

Veränderungen von Mäusenieren nach experimenteller Infektion mit Mucambo-Virus

R. ARAUJO, L. BRAGA DIAS und F. HUTH

Instituto Patologia Regional da Universidade do Pará/Brasil (Direktor: Prof. Dr. J. M. Leite)
Instituto Evandro Chagas/Belem/Brasil (Direktor: D. M. Azevedo)
Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. H. Meessen)

Eingegangen am 20. August 1971

Alterations of Mouse Kidney Following Inoculation of Mucambo-Virus

Summary. Four to six days following intracerebral, intraperitoneal or subcutaneous inoculation of Mucambo-Virus one can observe a sludge of the capillary system in the kidney, obliteration of the Bowman space by swollen podocytes and herniation of swollen tubular epithelium into the capsule space. The swelling of the epithelium of the proximal tubules leads to necrotic ruptures of tubular epithelium with formation of cylinders of cellular and nuclear debris. In addition, a chromoproteinuric nephrosis can be found. Virus particles can not be demonstrated in kidney tissue cells. The renal alterations are thought to be caused by renal intoxication with damage of capillary walls and circulatory disturbance due to the viral hepatitis and encephalitis.

Zusammenfassung. Etwa 4—6 Tage nach intracerebraler, intraperitonealer oder subcutaner Inoculation einer Suspension von Arbo-Virus (Typ: Mucambo BeAn 10967) kommt es zu einer Stase im Capillarsystem der Niere, zu einer Obliteration des Bowmanschen Kapselraums durch eine Schwellung der Deckzellen und durch Herniation von geschwollenen Hauptstückzellen in den Kapselraum. Die Schwellung des Hauptstückepithels geht z.T. in Nekrosen von Tubulusepithel über, wobei Cylinder aus Zell- und Kerndetritus entstehen. Gleichzeitig bilden sich Nierenveränderungen im Sinne einer chromoproteinurischen Nephrose aus. Ein Erregernachweis gelingt in der Niere nicht. Die Nierenbefunde werden als Folge der renalen Intoxikation mit Schädigung der Blutcapillarwand und einer Zirkulationsstörung bei der vorher und gleichzeitig ablaufenden virogenen Hepatitis und Encephalitis angesehen.

Ein Nachweis von Viruspartikeln im Urin ist bei Tollwut, lymphocytärer Choriomeningitis, Echovirus-, Adenovirus- und Cocksackievirus-Erkrankungen sowie Cytomegalie, New Castle-Virus-Infektion und russischer Mücken-Frühsummer-Encephalitis gelungen (Lepine und Sautter, 1938; Mollniza, 1938; Smorodintseff, 1940; Howitt, 1950; Utz, 1960, 1966). Im Nierengewebe konnten Viruspartikel bei virusinfizierten Patienten und Laboratoriumstieren mit morphologischen Untersuchungsmethoden dagegen nur selten dargestellt werden. Kajima u. Mitarb. (1969/70) sahen Viruspartikel innerhalb glomerulonephritischer Herde nach älterer Infektion mit lymphocytärer Choriomeningitis-Virus. Als indirekte Hinweise auf eine Virusausbreitung in der Niere wurden Einschlußkörper wie bei Cytomegalie gewertet (Medearis, 1957; Seifert und Oehme, 1957; Zollinger, 1966). Veränderungen an den Nieren bei Röteln, Masern, anderen Encephalitiden und weiteren Virusinfekten wurden als uncharakteristische Sekundäralterationen an-

gesehen, die nicht auf eine direkte Ausbreitung von Virus in der Niere zurückgehen sollten (Van Rooyen und Rhodes, 1948; Hotchin und Collins, 1964). Bei den bisher untersuchten Erkrankungen nach Infektion mit Arbo-Virus im Amazonasgebiet wurde keine eindeutig virusbedingte Nephritis festgestellt. Lediglich bei Infektion von Laboratoriumstieren mit Mucambo-Virus wurden neben einer Encephalitis und einer Hepatitis auch hämorrhagische Nierenveränderungen als konstanter dritter Organbefund beobachtet. Da Virustypen wie der des Mucambo-Virus auch als Erreger menschlicher Hepatitiden im Amazonasgebiet diskutiert werden, sollte die Ursache der hämorrhagischen Nierenveränderungen durch die vorgestellten elektronenmikroskopischen Untersuchungsbefunde aus morphologischer Sicht weiter beleuchtet werden.

Material und Methodik

Zur Untersuchung standen die Nieren von 11 erwachsenen weißen Labormäusen nach Infektion mit Mucambo-Virus zur Verfügung. Entsprechend lichtmikroskopischen Voruntersuchungen am Instituto Evandro Chagas in Belem/Brasilien wurden Nierengewebe am 2., 3., 4., 5. und 6. Tag nach intracerebraler, intraperitonealer und subcutaner Injektion von Mucambo-Virus (suspendiert in Hirngewebe vorher infizierter Mäuse) gewonnen. Für die intracerebrale Inoculation wurden 0,03 ml der Suspension injiziert. Bei intraperitonealer oder subcutaner Injektion wurden 0,2 ml der Suspension verwandt.

Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurde das Nierengewebe jeweils in neutralem 10%igem Formalin fixiert. Von Paraffinschnitten wurden die Hämatoxylin-Eosin- und die Eisenhämatoxylin-Pikrofuksin-Färbung nach van Gieson, kombiniert mit Resorcin, angefertigt.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden Nierengewebsstückchen von etwa 1 mm Kantenlänge in 3%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Phosphat-Puffer (pH 7,2) fixiert. Während des Transports von Belem/Brasilien nach Düsseldorf wurden die Gewebsblöcke in Glutaraldehyd belassen. Die Temperatur der Fixationslösung wurde während des 2- bis 7-tägigen Transports bei 4° C gehalten. Anschließend erfolgte nach gründlichem Waschen in einer Phosphatpufferlösung eine weitere Fixation in 1%igem gepuffertem Osmiumtetroxyd über 1 Std. Nach Entwässern in der aufsteigenden Acetonreihe wurde das Gewebe in Durcupan eingebettet. Die Dünnschnitte wurden mit Bleihydroxyd und Uranylacetat nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem RCA-EMU-E-Mikroskop angefertigt.

Lichtmikroskopische Befunde

Die Veränderungen nach intracerebraler, intraperitonealer und subcutaner Inoculation der Virussuspension sind identisch und können im folgenden gemeinsam aufgeführt werden.

Am 3. Tag nach Inoculation der Virus-Suspension beginnt eine blutige Anschoppung vor allem in den Glomerulumcapillaren. Am 4. Tag tritt eine Verklebung der Glomerulumschlingen mit Ausbildung von Kapselsynechien auf. Gleichzeitig erscheint die Wand der Glomerulumschlingen etwas verdickt. Am 5. Tag sind außer den Glomerulumschlingen auch die peritubulären Capillaren hyperämisch. In einzelnen Glomerula ist es zu Hämorrhagien gekommen. Mit dem 5. Tag wird außerdem eine wechselnd starke Schwellung der apikalen Zellabschnitte in den Hauptstücken der Nephren beobachtet. Vereinzelt bilden sich am 5. und 6. Tag homogene Cylinder in den Harnkanälchen. Die tieferen Nephronabschnitte zeigen keine Epithelalterationen. Auch das interstitielle Bindegewebe ist während der verfolgten Versuchszeiten nicht wesentlich verändert.

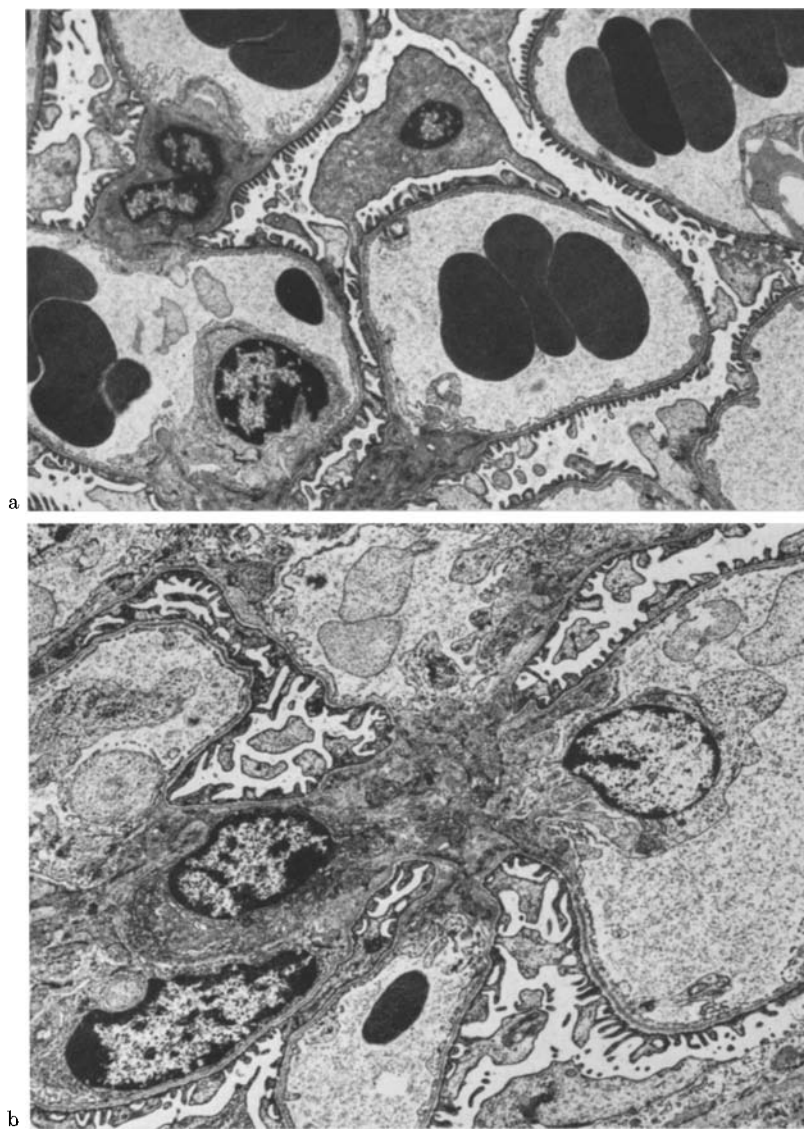


Abb. 1. a Beginnende Hyperämie der Glomerulumschlingen, 3 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 1800; Gesamtvergr.: 6900. b Glomerulumschlingen in einem freien Capselraum mit beginnender Schwellung der Endothelzellen und Vorwölbung einer Mesangiumzelle in das Kapillarlumen, 4 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 2500; Gesamtvergr.: 9500

Elektronenmikroskopische Befunde

Am 3. und 4. Tag nach der Virus-Inoculation sind die Glomerulumcapillaren relativ hyperämisch (Abb. 1a). In einzelnen Schlingen werden erste Schwellungen

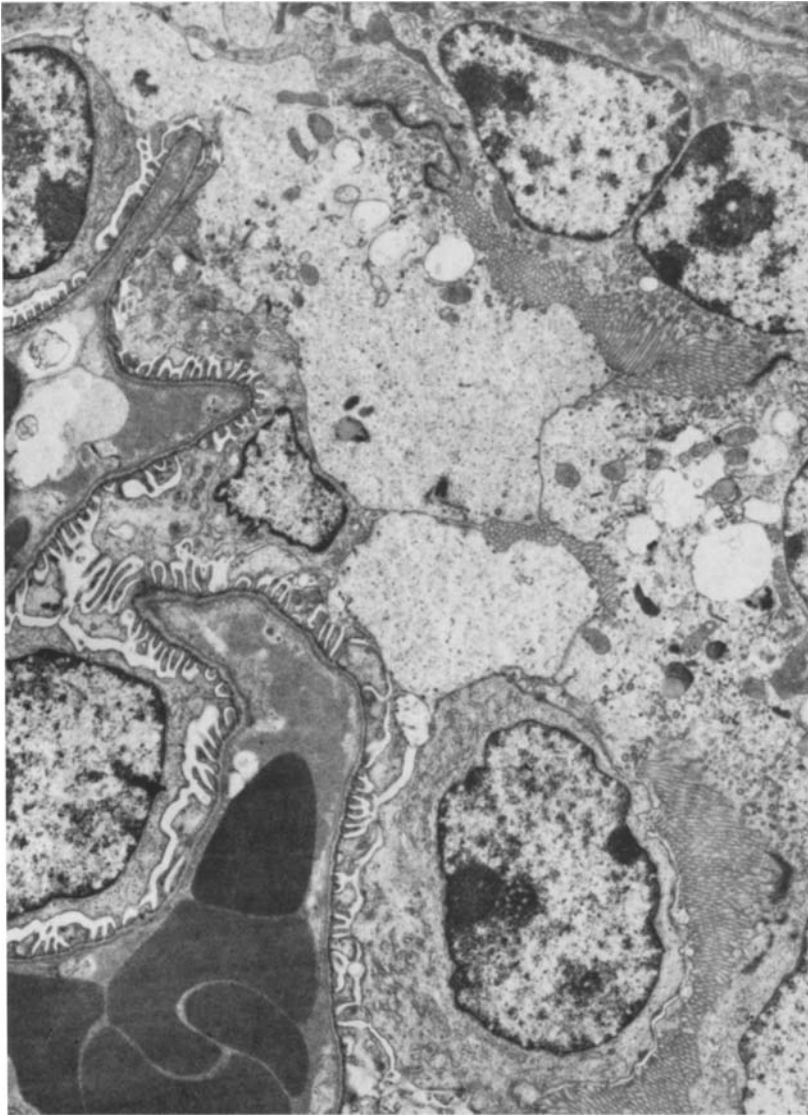


Abb. 2. Glomerulumschlingen mit Stase von Erythrocyten. Herniation von geschwollenen Hauptstückepithelzellen mit teilweise verstrichenem Bürstensaum in den Bowmanschen Kapselraum. Beginnende Verbreiterung der Deckzellfüßchen. 5 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 4200; Gesamtvergr.: 8000

von Endothelzellen erkennbar, mitunter sind einzelne Mesangiumzellen gegen das Lumen der Schlingen vorgewölbt (Abb. 1 b). Am 5.—6. Tag schreitet die Anschoppung der capillären Gefäßäste bis zu Bildern einer kompletten Stase fort (Abb. 2, 3). Neben den dicht gepackten Erythrocyten sind die Endothelzellen

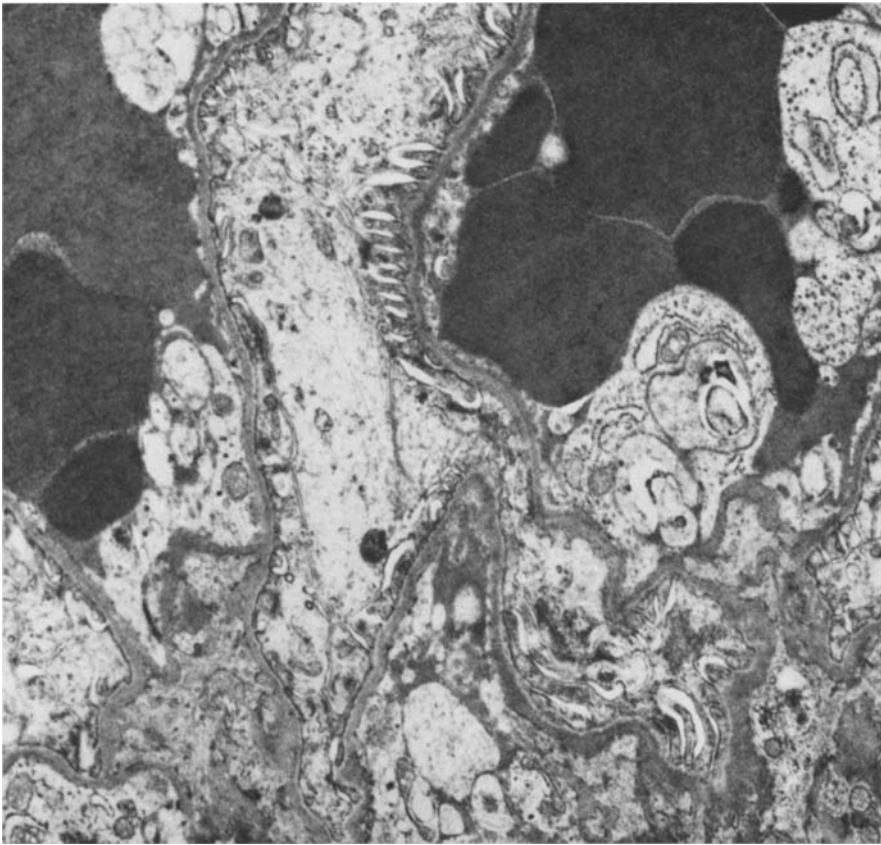


Abb. 3. Ausgeprägte Stase der Glomerulumschlingen und starke Schwellung der Deckzellen, 5 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 4200; Gesamtvergr.: 16000

der Glomerulumschlingen und der extraglomerulären Capillaren mäßig geschwollen. Mit dem 5. Tag beginnt eine progrediente Obliteration des Bowmanschen Kapselraums durch eine zunehmende Schwellung der Deckzellen und ihrer füßchenförmigen Fortsätze (Abb. 3). Gleichzeitig kommen Herniationen von geschwollenen Hauptstückepithelzellen mit apikalen Ödemblasen in den glomerulären Kapselraum vor (Abb. 2). Die apikale ödematöse Auftreibung des Hauptstückepithels ist vom 5. Tag an konstant bis zu den mittleren Nephronabschnitten zu beobachten (Abb. 4); sie geht am 6. Tag auch in Nekrosen größerer Epithelstreifen über. Unter diesen Epithelnekrosen bilden sich Cylinder aus Zell- und Kerndetritus (Abb. 5). Zusätzlich kommen neben den hyperämischen peritubulären Blutcapillaren Kanälchen vor, deren Lumina durch homogene Hämoglobinemassen ausgefüllt sind (Abb. 6). Das angrenzende Epithel der Kanälchen kann Siderosomen (Abb. 7) und hin und wieder auch kristallines Hämoglobin enthalten (Abb. 8). Das Interstitium ist bei elektronenmikroskopischer Kontrolle ebenfalls unauffällig.

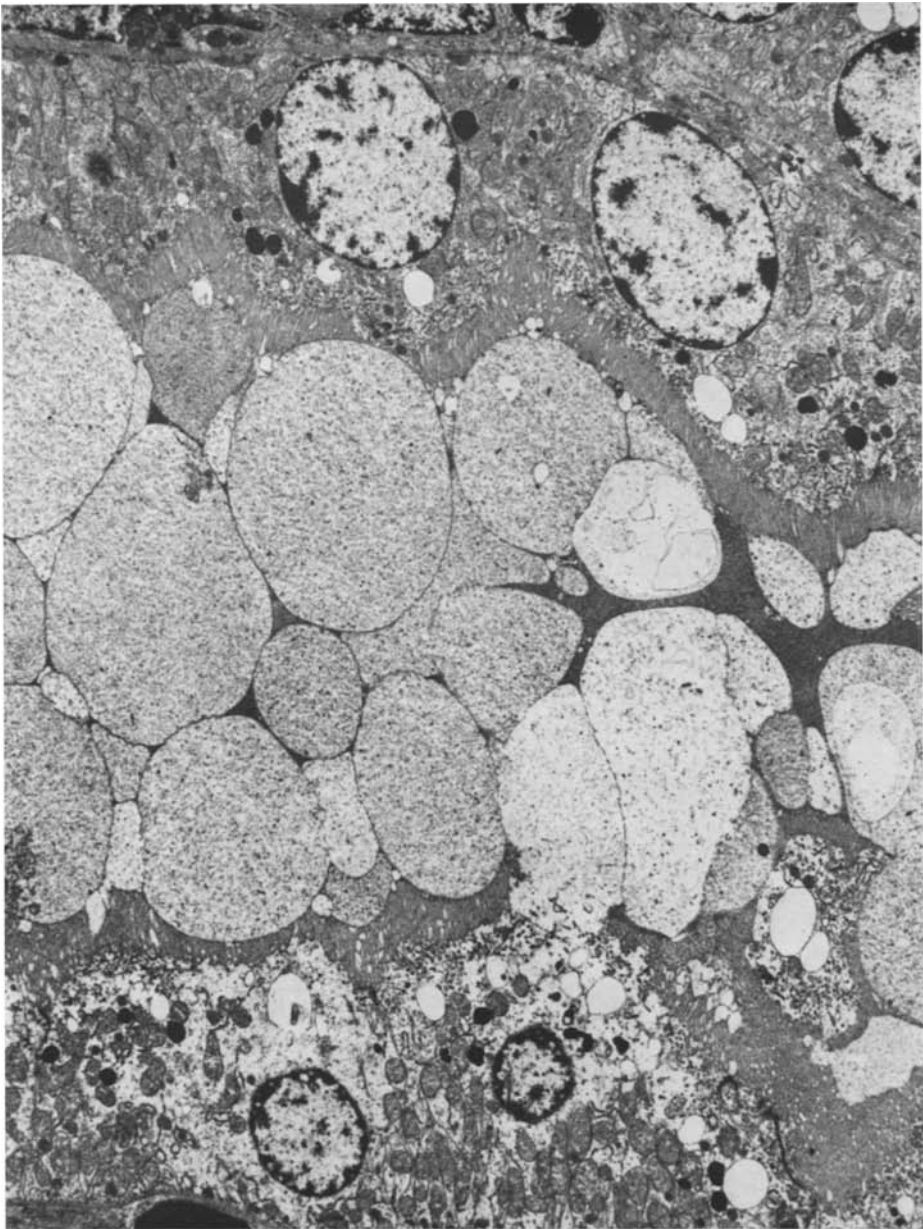


Abb. 4. Ausgeprägtes apikales Zellödem des Hauptstückes 6 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 1800; Gesamtvergr.: 6800

Erörterung der Befunde

Nach intracerebraler, intraperitonealer und subcutaner Inoculation einer Suspension von Arbo-Virus des Typs Mucambo-BeAn 10967 bei erwachsenen Labormäusen können virusähnliche Partikel in den Leberzellen belegt werden. Es

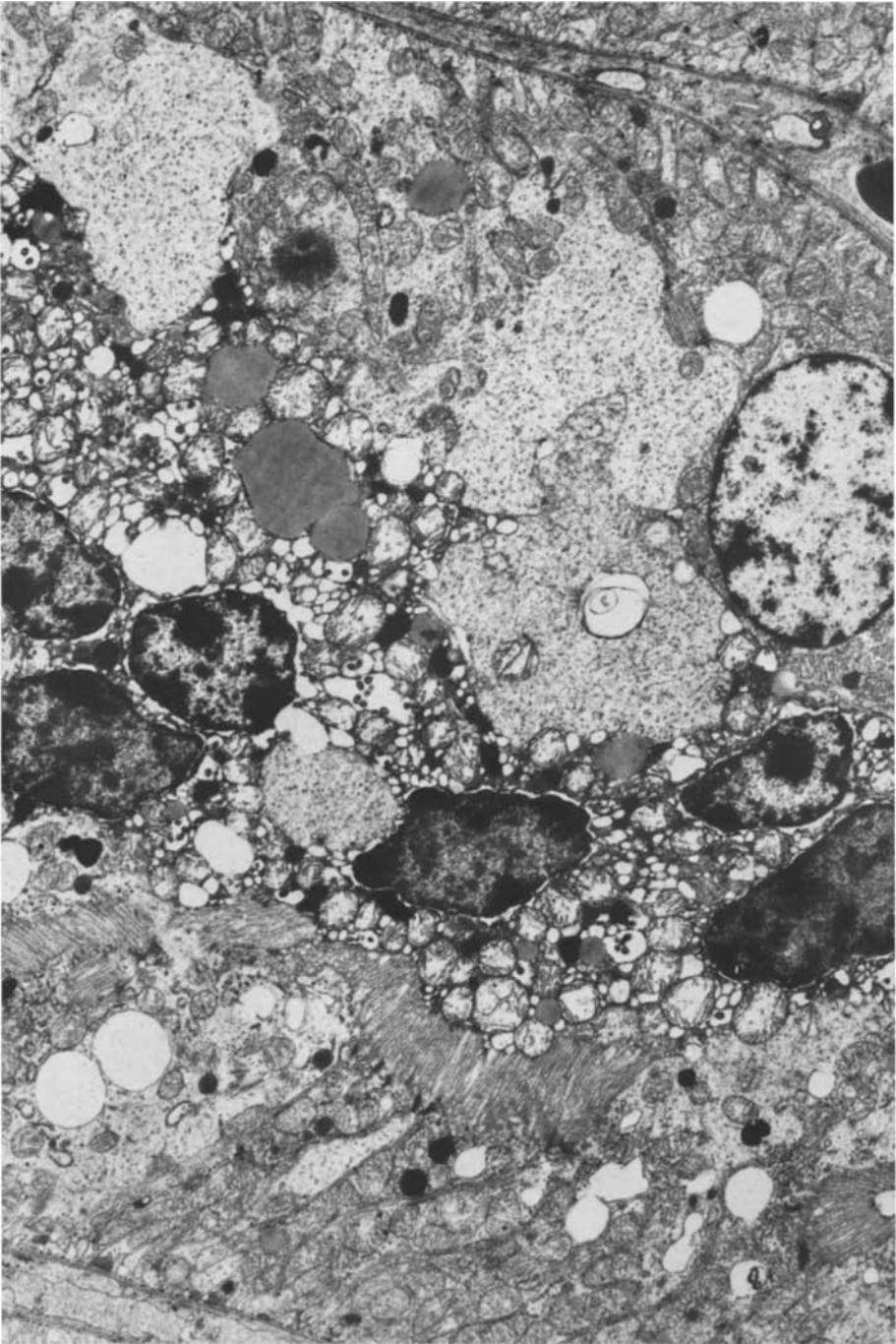


Abb. 5. Beginnende Nekrosen des Hauptstückepithels und Formation eines Cylinders aus Zell- und Kerndetritus, 6 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 2500; Gesamtvergr.: 9500

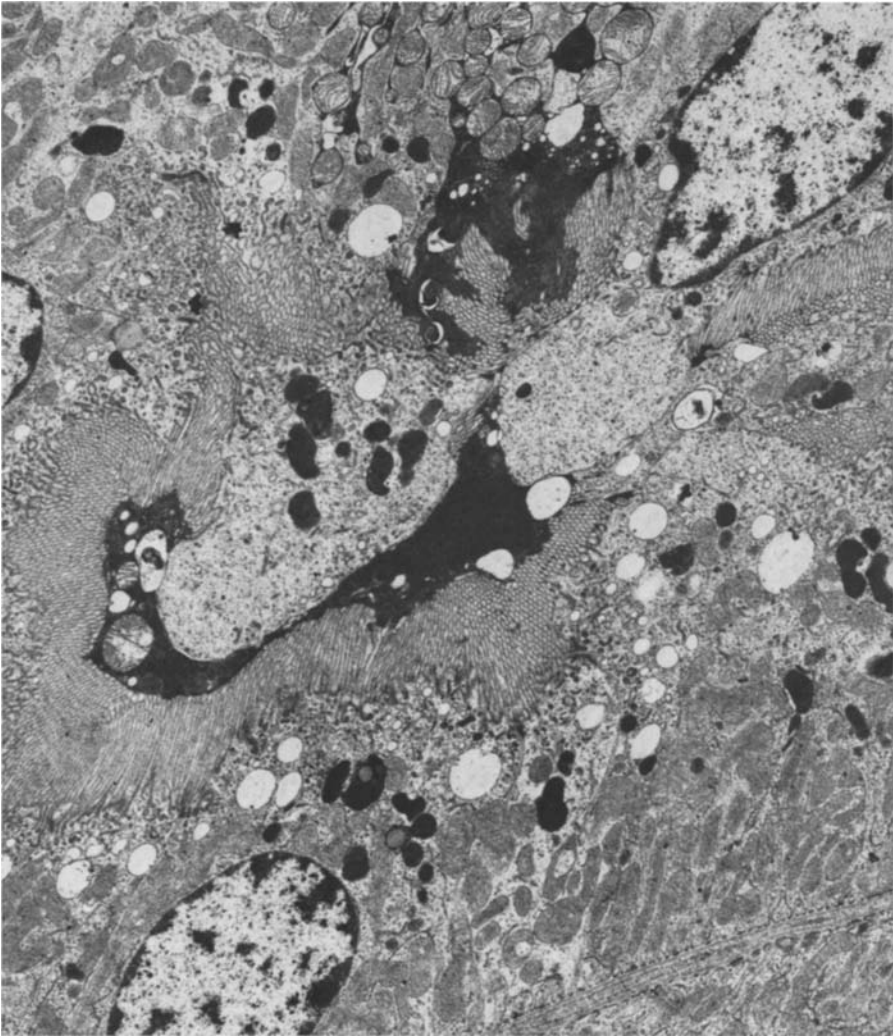


Abb. 6. Homogenes hämoglobinhaltiges Material im Lumen eines Kanälchens, 5 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 1400; Gesamtvergr.: 5400

entwickelt sich eine virogene Hepatitis und Encephalitis, an der die Tiere nach etwa 1 Woche sterben (Voruntersuchungen von Braga Dias und Araujo in Belem/Brasilien und in Düsseldorf). Unter der Virusausbreitung und der notwendigerweise vorausgegangenen Virämie können in der Niere keine Virus-Partikel oder virusähnliche Strukturen nachgewiesen werden. In Anbetracht der hepatitischen Befunde kann eine 6 Tage anhaltende Latenzphase einer eventuellen intrarenalen Virusausbreitung nicht angenommen werden. Das Fehlen eines intrarenalen Erregernachweises steht bei vordergründiger Betrachtung im Gegensatz zu den markanten Nierenveränderungen mit einem ausgeprägten sludge-Phänomen,

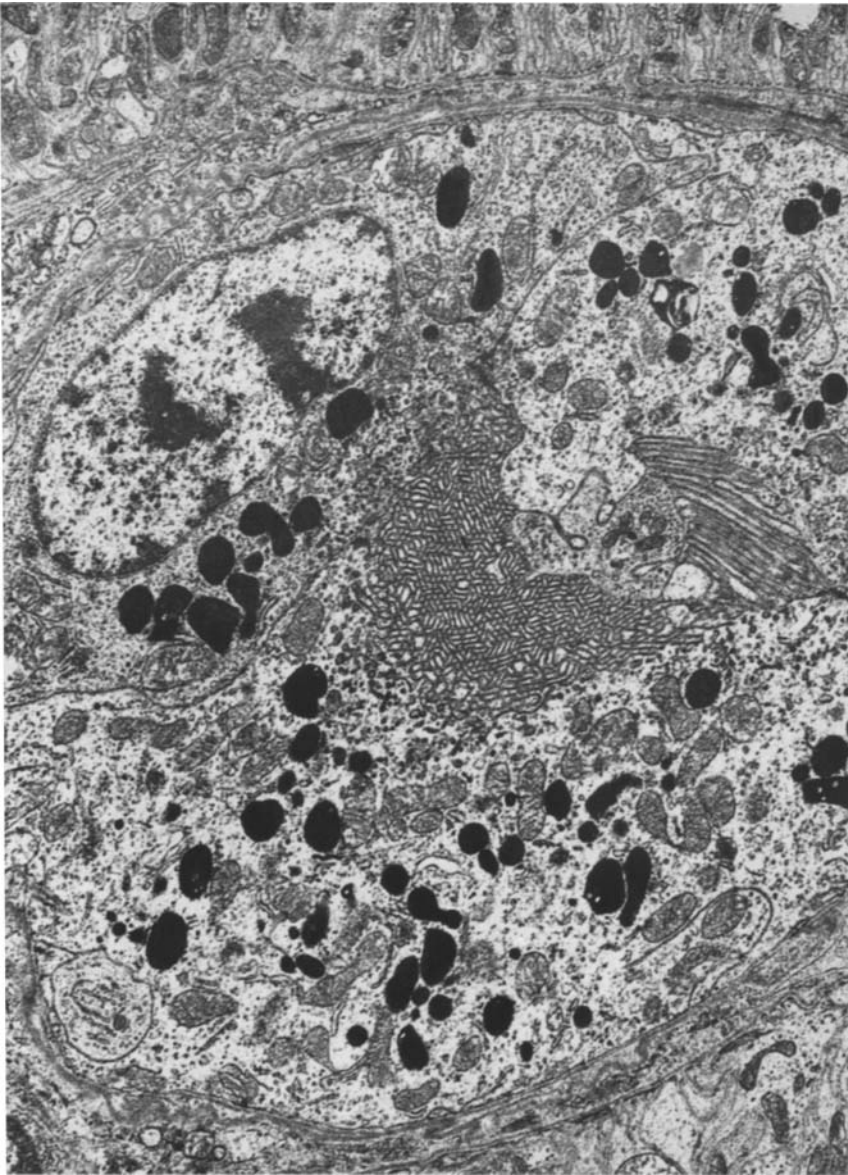


Abb. 7. Kanälchenepithel mit Bürstensaum. In allen Cytoplasmaabschnitten zahlreiche Siderosomen. Elektronenmikr.: 2100; Gesamtvergr.: 8000

einer Obliteration des glomerulären Kapselraums durch geschwollene Deckzellen und Herniation geschwollenen Hauptstückepithels sowie mit Nekrosen des Hauptstückepithels und Cylindern aus Zelldetritus und Hämoglobin, d.h. allen Zeichen vermehrter Capillarpermeabilität und primärer wie auch sekundärer Schädigung des Kanälchenepithels. Eine Virusausbreitung in der Niere ist aber nicht unab-

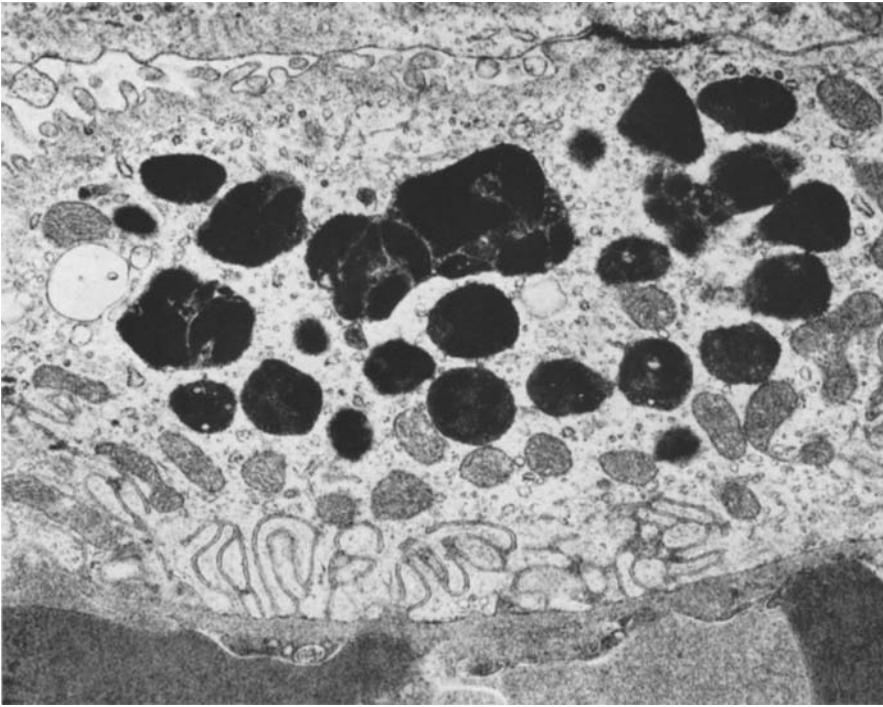


Abb. 8. Siderosomen und teilweise kristalline Hämoglobinresorbate im Kanälchenepithel 5 Tage nach Inoculation von Mucambo-Virus. Elektronenmikr.: 3700; Gesamtvergr.: 14000

dingbare Voraussetzung der beschriebenen Veränderungen. Vergleichbare Nierenaffektionen sind auch bei anderen Virus-Infekten als uncharakteristischer Sekundärbefund beschrieben worden (Smorodintseff, 1949; Gajdusek, 1962; Piazza et al., 1964). Hotchin und Collins (1964) haben in diesem Zusammenhang von einer Immunreaktion gesprochen. Gegen eine derartige Bezeichnung sprechen das Fehlen lymphocytärer und plasmacellulärer Infiltrate wie auch das Fehlen einer Alteration an der Basalmembran oder Ablagerungen präcipitierten Materials neben der Basalmembran. Auch eine Einordnung der geschilderten Befunde als hämorrhagische Glomerulonephritis ist nur von geringem Wert bei der Erörterung der Genese der Nierenbefunde, zumal andere eindeutige Hinweise auf eine Glomerulitis wie Endothelläsionen, Proliferationen von Mesangiumzellen, Alterationen der Basalmembran oder entzündliche Infiltrate fehlen.

Die relativ frühe Reaktion der glomerulären Deckzellen und des Hauptstückepithels mit Ausbildung von Hämoglobincylindern, Siderosomen und Resorption kristalliner Hämoglobinbröckel legen eine toxische Schädigung der Glomerulumcapillarwand nahe, die bei intravasaler Hämolyse unter dem schweren Virus-Infekt zu einer chromoproteinurischen Nephrose führt. Aus dieser Sicht werden die Nierenbefunde vergleichbar mit solchen nach Intoxikation mit Essigsäure (Schüssler, 1956; Krecke et al., 1962), nach Schlangengiftintoxikation (Freitas Amorim et al., 1951; Sakaguchi und Kawamura, 1962; Huth und MacClure,

1964), nach experimenteller Glycerolintoxikation (Finckh, 1957; Fajers, 1959; Suzuki und Mostofi, 1966) sowie nach akuter venöser Blutstauung (David und Uerlings, 1965). Bei der vorliegenden Infektion mit Mucambo-Virus und der dadurch hervorgerufenen Hepatitis muß außerdem eine hepatogene Azotämie angenommen werden, die ihrerseits wiederum sekundäre Nierenschäden hervorrufen kann.

Im Rahmen der allgemeinen toxischen und zentralen Kreislaufstörung bei der virogenen Hepatitis und Encephalitis muß zusätzlich der Faktor einer intrarenalen Zirkulationsstörung in Rechnung gesetzt werden, zumal ein sludge-Phänomen die Nierenveränderungen einleitet. Die Zirkulationsstörung dürfte dann das Bild der chromoproteinurischen Nephrose vollends manifest werden lassen.

Die Inkongruenz des Schweregrades der Nierenveränderungen und des Fehlens eines Erregernachweises erklärt sich damit aus der organspezifischen Reaktion des Nierengewebes auf einen schweren Virus-Infekt mit Hämolyse, Kreislaufstörung, toxischer Capillarwandschädigung und nachfolgender chromoproteinurischer Nephrose. Die als sekundäre Intoxikationsfolge aufzufassenden Nierenveränderungen bei virgener Encephalitis und Hepatitis legen Vergleiche mit schwer einzuordnenden Nierenbefunden bei menschlichen Virusinfekten nahe.

Literatur

- David, H., Uerlings, I.: Elektronenmikroskopische Befunde an der Niere bei akuter Blutstauung. *Beitr. path. Anat.* **132**, 103—428 (1965).
- Fajers, C. M.: Experimental studies in hemoglobinuric nephrosis. Part II. The enhanced effect on the kidneys of glycerol-induced hemoglobinemia combined with unilateral nephrectomy. *Acta path. microbiol. scand.* **46**, 17—36 (1959).
- Finckh, F. S.: Experimental acute tubular nephrosis following subcutaneous injection of glycerol. *J. Path. Bact.* **73**, 69—85 (1957).
- Freitas Amorim, M., Mello, R. F., Saliba, F.: Envenenamento botrópico e crotálico. *Mem. Inst. Butantan* **23**, 63—108 (1965).
- Gajdusek, D. C.: Virus hemorrhagic fever. Special reference to hemorrhagic fevers with renal syndrome. *J. Pediat.* **60**, 841—857 (1962).
- Hotchin, J., Collins, D. N.: Glomerulonephritis, an late onset disease of mice following neonatal virus infection. *Nature (Lond.)* **203**, 1357—1359 (1964).
- Howitt, B. F.: Recovery of the Coxsackie group of virus from human sources. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **73**, 433—448 (1950).
- Huth, F., MacClure, E.: Morphologische Veränderungen der Niere von Kaninchen nach Injektion von Schlangengift (*Bothrops jararaca*). Frankfurt. *Z. Path.* **74**, 91—108 (1964).
- Kajima, M., Pollard, M.: Ultrastructural pathology of glomerular lesions in gnotobiotic mice with congenital lymphocytic choriomeningitis (LCM) virus infection. *Amer. J. Path.* **61**, 117—139 (1970).
- Krecke, H. J., Strand, M., Dengler, H., Schütterle, G.: Zum akuten Nierenversagen bei Essigsäure-Intoxikation. In: *Akutes Nierenversagen*. Stuttgart: Georg Thieme 1962.
- Lepine, P., Sauter, V.: Contamination de laboratoire avec le virus de la choriomeningite lymphocytaire. *Ann. Inst. Pasteur* **61**, 519—526 (1938).
- Medearis, D. N.: Cytomegalic inclusion disease. *Pediatrics* **19**, 467—480 (1957).
- Piazza, M., Cuccurullo, L., Couelli, V.: Electron microscope observations on renal tissue of mice infected with the MHV-3 hepatitis virus in various phases of development of the disease. *Riv. Anat. pat.* **26**, 347—365 (1964).
- Rooyen, C. E. van, Rhodes, A. J.: *Virus diseases of man*. New York: Thomas Nelson & Sons 1948.
- Sakaguchi, H., Kawamura, S.: The toxic effects of „Habu“ snake venom. on the renal glomerulus. *Electron microscopy*. New York: Academic Press 1962.

- Schüssler, H.: Beitrag zur Morphologie der Haemolyse- und crush-Niere. Frankfurt. Z. Path. **67**, 196—209 (1956).
- Seifert, G., Oehme, J.: Pathologie und Klinik der Cytomegalie. Leipzig: Thieme 1957.
- Smorodintseff, A. A.: The spring-summer tick-borne encephalitis. Arch. ges. Virusforsch. **1**, 468—480 (1940).
- Suzuki, T., Mostofi, F. K.: Electron microscopic studies of acute tubular necrosis. Early changes in proximal convoluted tubules of the rat kidney following subcutaneous injection of glycerin. Lab. Invest. **15**, 1225—1247 (1966).
- Utz, J. P.: Animal kidney infection by viruses isolated from human urine. J. clin. Invest. **39**, 1037—1045 (1960).
- Viruria in man. Progr. med. Virol. **6**, 71—81 (1964).
- Wollnitz, E.: Beitrag zur Frage der Vaccinia generalisata und Nachweis des Virus im Urin. Arch. Derm. Syph. (Berl.) **177**, 186—209 (1938).
- Zollinger, H. H.: Niere und ableitende Harnwege. In: Spezielle Pathologische Anatomie, Bd. 3. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

Professor Dr. F. Huth
Pathologisches Institut der Universität
D-4000 Düsseldorf
Moorenstraße 5
Deutschland