

Macula densa und granulierte Zellen des juxtaglomerulären Apparates bei experimentellem Drosselungshochdruck

Morphometrische Untersuchungen*

U. SCHNEIDER und W. THOENES

Institut für Cytobiologie und Cytopathologie der Philipps-Universität Marburg a.d. Lahn
(Direktor: Prof. Dr. W. Thoenes)

Eingegangen am 8. April 1971

The Macula Densa and Granulated Cells of the Juxta-Glomerular Apparatus after Experimental Hypertension

Summary. Clamping of the left renal artery (duration of clamping 8 to 187 days) in 39 Sprague-Dawley rats of both sexes caused renal hypertension with maximum values ranging from 145 to 215 mm Hg. Paraffin sections of the kidneys of the experimental animals and 21 controls were stained with Pearse's technique; semithin sections stained with silver-methenamine were also made.

In 31 experimental animals and in all controls the "juxtaglomerular granulation index" (JGI) described by Hartroft and Hartroft (1953) was determined. The values obtained from the clamped kidneys were significantly higher than the control values, those of the unclamped kidneys were about zero.

The following "macula values" were determined morphometrically in 16 experimental animals and 10 controls: macula count = number of macula-densa sections per 100 glomeruli; macula cell count = number of macula-densa cells per 100 glomeruli; macula index = number of cells per macula section. It was shown that the macula values of the clamped kidneys (except the macula index) were very significantly higher than those of the controls. The increase in these values indicates both an enlargement of the macula and an increase in their entire cell population. It is therefore possible to talk of "hyperplasia of the macula densa", which runs strikingly parallel to the increase in the granulation values of the clamped kidneys. Corresponding to the present concepts of the functions in the juxtaglomerular apparatus the morphological findings presented indicate, that in clamped kidneys both main components of the apparatus—granulated cells and macula densa-experience an increase in their functions.

Zusammenfassung. Durch Klammerung der linken Nierenarterie (Klammerungsdauer 8—187 Tage) wurde an 39 Sprague-Dawley-Ratten beiderlei Geschlechts ein renaler Hochdruck mit Maximalwerten zwischen 145 und 215 mm Hg erzeugt. Von den Nieren der Versuchstiere und der 21 Kontrollen wurden nach Pearse gefärbte Paraffinschnitte und z.T. mit Silbermethenamin gefärbte sog. Semidünnsschnitte angefertigt.

An 31 Versuchstieren und allen Kontrollen wurde der „Juxtaglomeruläre Granulationsindex“ (JGI) nach Hartroft und Hartroft (1953) bestimmt. Die Werte der geklammerten Nieren lagen signifikant über den Kontrollwerten, die der ungeklaarmerten Nieren um Null.

An 16 Versuchstieren und 10 Kontrollen wurden außerdem morphometrisch folgende „Maculawerte“ ermittelt: Maculazahl = Zahl der Macula densa-Anschnitte pro 100 Glomeruli; Maculazellzahl = Zahl der Macula densa-Zellen pro 100 Glomeruli; Maculaindex = Zahl der Zellen pro Maculaanschnitt. Es zeigte sich, daß die Maculawerte der geklammerten Nieren (mit Ausnahme des Maculaindex) mit hoher Signifikanz über denen der Kontrollen lagen.

* Der Arbeit liegen wesentliche Teile einer Dissertation (U. Schneider, Marburg, 1970) zugrunde.

Aus der Erhöhung dieser Werte darf sowohl auf eine Vergrößerung der Maculaausdehnung als auch auf eine Zunahme der gesamten Maculazellpopulation geschlossen werden. Man kann daher von einer „Hyperplasie der Macula densa“ sprechen, die in auffälliger Parallele zu der Erhöhung der Granulationswerte der Klammernieren steht.

Entsprechend den heutigen Vorstellungen über den Funktionsablauf im juxtaglomerulären Apparat sprechen die vorgelegten morphometrischen Befunde dafür, daß in geklammerten Nieren beide Hauptkomponenten des Apparates — granulierte Zellen und Macula densa — eine Funktionssteigerung erfahren.

Seit die von Goldblatt et al. (1934) am Hund entwickelte Methode eines sog. Drosselungshochdrucks durch Wilson und Byrom (1939, 1941) auf die Ratte als einem kleinen Versuchstier übertragen und damit einer breiteren Anwendung zugänglich gemacht worden ist, sind mit diesem Modellversuch zahlreiche Fragestellungen der Hochdruckpathogenese bearbeitet worden. Während frühere pathologisch-anatomische Untersuchungen vorwiegend dem Problem der Beziehung zwischen Hochdruck und hochdruckbedingten Gefäßveränderungen — besonders der Niere — gewidmet waren, gilt heute die Aufmerksamkeit vor allem den Veränderungen des juxtaglomerulären Apparates und dessen Beziehung zum Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.

Von den drei Hauptkomponenten des juxtaglomerulären Apparates — granulierte (epitheloide) Zellen, ungranulierte (Goormaghtighsche) Zellen, Macula densa — sind beim Drosselungshochdruck Veränderungen der granulierten Zellen am längsten bekannt (Gross, 1968). Zur semiquantitativen Erfassung von Zahl und Granulationsgrad dieser Zellpopulation und deren Abwandlung unter pathologischen Bedingungen wird heute ganz überwiegend der von Hartroft und Hartroft (1953) angegebene „juxtaglomeruläre Granulationsindex“ (JGI) herangezogen. Je nach dem Ergebnis einer solchen morphometrischen Bestimmung wird bei Abweichung gegenüber der Norm von einer „Hyperplasie“ oder „Hypoplasie“ der granulierten juxtaglomerulären Zellen (grZ.) bzw. von einer Hyper- oder Hypoplasie des juxtaglomerulären *Apparates* gesprochen. Die Berechtigung zu der letzteren — globalen — Ausdrucksweise wäre allerdings nur dann gegeben, wenn außer den grZ. auch die übrigen Komponenten des juxtaglomerulären Apparates eine entsprechende Veränderung erfahren.

Anknüpfend an die Befunde von Thurau u. Mitarb. (1965, 1968) steht dabei die Macula densa im Mittelpunkt des Interesses. Im morphologischen Schrifttum liegen auch bereits quantitative Daten über das Verhalten der Macula densa bei unterschiedlichen Granulationszuständen unter normalen (Faarup, 1965) und pathologischen (Hubmann, 1959; Reeves, Löwenstein u. Sommers, 1963; Bohle, 1968; Helber, Meyer, Schürholz u. Bohle, 1970) Bedingungen vor. Es lag daher nahe, beim experimentellen Drosselungshochdruck, der bekanntlich mit besonders starken Veränderungen des JGI einhergeht, granulierte Zellen und Macula densa vergleichend morphometrisch zu untersuchen. Dabei konnte, wie bereits kurz mitgeteilt (Schneider, Thoenes u. Wernze, 1970; Schneider u. Thoenes, 1970), in der gedrosselten Niere, parallel zu dem Anstieg des JGI, eine signifikante Zunahme der morphometrischen Maculawerte nachgewiesen werden. Im folgenden sollen die Befunde detailliert dargestellt, durch weitere ergänzt und im größeren Zusammenhang diskutiert werden.

Untersuchungsgut und Methodik

1. Versuchstiere

Untersucht wurden die Nieren von 39 Albinoratten (Sprague-Dawley) beiderlei Geschlechts (Ausgangsgewicht 125—200 g), bei denen ein Drosselungshochdruck durch Klammerung einer Nierenarterie erzeugt worden war [Nembutalnarkose (6 mg/100 g Körpergewicht intraperitoneal), dorsaler Medianschnitt, Darstellung der linken Nierenarterie, Anlegen einer Silberklammer nach Pickering und Prinzmetal (1938) von 0,27—0,3 mm Innen durchmesser]. Unblutige Blutdruckmessung in 7tägigen Abständen an der Schwanzarterie (Byrom und Wilson, 1938). Klammerungsdauer (vom Beginn des Anlegens der Klammer bis zur Tötung) 8—187 Tage. Maximale Blutdruckwerte im Versuchsverlauf 145—215 mm Hg. Anstelle einer tabellarischen Übersicht ist die Verteilung der Klammerungsdauer und der maximalen Blutdruckwerte in einem Diagramm (Abb. 1) dargestellt¹.

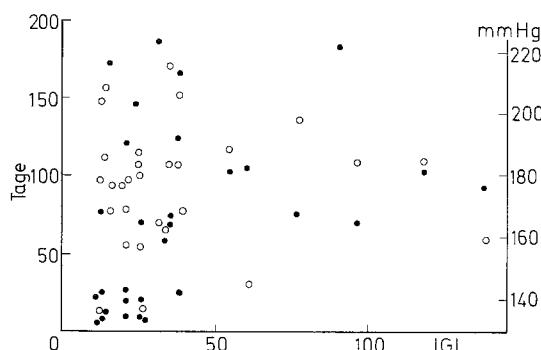


Abb. 1. Klammerungsdauer in Tagen (Punkte) und Höhe des maximalen Blutdrucks in mm Hg (Kreise) in Relation zum juxtaglomerulären Index (JGI) von 31 geklammerten Nieren. (Für die Überlassung dieser Werte danken wir Herrn Priv.-Doz. Dr. Wernze, Medizinische Universitätsklinik Würzburg)

Als Kontrolltiere dienten 21 männliche und weibliche Ratten des gleichen Stammes mit Gewichten von 120—215 g. Von einer Bestimmung des Blutdruckes wurde hier abgesehen, da die Werte der ungeklammerten Tiere erfahrungsgemäß nie die Grenze von 135 mm Hg (an der Schwanzarterie gemessen) überschreiten.

Versuchs- und Kontrolltiere erhielten Altromin R und Leitungswasser ad libitum.

2. Histologische Technik

Fixation der lebensfrisch entnommenen Nieren in 10%igem Formalin. Paraffineinbettung. 4—6 μ dicke Paraffinschnitte. Färbungen: Hämatoxylin-Eosin, Goldner-Trichrom, van Gieson, Pearse. Ein Teil des Gewebes wurde in 1%iger gepufferter Osmiumtetroxydösung fixiert und in Epon eingebettet zur Herstellung sog. Semidünnsschnitte. Färbung mit Silbermethenamin.

3. Ermittlung der Granulationswerte

Im Blindverfahren wurden bei 400facher Vergrößerung je 150—180 Glomerula an 1—3 nach Pearse gefärbten Schnitten einer Niere durchgemustert. Kriterien für die Identifizierung der grZ. waren die Lage im Bereich des Vas afferens und die Granulation.

1 Die untersuchten Tiere entstammen einer Versuchsserie von Herrn Priv.-Doz. Dr. Wernze (Medizinische Universitätsklinik Würzburg), dem wir für die Überlassung der Nieren sowie der Werte für Klammerungsdauer und Blutdruckhöhe herzlich danken.

Die quantitative Bewertung erfolgte durch Ermittlung des juxtaglomerulären Granulationsindex (JGI) nach der Methode von Hartroft und Hartroft (1953). Vom methodischen Vorgehen sei zum besseren Verständnis einiger unten dargestellter Befunde folgendes hervorgehoben: Die im Schnitt getroffenen Gruppen granulierter Zellen werden je nach Granulationsgrad und Anzahl der Zellen den Klassen 0, I (Faktor 1), II (Faktor 2), III (Faktor 4), IV (Faktor 8) zugeteilt. Die Zahl der jeweils registrierten Klassen wird auf 100 Glomerula bezogen und mit den angegebenen Faktoren multipliziert. Die Summe dieser vier „Klassenzwerte“ ergibt den JGI im Sinne von Hartroft und Hartroft (1953). (Die Faktoren dienen zur Bewertung der Granulationsintensität und sind wesentlich kleiner gewählt, als es den tatsächlichen Verhältnissen nach erforderlich sein dürfte. Deshalb ist der JGI als ein Mindestmaß, nicht als Direktmaß der Granulation aufzufassen.)

Bei unseren Untersuchungen zeigte sich, daß auch die oben erwähnte Zahl der registrierten Klassen bereits eine quantitative Aussagekraft besitzt (s. Abb. 2).

Wegen z. T. vollständiger tubulärer Atrophie und Infarziering der geklammerten Nieren wurden 8 der 39 Versuchstiere nicht zur Bestimmung des JGI herangezogen. Bei den Kontrolltieren erfolgte eine beidseitige Auswertung.

4. Ermittlung der Macula-Werte

Bei der Untersuchung der Macula densa (als Kriterien galten die typische Lage zwischen Vas afferens und Vas efferens, das schwach tingierte Cytoplasma und das dichte Zusammenstehen der Zellkerne) fanden wir, daß einige geklammerte Nieren mit besonders hoher Granulation auffallend häufig Macula densa-Anschnitte zeigten. Diese erschienen außerdem zellreicher als bei den Kontrollen. Wir versuchten deshalb, diesen Eindruck zu objektivieren. An jeder Niere wurden (bei 250facher Vergrößerung) bestimmt:

a) Zahl der Macula densa-Anschnitte pro 100 Glomerula (vgl. Otto u. Gemaehlich, 1956) = „*Maculazahl*“.

b) Zahl der an den Macula densa-Anschnitten (gemäß a) bestimmten Maculazellen pro 100 Glomerula = „*Maculazellzahl*“

c) $\frac{\text{Maculazellzahl}}{\text{Maculazahl}} = \text{„} \text{Maculaindex} \text{“}$ (d.i. der rechnerisch ermittelte Wert für die Zellzahl pro Macula-Anschnitt).

Es wurden nur Zellen mit eindeutig getroffenem Zellkern gezählt (Macula densa-Zellen sind immer einkernig), es sei denn, daß ein Zellterritorium auch ohne Kernanschnitt von den Nachbarzellen abgegrenzt werden konnte. Ergaben sich wegen höherer Schnittdicke in mehreren optischen Ebenen vollständige Epithelreihen, wurde eine einzige gezählt.

Es zeigte sich, daß die (im Vergleich zu den granulierten und nichtgranulierten Zellen weniger eindeutigen) morphologischen Unterschiede der Macula densa gegenüber benachbarten distalen Tubuluszellen (schwächer gefärbtes Cytoplasma, dichter zusammenstehende Zellkerne) bereits bei geringgradiger tubulärer Atrophie oder aus anderen Gründen der Geweberhaltung nicht oder nicht eindeutig zum Ausdruck kamen. Bei 15 der 31 nach Hartroft und Hartroft ausgewerteten Drosselnieren wurde deshalb nach kritischer Auswahl auf eine Bestimmung der Maculawerte verzichtet.

5.

Die statistische Signifikanzberechnung erfolgte nach dem Student-Test.

Ergebnisse

1. Granulierte juxtaglomeruläre Zellen

a) *Kontrollen*. Es fanden sich alle Klassen zwischen 0 und IV (s. Abb. 2). Die JGI der Einzeltiere, jeweils berechnet aus dem Mittel der JGI der rechten und linken Niere, lagen zwischen 6,5 und 33,2. Der Mittelwert der JGI aller Tiere betrug $20,4 \pm 7,2$ (= 1 s) (s. Tabelle). Zwischen den JGI der rechten und linken Nieren bestand eine enge Korrelation ($r = 0,64$; $p < 0,01$); ein statistisch sicherer Seitenunterschied konnte daher ausgeschlossen werden.

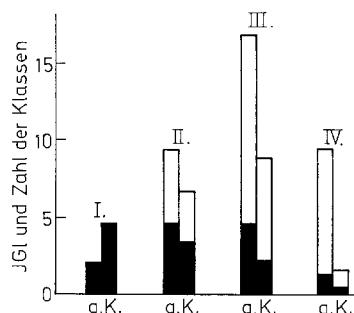


Abb. 2. Mittlere JGI der einzelnen Klassen (gesamte Länge der Säulen) und mittlere Häufigkeit der Klassen I—IV (kompakter Teil der Säulen) bei geklammerten Nieren (g.) und Kontrollen (K.).

Tabelle 1. Mittelwerte \bar{x} , Standardabweichungen s und Signifikanz p der numerischen und logarithmischen Einzelwerte der juxtaglomerulären Indices bei Kontrollen und geklammerten Nieren. Die Standardabweichung s der numerischen Werte der geklammerten Nieren wurde nicht berechnet, da (im Gegensatz zu den logarithmisch transformierten Werten) keine Normalverteilung vorlag

	n	$\bar{x} \pm 1s$ der numerischen Werte	$\bar{x} \pm 1s$ der logarithmischen Werte	p
Kontrollnieren	21	$20,4 \pm 7,2$	$1,326 \pm 0,172$	
Geklammerte Nieren	31	38,9	$1,486 \pm 0,286$	< 0,01

b) *Geklammerte Nieren.* Der mittlere JGI liegt mit 38,9 (s. Tabelle 1) deutlich höher als bei den Kontrollen (20,4) (s. Tabelle 1). Im einzelnen ergibt sich allerdings, daß 20 Werte noch in den Standardbereich ($2s$) der Kontrollen fallen, während in den restlichen Fällen die Werte breit streuen und den oberen Standardbereich der Kontrollen bis um das 4fache übertreffen (zur Frage der statistischen Signifikanz s. Diskussion).

c) *Ungekammerte Nieren.* Die grZ. waren im Vergleich zu den Kontrollen, erst recht aber im Vergleich zu den geklammerten Nieren hochgradig reduziert: Bei 21 Nieren war überhaupt keine Granulation festzustellen ($JGI = 0$), die übrigen 10 wiesen einen JGI bis maximal 3,5 auf. Der Mittelwert des JGI für alle ungekammerten Nieren betrug 0,57.

d) *Vergleich der JGI von Kontrollen, geklammerten und ungekammerten Nieren.* JGI und Häufigkeit der einzelnen Klassen sind in Abb. 2 dargestellt. Man sieht, daß der mittlere JGI bei geklammerten Nieren und Kontrollen in Klasse III den Höchstwert erreicht. Die mittlere Häufigkeit der Klassen (d.i. das Vorkommen der Klassen I—IV pro 100 Glomerula) fällt jedoch bei den Kontrollen von Klasse I nach IV kontinuierlich ab, während bei den geklammerten Nieren die Klassen II und III am häufigsten vorkommen.

e) *Statistische Auswertung.* Bei den geklammerten Nieren lagen die numerischen Werte der JGI zu mehr als $2/3$ unter dem Mittelwert; dem entspricht eine Links-

Tabelle 2. Einzelwerte für juxtaglomeruläre Indices (JGI), Maculazahl, Maculazellzahl und Maculaindex der Kontrollen und der geklammerten Nieren mit Mittelwerten \bar{x} und Standardabweichung s sowie Korrelationskoeffizient r und Signifikanz p zwischen linker und rechter Niere der Kontrollen

Lfd. Nr.	JGI	Maculazahl		Maculazellzahl		Maculaindex	
		linke Niere	rechte Niere	linke Niere	rechte Niere	linke Niere	rechte Niere
<i>Kontrollen^a</i>							
1	22,8	13,3	12,7	54,8	45,2	4,11	3,56
2	33,2	11,6	10,8	40,6	39,4	3,50	3,65
3	27,7	13,7	12,1	45,5	47,5	3,32	3,92
4	11,0	14,0	14,8	55,0	53,0	3,92	3,58
5	13,3	7,6	7,0	27,0	25,8	3,56	3,68
6	21,0	—	18,8	—	81,0	—	4,30
7	11,0	17,7	—	71,0	—	4,00	—
8	22,1	13,9	—	62,5	—	4,50	—
9	22,1	13,5	14,5	54,5	59,5	4,04	4,10
10	18,1	13,2	14,6	61,7	62,7	4,66	4,30
r^b	0,74		0,92		0,93		0,81
p	<0,05		<0,01		<0,01		<0,01
\bar{x}	20,4		13,8		55,2		3,97
s^c	7,2		3,2		15,9		0,35
<i>Geklammerte Nieren</i>							
1	31,9	16,5		58,3		3,50	
2	15,6	16,9		84,0		4,96	
3	88,2	23,5		126,0		5,35	
4	35,1	12,0		44,0		3,66	
5	25,3	15,7		67,0		4,25	
6	20,1	17,1		80,5		4,70	
7	25,2	14,6		62,2		4,25	
8	20,8	16,1		60,0		3,72	
9	14,4	15,8		72,0		4,56	
10	20,3	15,2		46,5		3,06	
11	36,7	15,4		68,2		4,42	
12	116,8	19,8		104,0		5,25	
13	139,8	26,8		114,0		4,25	
14	59,2	14,0		60,8		4,34	
15	78,2	16,4		75,0		4,56	
16	96,1	23,2		97,0		4,19	
\bar{x}	51,5	17,4		76,2		4,31	
s^c	—	3,9		23,5		0,61	

^a Die JGI der Kontrollen wurden aus dem Mittel von linker und rechter Niere berechnet.

^b Der Korrelationskoeffizient der JGI aller 21 Kontrolltiere betrug $r = 0,64$ ($p < 0,01$).

^c Die Standardabweichung der JGI der geklammerten Tiere wurde nicht berechnet, s. Legende zu Tabelle 1.

asymmetrie der Verteilung. Durch logarithmische Transformation der numerischen Einzelwerte wurde eine Normalverteilung erhalten und daraus die Signifikanz p gegenüber den Kontrolltieren nach dem Student-Test berechnet. Sie ist mit $p < 0,01$ hochsignifikant (s. Tabelle 1).

Ein statistischer Vergleich mit den ungeklemmten Nieren erübrigte sich, da der Unterschied so groß war, daß alle Werte der JGI unter dem kleinsten Wert sowohl der geklemmten Nieren als auch der Kontrollen lagen.

2. Macula densa

a) *Kontrolltiere*. Die Zahlenwerte der Kontrolltiere sind aus Tabelle 2 zu entnehmen. Es sei hervorgehoben, daß bei 7 von insgesamt 10 Kontrollen beide Nieren vergleichend ausgewertet wurden (unter Beibehaltung der Quote von 150—180 Glomerula pro Niere). Dabei zeigte sich, wie zu erwarten, eine enge Korrelation (s. Tabelle 2).

b) *Geklemmte Nieren*. Das Aussehen der Macula densa-Zellen der ausgewählten Schnitte zeigte keine Unterschiede zu den Kontrollen. Wir sahen jedoch Zellen vom Macula-Typ auch außerhalb der eigentlichen Kontaktstelle mit dem Vas afferens bzw. efferens. Manchmal nahmen diese den gesamten Tubulusquerschnitt ein.

Tabelle 2 läßt erkennen, daß in den geklemmten Nieren die Maculazahl und die Maculazellzahl deutlich höher liegen als bei den Kontrollen, dagegen hat der Maculaindex vergleichsweise wenig zugenommen (zur Signifikanz s. Tabelle 3).

Tabelle 3. Mittelwerte \bar{x} , Standardabweichungen s und Signifikanz p der Einzelwerte von Maculazahl, Maculazellzahl und Maculaindex bei Kontrollen und geklemmten Nieren

	n	Macula- zahl $\bar{x} \pm 1s$	p	Macula- zellzahl $\bar{x} \pm 1s$	p	Macula- index $\bar{x} \pm 1s$	p
Kontroll- nieren	10	$13,8 \pm 3,2$		$55,2 \pm 15,9$		$3,97 \pm 0,35$	
Geklemmte Nieren	16	$17,4 \pm 3,9$	$< 0,01$	$76,2 \pm 23,5$	$< 0,01$	$4,31 \pm 0,61$	$< 0,05$

c) *Ungeklemmte Nieren*. Die im Rahmen der induzierten Nephrosklerose auftretenden allgemeinen tubulären Schädigungen betreffen auch die Macula densa. Das Epithel ist abgeflacht oder nicht mehr sicher zu identifizieren, die Kerne sind klein und dicht, das Cytoplasma von unbestimmter dunkler Tingierung. Das Lumen des entsprechenden Tubulusabschnittes zeigt oft eine starke Erweiterung mit entsprechender Vergrößerung des Kernabstandes, so daß die Unterscheidung von den anderen distalen Tubulusepithelien erschwert oder unmöglich gemacht wird. Nur bei 5 Tieren konnten wir eine zahlenmäßige Bewertung durchführen. Die Mittelwerte der Maculazahlen, Maculazellzahlen und Maculaindices lagen bei 11,3; 29,4 und 3,46 (tabellarisch nicht aufgeführt).

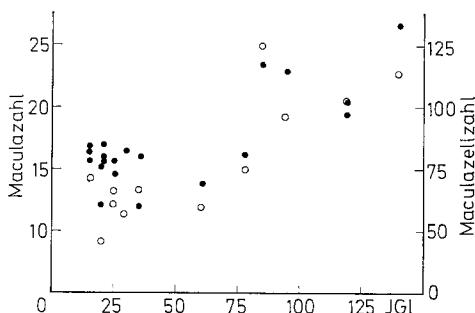


Abb. 3. Beziehung zwischen Maculazahl (Punkte), Maculazellzahl (Kreise) und den JGI

d) Statistische Auswertung. Über den Vergleich zwischen geklammerten Nieren und Kontrollen und über die zugehörigen Signifikanzen gibt Tabelle 3 Auskunft. Die 5 Tiere, an denen eine Auswertung beider Nieren durchgeführt werden konnte, zeigten auf der ungeklammerten Seite deutlich niedrigere Maculawerte als auf der Gegenseite. Wegen der geringen Zahl ließ sich jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied nicht ermitteln ($p < 0,1$).

3. Beziehung zwischen granulierten Zellen und Macula densa bei geklammerten Nieren

Trägt man für das einzelne Tier Maculazahl und Maculazellzahl gegen die zugehörigen JGI auf, so findet sich für beide Werte eine prinzipiell gleiche Verteilung (Abb. 3). Hervorzuheben ist, daß eine gleichsinnige Erhöhung des JGI und der Maculawerte nur bei 4 Tieren mit exzessiven Granulationswerten ($JGI > 80$) eindeutig, bei den übrigen Tieren dagegen nicht sicher zum Ausdruck kommt. Maculazahl und Maculazellzahl sind miteinander in fast linearer Abhängigkeit ($r = 0,90$; $p < 0,001$) korreliert. Die Werte streuen eng um eine Gerade. Der Quotient aus beiden Größen, d.i. der Maculaindex, ist somit weitgehend konstant und aus theoretischen Gründen nicht mit dem JGI korreliert.

Diskussion

In den vorliegenden Untersuchungen sollte geprüft werden, ob unter den Bedingungen des Drosselungshochdruckes der Ratte der juxtaglomeruläre Apparat als ganzer eine morphometrisch faßbare Veränderung erfährt. Von besonderem Interesse sind dabei die beiden Hauptkomponenten: Granulierte juxtaglomeruläre Zellen (grZ.) und Macula densa, die anhand unserer Befunde im folgenden zunächst getrennt besprochen werden sollen.

1. Granulierte Zellen

Die oben dargestellten Ergebnisse bestätigen in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Tobian et al. (1958, 1959), Fukuchi et al. (1964), Heptinstall (1965) und Simpson (1965), jedoch teilweise abweichend von Hartroft (1957), daß es bei einseitiger Nierenarteriendrosselung zu einer Granulationszunahme der

geklammerten Nieren kommt, während die ungeklammerten Gegennieren weitgehend entgranuliert werden. Der Granulationsindex entspricht nach den Befunden von Tobian et al. (1959) und Gross et al. (1963) dem biologisch feststellbaren Reningehalt der betreffenden Niere. Diese am Einzeltier gefundene Parallelität ist zum einen eine der wesentlichen Stützen dafür, daß die in der Niere enthaltene vasopressorische Aktivität tatsächlich zum größten Teil den grZ. des juxtaglomerulären Apparates entstammt. Zum anderen ergibt sich daraus, daß die morphometrische Bestimmung des JGI eine verlässliche Abschätzung des Gehaltes an vasopressorischem Material einer Niere erlaubt.

Das Hartroftsche Auswertungsverfahren beruht auf der Einteilung der jeweils beobachteten juxtaglomerulären Granulation in verschiedenen Klassen (0—IV), welche in einer dem morphologischen Bild angemessenen Form sowohl die Zahl als auch den Granulationsgrad der grZ.-Population beinhaltet. Der Gesamt-JGI nach Hartroft kommt (s. Methodik, Absatz 3) durch Summation der für jeden Fall ermittelten „Klassenwerte“ zustande. Das bedeutet aber, daß über die Häufigkeitsverteilung der in die Rechnung eingehenden einzelnen Klassen keine Aussage getroffen wird. Wir haben daher am Beispiel der Kontrollnieren und geklammerten Nieren geprüft, ob nicht auch die Klassenverteilung zur Charakterisierung des jeweiligen Kollektives beiträgt (Abb. 2): Während bei den Kontrollen die Klassen mit steigender Granulation kontinuierlich abnehmen, kommt es bei den geklammerten Nieren zu einem Häufigkeitsgipfel in den Klassen II und III, bemerkenswerterweise verbunden mit einem Häufigkeitsabfall in Klasse I. Dadurch wird augenfällig demonstriert, daß in den Klammernieren nicht nur eine zahlenmäßige Vermehrung der granulierten Zellen, sondern auch eine Umwandlung in stärker granulierte Formen erfolgt.

Hervorzuheben ist, daß in unserem Kollektiv der hypertonen Tiere die weitgehende Entgranulierung der ungeklammerten Nieren schon sehr früh, nämlich in vier Fällen schon nach 8—11 Tagen beobachtet wurde. In der Literatur sind bisher nur längere Zeiten mitgeteilt (14 Tage bei Tobian et al., 1958; 4 Wochen bei Simpson, 1965). Die Ursache der Degranulierung ist bislang nicht hinreichend erklärt (Tobian, 1960a, b; Gross, 1968). Auch aus unseren Befunden ergibt sich hierzu keine Aussage. Schließlich ist darauf hinzuweisen, daß die von Hartroft (1957) gefundene Korrelation zwischen dem Grad der Degranulierung auf der ungeklammerten Seite und der Blutdruckhöhe nicht bestätigt werden kann (vgl. auch Simpson, 1965; Gross, 1968); denn in unserem Beobachtungsgut lagen die JGI aller ungeklammerten Nieren durchweg bei Werten um 0, obwohl die maximalen Blutdruckwerte in weiten Grenzen (145—215 mm Hg, s. auch Abb. 1) schwankten.

2. *Macula densa*

Im Vergleich zu den zahlreichen morphometrischen Untersuchungen an den granulierten Zellen sind solche an der Macula densa bislang nur relativ selten vorgenommen worden. Otto und Gemaehlich (1965) haben die Anschnittshäufigkeit pro 100 Glomeruli bei experimentell-induzierter Wasserdiurese und bei Durst geprüft. Mit der gleichen Methode hat Bohle (1968) über erste Befunde beim Menschen berichtet, die in jüngster Zeit unter Hinzunahme weiterer, mit den unseren zum Teil übereinstimmender Auswertungsverfahren (Macula densa-

Zellen pro 300 Glomeruli, Zellzahl pro Macula densa-Anschnitt, hohe Macula densa-Zellen in % aller Macula densa-Zellen) bei verschiedenen Krankheitsbildern (Conn-Syndrom, Nierenarterienstenose, Pseudo-Bartter-Syndrom, Morbus Addison) dargestellt worden sind (Helber, Meyer, Schürholz und Bohle, 1970). Mit Hilfe von Serienschnittuntersuchungen hat Faarup (1965) die Zahl der Macula densa-Zellen pro Nephron an der Normalniere, getrennt nach corticaler und juxtamedullärer Zone, bestimmt.

In dem Bestreben, an ein und demselben histologischen Schnitt möglichst viele, mit einfachen Mitteln erreichbare morphometrische Daten über die Macula densa zu gewinnen, haben wir zunächst zwei „Maculawerte“ direkt bestimmt, nämlich die „Maculazahl“ und die „Maculazellzahl“, und anschließend aus diesen beiden Werten rechnerisch den „Maculaindex“ ermittelt (Schneider, Thoenes u. Wernze, 1970). Der letztere gibt an, wieviel Maculaepithelien im Mittel pro Macula im Schnitt getroffen sind.

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, lagen Maculazahl und Maculazellzahl in den geklammerten Nieren signifikant höher als in den Kontrollnieren. Sie zeigten damit, auf das Kollektiv bezogen, ein gleichsinniges Verhalten wie die JGI. Ob auch für das Einzeltier eine enge Korrelation zwischen Granulationsgrad und Maculawerten besteht, kann aus den bisher vorliegenden Daten (Abb. 3) nicht erschlossen werden und muß gegebenenfalls an einem größeren Beobachtungsgut nachgeprüft werden.

Da Maculazahl und Maculazellzahl die jeweilige Anschnittshäufigkeit pro 100 Glomeruli angeben, glauben wir, aus diesen Befunden schließen zu dürfen, daß es in der geklammerten Niere im Durchschnitt sowohl zu einer Vergrößerung der Maculaausdehnung als auch zu einer Zunahme der gesamten Maculazellpopulation kommt.

Die Tatsache, daß die von uns gefundenen morphometrischen Macula-Werte in den geklammerten Nieren beträchtlich streuen und dabei z.T. im Streubereich der Kontrollen liegen, spricht nicht gegen diese Annahme; sie unterstreicht lediglich, daß die Nieren auf die Arterienklammerung in unterschiedlichem Maße reagieren, wie das in gleicher Weise auch für die JGI von zahlreichen früheren Untersuchern gefunden und in der vorliegenden Studie von uns bestätigt wurde. Die entscheidende Aussage liegt hier bei der statistischen Signifikanzberechnung, die in beiden Fällen (JGI und Macula- bzw. Maculazellzahl) ein $p < 0,01$ ergeben hat (s. Tabelle 1 und 3).

Die zahlenmäßige Zunahme der Maculaepithelien wird in der Regel nur auf der Gefäßpolseite des Glomerulus, und zwar entlang der Kontaktregion mit den Hilusgefäß, gefunden. Die Ausdehnung der Macula muß daher vornehmlich in Tubuluslängsrichtung erfolgt sein. Dazu paßt, daß von unseren Maculawerten die Maculazahl und die Maculazellzahl eine stärkere Differenz ($p < 0,01$) gegenüber der Norm aufweisen als der Maculaindex ($p < 0,05$); denn Längs- oder sehr flache Schrägschnitte, die allein eine beträchtliche Erhöhung des Maculaindex bewirken könnten, müssen statistisch ungleich seltener vorkommen als die übrigen Schnittrichtungen.

Die Vermehrung der Maculazellen kann entweder auf einer Teilung der Maculaepithelien selbst oder auf einer Umprägung und Einbeziehung benachbarter distaler Tubulusepithelien beruhen. Beide Wege erscheinen grundsätzlich mög-

lich. Obwohl Teilungsfiguren an Maculazellen vorkommen (Thoenes, unveröff.), konnten solche bei den vorliegenden Tieren nicht beobachtet werden. Das spricht aber bei der Seltenheit von Tubuluszellteilungen überhaupt keineswegs gegen eine mitotische Zellvermehrung. Auch die Umprägung distaler Tubulusepithelien kann nicht von der Hand gewiesen werden, wenn man berücksichtigt, daß schon unter normalen Bedingungen (Thoenes, 1961) und offenbar auch in den von uns (allerdings nur lichtmikroskopisch) untersuchten Klammernieren Maculazellen auch außerhalb der hilären Kontaktregion, u.U. sogar auf der Glomerulus-abgewandten Seite vorkommen können.

Unabhängig von der noch ungelösten Frage nach dem Mechanismus der Maculazellvermehrung kann als Ergebnis der vorliegenden morphometrischen Analyse festgehalten werden, daß es unter den Bedingungen der Nierenarteriendrosselung in vielen Fällen zu einer mit Zellvermehrung einhergehenden Größenzunahme der Macula, also zu einer *Hyperplasie der Macula densa* kommt.

3. Funktionelle Aspekte

Es bliebe zu fragen, welche funktionelle Bedeutung der Macula-Hyperplasie zukommen könnte. Wichtigster Hinweis dazu ist die Tatsache, daß in demselben Kollektiv geklammerter Nieren eine gleichsinnige Erhöhung des Granulationsindex, also eine Vermehrung und Granulationszunahme auch der granulierten Zellen nachweisbar ist — ein Parallelverhalten, das bei bestimmten Krankheitszuständen des Menschen (Pseudo-Bartter-Syndrom, Morbus Addison), kürzlich in gleicher Weise aufgezeigt wurde (Helber et al., 1970). Das bedeutet, daß unter entsprechenden Voraussetzungen beide nach unserer heutigen Kenntnis wichtigste Teile des juxtaglomerulären Apparates — granulierte Zellen und Macula densa — hyperplastisch werden können. Da nach den Untersuchungen insbesondere von Thurau und Schnermann (1965) als gesichert gelten darf, daß zwischen diesen Elementen enge funktionelle Beziehungen bestehen, liegt es nahe, die Größenzunahme der Macula densa als Ausdruck einer Funktionssteigerung dieser Tubulusregion zu betrachten. Die von mehreren Autoren (Hess und Pearse, 1959, 1961; Fisher, 1961; Hess u. Regoli, 1964) in der Macula densa von Drosselnieren nachgewiesene Erhöhung der Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Aktivität steht damit in Einklang. Über die Art der gesteigerten Funktion ist allerdings aufgrund der bisherigen Befunde eine sichere Aussage nicht möglich. Bei dem derzeitigen Wissensstand würde man in erster Linie an eine Aktivierung von Prozessen im Dienste der tubulojuxtaglomerulären Informationsübertragung denken.

Literatur

- Bohle, A.: Niere und innere Sekretion unter besonderer Berücksichtigung der Morphologie des juxtaglomerulären Apparates. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **74**, 52—53 (1968).
- Byrom, F. B., Wilson, C.: Plethysmographic method for measuring systolic blood pressure in intact rat. J. Physiol. (Lond.) **93**, 301—304 (1938).
- Faarup, P.: On the morphology of the juxtaglomerular apparatus. Acta anat. (Basel) **60**, 20—40 (1965).
- Fisher, E. R.: Correlation of juxtaglomerular granulation, pressor activity and enzymes of macula densa in experimental hypertension. Lab. Invest. **10**, 707—718 (1961).

- Fukuchi, S., Hansta, M., Takahashi, H., Demura, H., Torikai, T.: Reninangiotensin and aldosterone in experimental hypertension. *Tohoku J. exp. Med.* **84**, 125—136 (1964).
- Goldblatt, H., Lynch, J., Hanzal, R. F., Summerville, W. W.: Studies on experimental hypertension; production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. exp. Med.* **59**, 347—379 (1934).
- Gross, F.: Experimentell renaler Hochdruck und experimenteller Hochdruck mit Nierenveränderungen. In: *Handbuch der inneren Medizin*, Bd. VIII/2, S. 4—104. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Regoli, D., Schaechtelin, G.: Renal content and blood concentration of renin. In: *Hormones and the kidney*, p. 293. London-New York: Academic Press 1963.
- Hartroft, P. M.: Studies on renal juxtaglomerular cells. III. The effect of experimental renal disease and hypertension in the rat. *J. exp. Med.* **105**, 501—508 (1957).
- Hartroft, W. S.: Studies on renal juxtaglomerular cells; variations produced by sodium chloride and desoxycorticosterone acetate. *J. exp. Med.* **97**, 415—428 (1953).
- Helber, A., Meyer, D., Schürholz, J., Bohle, A.: Zur Struktur und Funktion des juxtaglomerulären Apparates. Quantitative lichtoptische Untersuchungen an juxtaglomerulärem Apparat und Macula densa der Nieren von Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus, Nierenarterienstenose, Pseudo-Bartter-Syndrom und Morbus Addison. *Dtsch. med. Wschr.* **95**, 2280—2288 (1970).
- Heptinstall, R. H.: The role of the juxtaglomerular apparatus in experimental hypertension in the rat. *Lab. Invest.* **14**, 2150—2159 (1965).
- Hess, R., Pearse, A. G.: The significance of renal glucose-6-phosphat-dehydrogenase in experimental hypertension in the rat. *Brit. J. exp. Path.* **40**, 243—249 (1959).
- — Mitochondrial α -glycerophosphatase dehydrogenase activity of juxtaglomerular cells in experimental hypertension and adrenal insufficiency. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **106**, 895—898 (1961).
- Regoli, D.: Correlation of enzymatic activity of the juxtaglomerular complex with renin content in renal hypertensive rats. *Brit. J. exp. Path.* **45**, 666—671 (1964).
- Hubmann, R.: Über das Verhalten der juxtaglomerulären Zellen im Kreislaufkollaps. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **99**, 500—509 (1959).
- Otto, H., Gemachlich, M.: Studien über die Macula densa. *Frankfurt. Z. Path.* **67**, 232—246 (1956).
- Pickering, G. W., Prinzmetal, M.: Experimental hypertension of renal origin in rabbit. *Clin. Sci.* **3**, 357—368 (1938).
- Reeves, G., Löwenstein, L. M., Sommers, S. C.: The macula densa and juxtaglomerular body in cirrhosis. *Arch. intern. Med.* **112**, 708—715 (1963).
- Schneider, U., Thoenes, W.: Quantitative Studien am juxtaglomerulären Apparat beim Drosselungshochdruck der Ratte. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **54**, 652 (1970).
- — Wernze, H.: Morphometrische Untersuchungen an Macula densa und granulierten juxtaglomerulären Zellen der Ratteniere bei experimentellem Drosselungshochdruck. *Klin. Wschr.* **48**, 1463—1464 (1971).
- Simpson, L.: Interrelationship of electrolytes, juxtaglomerular cell granulation in rats with induced narrowing of one renal artery. *Lab. Invest.* **14**, 173—177 (1965).
- Thoenes, W.: Zur Feinstruktur der Macula densa im Nephron der Maus. *Z. Zellforsch.* **55**, 486—499 (1961).
- Thurau, K.: Hämodynamik des Nierenkreislaufes. In: *Handbuch der inneren Medizin*, Bd. VIII/1, S. 59—62. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Schnermann, J.: Die Natriumkonzentration an den Macula densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat. *Klin. Wschr.* **43**, 410—413 (1965).
- Tobian, L.: Interrelationship of electrolytes, juxtaglomerular cells and hypertension. *Physiol. Rev.* **40**, 280—312 (1960a).
- Physiology of the juxtaglomerular cells. *Ann. intern. Med.* **52**, 395—410 (1960b).
- Janecek, J., Tomboulian, A.: A correlation between granulation of juxtaglomerular cells and extractable renin in rats with experimental hypertension. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **100**, 94—96 (1959).

- Tobian, L., Thompson, J., Twedt, R., Janecek, J.: The granulation of juxtaglomerular cells in renal hypertension, desoxycorticosterone and post-desoxycorticosterone hypertension, adrenal regeneration and adrenal insufficiency. *J. clin. Invest.* **37**, 660—671 (1958).
- Wilson, C.: Vicious circle in chronic Bright's disease. Experimental evidence from the hypertensive rat. *Quart. J. Med.* **10**, 65—93 (1941).
- Byrom, F. B.: Renal changes in malignant hypertension, experimental evidence. *Lancet* **1939 I**, 136—139.

Dr. U. Schneider
Prof. Dr. W. Thoenes
Institut für Cytobiologie und Cytopathologie
der Universität
BRD-3550 Marburg a.d. Lahn, Robert-Koch-Straße 6
Deutschland