher, J. F.: Zit. nach J. M. Hayes, B. Boonshaft, J. F. Maher, J. M. B. O'Connell and G. E. Schreiner, Resistance to glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure. *Nephron* **7**, 155—164 (1970).
- Schubert, G. E., Gebhard, K., Hönlein, F.: Nierenschädigung nach Serotonin- und Kalium-dichromatinjektion bei chronischer Natriumbelastung oder -restriktion. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **351**, 68—82 (1970).
- Müller, J. A., Schöll, A., Linden, U.: Seitenverschiedene Nierenschäden nach Serotonin-injektion bei einseitiger Hydronephrose. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **347**, 69—79 (1969).
- Otten, G., Sinner, E.: Resistenz des Nierengewebes gegen Serotonin-induzierte Läsionen nach vorausgehender Folsäurebehandlung. *Beitr. Path.* **143** (im Druck 1971).
- Selye, H.: On the protective action of testosterone against the kidney damaging effect of sublimate. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **68**, 454 (1940).
- Mécs, I., Szabó, S.: Protection by steroids against acute  $\text{HgCl}_2$  poisoning. *International Urology and Nephrology* **2**, 287—301 (1970).
- Sinner, E.: Inauguraldissertation, Tübingen 1972.
- Staemmler, M.: Die akuten Nephrosen. IV. Tubuläre Schädigung und Wiederherstellung. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 139—155 (1957).
- Taylor, D. M., Threlfall, G., Buck, A. T.: Stimulation of renal growth in the rat by folic acid. *Nature (Lond.)* **212**, 472—474 (1966).
- Thoenes, W.: *Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie*. Stuttgart: Georg Thieme 1964.
- Threlfall, G., Taylor, D. M., Buck, A. T.: The effect of folic acid on growth and deoxyribonucleic acid synthesis in the rat kidney. *Lab. Invest.* **15**, 1477—1485 (1966).
- — — Studies of the changes in growth and DNA synthesis in the rat kidney during experimentally induced renal hypertrophy. *Amer. J. Path.* **50**, 1—14 (1967).

Priv.-Doz. Dr. G. E. Schubert  
Pathologisches Institut der Universität  
BRD-7400 Tübingen  
Liebermeisterstraße 8  
Deutschland