

## Cytological Studies an Harnkanälchenepithelien beim akuten Nierenversagen unter besonderer Berücksichtigung der Sammelrohre

P. BIHL und G. E. SCHUBERT

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

Eingegangen am 30. August 1971

### Cytologic Studies of the Epithelial Cells of Renal Tubules in Acute Renal Failure: Changes in the Collecting Tubules

*Summary.* In acute renal failure significant cytological changes in autopsy specimens are mostly found in epithelial cells of collecting ducts. Nuclear pyknosis and increased eosinophilia of the cytoplasma occur in collecting ducts. With remarkable frequency these changes are more intense in cast-containing collecting ducts. It is hypothesized that an insufficient supply of glucose during the oliguric phase of acute renal failure may be responsible for lesions in the renal medulla, the metabolism of which is predominantly dependent on carbohydrate.

*Zusammenfassung.* Untersuchungen an Nieren von insgesamt 50 Patienten führten zu dem Ergebnis, daß beim akuten Nierenversagen statistisch signifikante cytologische Veränderungen an autoptisch gewonnenem Gewebe vor allem in den Sammelrohreipithelien nachzuweisen sind. Hier treten besonders Kernpyknosen und vermehrte Cytoplasmaeosinophilie auf, die in zylinderhaltigen Kanälchen am stärksten sind. Im Sinne einer Arbeitshypothese wird diskutiert, ob eine unzureichende Glykosezufuhr in der oligurischen Phase des akuten Nierenversagens bei der Entstehung der Läsion dieser vorwiegend vom Kohlenhydratstoffwechsel abhängigen Epithelien des Nierenmarkes eine Rolle spielen könnte.

Das akute Nierenversagen (ANV) in der von Buchborn und Edel (1968) gegebenen Definition ist nach heute weitgehend übereinstimmender Meinung Folge einer Schädigung der Harnkanälchenepithelien. Auf der Suche nach pathologisch-anatomischen Korrelaten zu den in pathophysiologischen und klinischen Studien festgestellten tubulären Funktionsstörungen konzentrierte sich die Aufmerksamkeit des Morphologen vorwiegend auf die Hauptstücke und Mittelstücke. Neben zahlreichen Einzelbefunden erwiesen sich dort als diagnostisch zuverlässigste Befunde eine Schwellung der Tubulusepithelien am Biopsiematerial (Bohle, Jahnecke und Rauscher, 1964; Bohle, 1967; Jahnecke, Bohle und Brun, 1963) und eine Weitstellung der Harnkanälchen an autoptisch gewonnenem Gewebe (Bohle, Herfarth und Krecke, 1960; Schubert, 1968). Den Sammelrohren, vor allem den Epithelien dieses Kanälchenabschnittes wurde dagegen auch von uns bisher wenig Beachtung geschenkt. Da von klinischer Seite jedoch Anhaltpunkte für eine ADH-Refraktärität der Nieren in bestimmten Phasen des ANV vorliegen (Mertz und Sarre, 1962; Buchborn, 1968), schien uns eine eingehendere Untersuchung der Sammelrohre zu lohnen, an denen das antidiuretische Hormon (ADH) angreift (Gottschalk, 1961; Wirtz, 1968). In Ergänzung zu früheren Unter-

suchungen des ANV haben wir daher die Sammelrohre einer genaueren lichtmikroskopischen Überprüfung unterzogen und besonders darauf geachtet, ob zwischen zylinderhaltigen und zylinderfreien Kanälchen Unterschiede im Zellbild bestehen. Zum Vergleich wurden jeweils entsprechende Untersuchungen an Mittelstück- und Hauptstückepithelien derselben Niere durchgeführt und Befunden an Kontrollnieren gegenübergestellt.

### Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an Nieren von insgesamt 50 Personen durchgeführt. Bei 30 Patienten waren die Zeichen eines akuten Nierenversagens nach verschiedensten auslösenden Ursachen vorhanden, in 20 Fällen war die Nierenfunktion bis zum Tod bzw. bis zur Entnahme der Nieren normal:

*Kontrollgruppe 1 (K<sub>1</sub>).* Nieren von 10 Verstorbenen (mittleres Alter 49 Jahre, 21—72 Jahre) mit normaler Funktion bis zum Tode. Gewebsentnahme zur Fixierung  $1/2$ —6 Std post mortem.

*Kontrollgruppe 2 (K<sub>2</sub>).* Nieren von 10 Patienten (mittleres Alter 30,1 Jahre, 11—48 Jahre) mit normaler Funktion bis zur operativen Entnahme eines Organs. Es handelte sich hier um Nieren, die zur Transplantation vorgesehen waren oder wegen gutartiger Tumoren oder Fehlbildungen (kleine Leiomyofibrome, Hufeisenniere etc.) entfernt wurden. Fixierungsbeginn unmittelbar nach Entnahme aus dem lebenden Organismus.

*Akutes Nierenversagen I (ANV I).* Nieren von 15 Patienten (mittleres Alter 46 Jahre, 23—71 Jahre) mit ANV von 1—3 Tagen Dauer. Mit Ausnahme eines Falles (217/67) sind alle Patienten in der oligoanurischen Phase verstorben. Fixierungsbeginn  $1/2$ —6 Std post mortem.

*Akutes Nierenversagen II (ANV II).* Nieren von 15 Patienten (mittleres Alter 55 Jahre, 27—73 Jahre) mit ANV von 4—18 Tagen Dauer. Alle Patienten dieser Gruppe sind in der oligoanurischen Phase verstorben. Fixierungsbeginn  $1/2$ —6 Std post mortem.

Die Fixierung etwa  $2 \times 3 \times 0,6$  cm großer keilförmiger, jeweils die Rindenzone in gesamter Breite und eine Markpyramide enthaltender Nierengewebsstücke erfolgte in 4%igem gepuffertem Formaldehyd. An 7 $\mu$  Paraffinschnitten wurde die histologische Auswertung vorgenommen. Vorversuche mit verschiedenen Färbungen (s. Bihl, 1971) hatten ergeben, daß für unsere Zwecke die HE-Färbung am geeignetsten ist, die allen folgenden Untersuchungen zugrunde liegt. In 400facher Vergrößerung zählten wir an einem großen Schnitt jeder Niere jeweils 1000 Tubulusepithelzellen in folgenden Nephronabschnitten:

1. Sammelrohre (SR) in der Markinnenzone.
2. Partes rectae der Mittelstücke (MS) im Innenstreifen der Markaußenzone.
3. Partes contortae der Hauptstücke (HS) im mittleren Rindenbereich.

In den zylinderreichen Nieren der Gruppen ANV (I) und ANV (II) wurden die Sammelrohre ohne Rücksicht auf den Inhalt durcheinander gezählt, der Lumeninhalt wurde jedoch registriert. Dem Untersucher waren die klinischen Daten bei der Zählung nicht bekannt.

An jeder gezählten Zelle wurden auf Zellkernpyknose und deutlich vermehrte Eosinophilie des Cytoplasmas geachtet. Weitere, in Voruntersuchungen registrierte cytologische Veränderungen (Chromatinverklumpungen des Zellkerns, Kernrandhyperchromasien, bizarre Kernformen, Karyolyse, Karyorhexis) wurden in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt, da Abgrenzungen von postmortalen autolytischen Prozessen und Artefakten dabei besonders schwierig und oft nicht möglich waren (s. Bihl, 1971). Nieren mit einer osmotischen Nephrose wurden in diese Untersuchungsreihe nicht aufgenommen, intercaläre Zellen — soweit identifizierbar — als normale Zellen gezählt.

An 10 Nieren, die teils aus Gruppe ANV I, teils aus ANV II stammten, wurde darüberhinaus die Frage geprüft, ob Sammelrohrepitelien um Harnkanälchenzylinder besonders häufig geschädigt sind. Eine gemeinsame Bearbeitung von Nieren aus beiden Gruppen unter diesem Gesichtspunkt erwies sich als möglich, nachdem die Untersuchungen ergeben hatten, daß zwischen ANV I und ANV II die Zellveränderungen der Sammelrohre nicht signifikant verschieden waren. Im einzelnen wurden nach den oben genannten Kriterien in jedem Prä-

parat die Zellen der Sammelrohre mit und ohne Zylinder getrennt gezählt, wobei aufgrund orientierter Vorversuche zwischen granulierten, hyalinen und pigmentierten Zylindern nicht unterschieden wurde.

#### *Statistische Methoden*

Die Frage, ob zwischen den 4 Untersuchungsgruppen Unterschiede bestehen, wurde mit dem Mittelwertsvergleich nach Mann-Whitney (= U-Test) geprüft, soweit die hierbei vorauszusetzende Varianzgleichheit erfüllt schien; Signifikanzniveau  $2\alpha = 0,05$ . In Fällen, in denen die Varianzgleichheit nicht erfüllt schien, wurde der Mediantest durchgeführt; Signifikanzniveau ebenfalls  $2\alpha = 0,05$ .

Zur Prüfung der Frage, ob zwischen den zylinderhaltigen und den zylinderfreien Sammelrohren Unterschiede bestehen, wurden die Mittelwerte mit den Wilcoxon-Test (Mittelwertsvergleich für gepaarte Stichproben) verglichen; Signifikanzniveau  $2\alpha = 0,05$ .

#### **Ergebnisse**

##### *Zellkernpyknosen*

Im Bereich der Sammelrohre sind die Zellkernpyknosen in den Gruppen ANV I und ANV II signifikant gegenüber beiden Kontrollgruppen vermehrt (s. Abb. 1a). Darüberhinaus enthält die Kontrollgruppe  $K_1$  signifikant mehr Pyknosen der Sammelrohrepitelien als die Gruppe  $K_2$ . In den Mittelstücken ist nur zwischen Gruppen den ANV I und  $K_2$  ein signifikanter Unterschied festzustellen, während in den Hauptstücken keine signifikanten Differenzen erkennbar sind. Trotzdem fällt auf, daß die ANV-Gruppen erheblich höhere Pyknosezahlen erhalten als die Kontrollen und auch die Varianz wesentlich größer ist. Zwischen ANV I und ANV II ergeben sich in keiner Gruppe Unterschiede.

##### *Vermehrte Eosinophilie des Cytoplasmas*

In den Sammelrohren von ANV I und ANV II tritt die Cytoplasmaeosinophilie signifikant häufiger auf, als in beiden Kontrollgruppen, in denen wiederum  $K_1$  signifikant mehr eosinophile Sammelrohrepitelien enthält als  $K_2$  (s. Abb. 1b). In den Mittelstücken ist dieser Befund nur bei  $K_1$  gegenüber  $K_2$  signifikant vermehrt. Die Hauptstücke weisen keine signifikanten Unterschiede auf. Es fällt jedoch wie bei den Kernphyknosen auf, daß in den ANV auch hier wesentlich mehr Zellen mit eosinophilerem Cytoplasma vorkommen und die Varianz wesentlich größer ist als bei den Kontrollen.

##### *Zellveränderungen um Sammelrohre mit und ohne Zylinder*

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse an Sammelrohrepitelien um zylinderhaltige und zylinderfreie Lumina führte zu folgenden Ergebnissen: Sammelrohre mit Zylindern haben gegenüber Sammelrohren ohne Zylinder vermehrte Zellkernpyknosen und häufiger eine verstärkte Eosinophilie des Cytoplasmas (s. Abb. 2).

#### **Diskussion**

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß beim akuten Nierenversagen (ANV) des Menschen in autoptisch gewonnenem Nierengewebe statistisch eindeutige Abweichungen vom normalen Zellbild besonders leicht im Bereich der Sammelrohrepitelien des Markes nachzuweisen sind. Die nur tubulometrisch

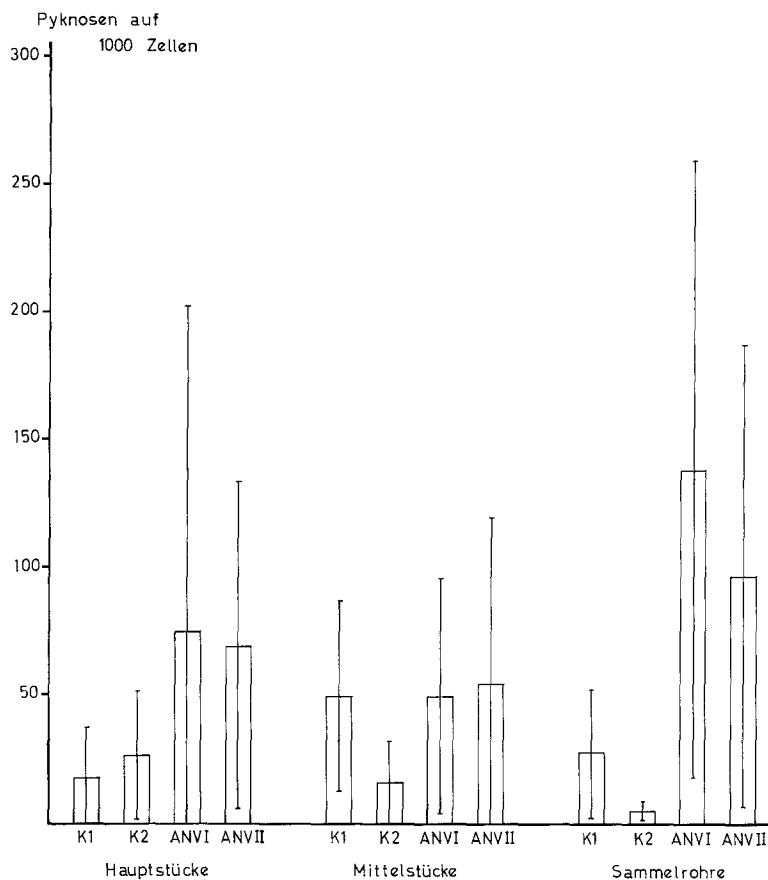


Abb. 1a. Häufigkeit der Zellkernpyknosen in verschiedenen Nephronabschnitten.  $K_1$  Kontrollgruppe 1 (Nieren mit normaler Funktion innerhalb von  $\frac{1}{2}$ —6 Std post mortem fixiert);  $K_2$  Kontrollgruppe 2 (Nieren mit normaler Funktion, lebensfrisch fixiert); *ANV I* Akutes Nierenversagen Gruppe I (Dauer des ANV bis zu 3 Tagen); *ANV II* Akutes Nierenversagen Gruppe II (Dauer des ANV 4—18 Tage)

erfaßbaren Epithelschwellungen und Weitstellungen der Harnkanälchen, vor allem der Haupt- und Mittelstücke wurden dabei bewußt ausgeklammert. Sowohl bei kurzdauernden als auch bei länger verlaufenden ANV finden sich signifikant häufiger Kernpyknosen und eine stark vermehrte Cytoplasmaeosinophilie in den Sammelrohrepithelien als in Sammelrohren normaler Nieren.

Vergleichen wir diese Zeichen einer Zellschädigung in zylinderhaltigen und zylinderfreien Sammelrohren, so ergibt sich, daß die Epithelien um Zylinder davon wesentlich häufiger betroffen sind. Harnkanälchenzylinder führen offenbar, bleiben sie einmal im Kanälchenlumen liegen, zur Schädigung der angrenzenden Sammelrohrepithelien, wobei noch unklar ist, in welcher Weise diese Läsion zustandekommt.

Es wäre denkbar, daß vor allem pigmentierte Zylinder während der Passage der Chromproteine durch die Kanälchen entstandene Substanzen enthalten,

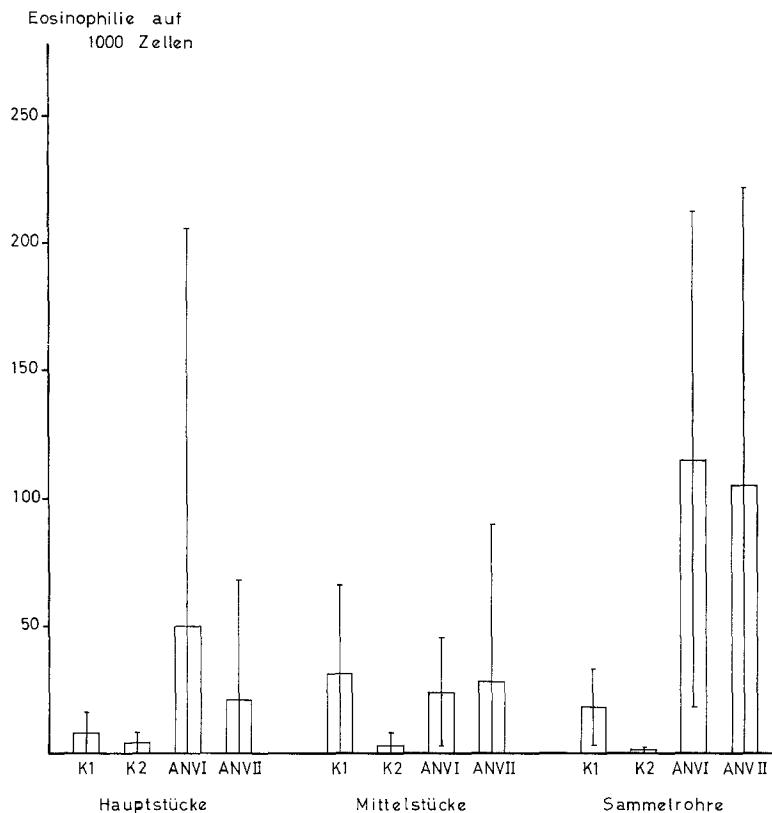


Abb. 1b. Häufigkeit der Zellen mit "vermehrter Eosinophilie des Cytoplasmas". Beschriftung wie Abb. 1a

die Sammelrohrepithelien bei längerer Einwirkung zu schädigen vermögen (Baker und Dodds, 1925; Bywaters und Stead, 1944; Corcoran und Page, 1945, 1947; Lucke, 1946; Zollinger, 1952), wie z.B. Häm-Proteine, die nach neueren Untersuchungen beim Zusammentreffen mit einer Hypoxämie doch schädigend auf Tubuluszellen einwirken können (Braun u. Mitarb., 1970). Darüberhinaus könnte allein durch die längere Anwesenheit des Zylinders der Stoffaustausch zwischen der Sammelrohrzelle und ihrer Umgebung gestört und dadurch die Zelle geschädigt werden. Diese Annahme findet eine Stütze in neueren biochemischen und physiologischen Untersuchungen, denenzu folge die Sammelrohrzelle ihre Energie vorwiegend aus der Glykolyse gewinnt und die dazu benötigte Glucose weniger aus dem peritubulären Plasmastrom als aus dem Tubuluslumen stammt (Krebs, 1969; Deetjen, 1971). Der Endharn enthält entgegen früherer Annahmen beim Gesunden regelmäßig Glucose, wie spezifische enzymatische Nachweismethoden ergeben haben (Schubert u. Mitarb., 1964; Renschler, 1965; Deetjen, 1971). Der  $O_2$ -Bedarf dieser Zellen, die arm an Mitochondrien sind und somit wenig Atmungsfermente und Fermente für die oxydative Phosphorylierung enthalten, ist zwar gering (Thoenes, 1964), infolge der Anurie könnte jedoch die wichtige Glucosezufuhr von der tubulären Seite unzureichend

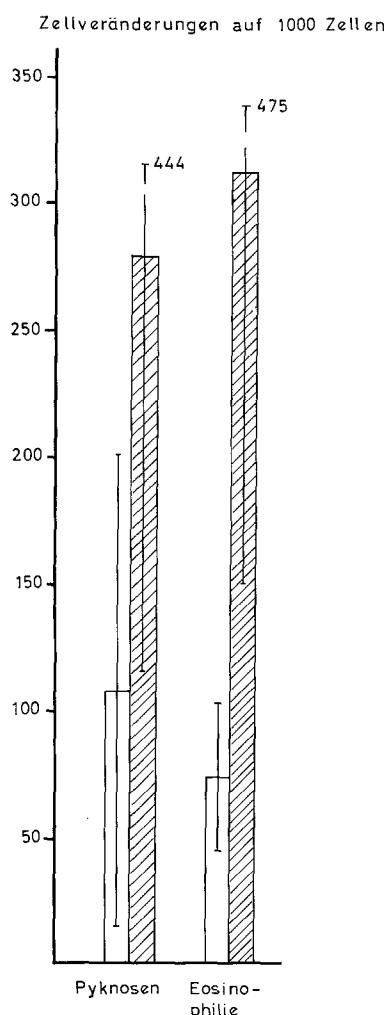


Abb. 2. Häufigkeit der Kernpyknosen und Cytoplasmaeosinophilie in Sammelrohren der Markinnenzone mit ■ und ohne □ Zylinder in den Gruppen ANV I und II

sein, zumal entgegen vereinzelten Angaben eine Glucosurie im ANV die Ausnahme zu sein scheint (Wetzels, 1965). Damit wäre auch erklärbar, warum wir allgemein in Sammelrohren des Markes beim ANV so häufig eindeutige Zeichen der Zellschädigung finden, obwohl den Sammelrohreipithelien die geringste Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoffmangel zugesprochen wird.

Außer diesen auffälligen Befunden an Sammelrohren sind in beiden Gruppen der ANV häufiger als in Kontrollnieren Kernpyknosen, bizarre Kernformen und Chromatinverklumpungen der Hauptstückepithelien sowie Chromatinverklumpungen der Mittelstückkerne vorhanden (Bihl, 1971). Darüberhinaus werden neben den Hauptstücken auch in Mittelstücken und Sammelrohren der ANV flache Epithelregenerate gefunden, die in Kontrollnieren fehlen. Die Varianz dieser Ergebnisse ist jedoch zu groß, um eine statistisch eindeutige Aussage zu ermöglichen (Bihl, 1971). Diese Varianz ist Ausdruck der in menschlichem Unter-

suchungsgut schwer vermeidbaren Uneinheitlichkeit der Gruppen hinsichtlich Grundleiden, Verlauf der Agonie und Todesursache, zum Teil jedoch auch durch autolytische Prozesse bedingt.

Es stellt sich daher die Frage, ob diese Befunde den tatsächlichen Zustand *in vivo* wiedergeben. Die fortschreitende Zunahme der beschriebenen Veränderungen von Gruppe K<sub>2</sub> über K<sub>1</sub> bis zu ANV I und II (s. Abb. 2 und 3) wäre teilweise auch damit erklärbar, daß postmortale Vorgänge, die in normalen Nieren schließlich ebenfalls zu diesem Bild führen können, beim ANV intensiver oder schneller ablaufen, weil eine intravital vorhandene, lichtoptisch indes nicht identifizierbare Tubulusrandschädigung diesen agonalen oder postmortalen Strukturwandel der Zelle beschleunigt.

Bei aller Zurückhaltung in der Bewertung zytologischer Bilder im Autopsiepräparat kann nach unseren Beobachtungen die Häufung bestimmter Zellveränderungen an bis zu 6 Std nach dem Tod fixiertem Nierengewebe im ANV doch als Zeichen einer intravitalen Tubulusepithelschädigung angesehen werden. Wenn auch die Befunde an den Sammelrohresepithelien im ANV allein nicht ausreichen, die ADH-Refraktärigkeit der Nieren während der polyurischen Phase zu erklären, so dürfen wir doch annehmen, daß die lichtoptisch erkennbaren Zellschädigungen zu den Funktionsstörungen dieses Nephronabschnittes beitragen und Ansatzpunkte zu weiteren Untersuchungen bieten.

### Literatur

- Baker, S. L., Dodds, E. C.: Obstruction of the renal tubules during the excretion of hemoglobins. *Brit. J. exp. Path.* **6**, 247 (1925).
- Bühl, P.: Tubulusschäden beim akuten Nierenversagen. Vergleichende cytologische Untersuchungen an Hauptstücken, Mittelstücken und Sammelrohren beim akuten Nierenversagen und in normalen Nieren des Menschen. Inauguraldissertation, Tübingen 1971.
- Bohle, A.: Neue Ergebnisse der Nierenforschung aus pathologisch-anatomischer Sicht (Versuch einer Korrelation von Struktur und Funktion beim akuten Nierenversagen). *Ärztl. Fortb.* **17**, 528—534 (1967).
- Herfarth, Ch., Krecke, H. J.: Beitrag zur Morphologie der Niere beim akuten Nierenversagen. *Klin. Wschr.* **38**, 152—164 (1960).
- Jahnecke, J., Rauscher, A.: Vergleichende histometrische Untersuchungen an biotisch und autoptisch gewonnenem Nierengewebe mit normaler Funktion und beim akuten Nierenversagen. *Klin. Wschr.* **42**, 1—12 (1964).
- Braun, S. R., Weiss, F. R., Keller, A. I., Ciccone, J. R., Preuss, H. G.: Evaluation of the renal toxicity of heme proteins and their derivatives: a role in the genesis of acute tubule necrosis. *J. exp. Med.* **131**, 443—460 (1970).
- Buchborn, E.: Störungen der Harnkonzentrierung, Handbuch der inneren Medizin, 5. Aufl., Bd. VIII/1, S. 491—673. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Edel, H.: Akutes Nierenversagen, Handbuch der inneren Medizin, 5. Aufl., Bd. VIII/2, S. 942—1083. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Bywaters, E. G. L., Stead, J.: The production of renal failure following injection of solution containing myohaemoglobin. *Quart. J. exp. Physiol.* **33**, 53 (1944/46).
- Corcoran, A. C., Page, I. H.: Genesis of crush syndrome. *J. Lab. clin. Med.* **30**, 351—352 (1945).
- — Crush-syndrom: Posttraumatic anuria. *J. Amer. med. Ass.* **134**, 436—441 (1947).
- Deetjen, P.: Moderne Aspekte der Glukoseresorption. In: Bohle, A. und G. E. Schubert, Fortschritte der Nephrologie, Niere und Stoffwechsel, juxtaglomerulärer Apparat, S. 3—9. Stuttgart-New York: F. K. Schattauer 1971.
- Gottschalk, C. W.: Micropuncture studies of tubular function in the mammalian kidney. *Physiologist* **4**, 35 (1961).
- Jahnecke, J., Bohle, A., Brun, C.: Über vergleichende Untersuchungen an Nierenpunktionszylindern bei normaler Nierenfunktion und bei akutem Nierenversagen. *Klin. Wschr.* **41**, 371—376 (1963).

- Krebs, H. A.: Renal carbohydrate and fatty acid metabolism. In: Thurau, K. und H. Jahr-märker, Renal transport and diuretica, S. 1—9, Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Lucke, B.: Lower nephron nephrosis. The renal lesions of the crush syndrome, of burns, transfusions and other conditions affecting the lower segments of the nephrons. Milit. Surg. **99**, 371—396 (1946).
- Mertz, D. P., Sarre, H.: Der renale Diabetes insipidus in der polyurischen Phase des akuten Nierenversagens. Klin. Wschr. **40**, 23—32 (1962).
- Renschler, H. E.: Der Einfluß der Nierenfunktion auf die Glukoseausscheidung Gesunder. Habil.-Schr. Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg 1965.
- Schubert, G. E.: Die pathologische Anatomie des akuten Nierenversagens. Erg. allg. Path. path. Anat. **49**, 1—112 (1968).
- Schuster, R. P., Baum, P.: Physiologische Glucosurie bei verschiedenen Diuresezuständen. Klin. Wschr. **42**, 619—622 (1964).
- Thoenes, W.: Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie. Stuttgart: Thieme 1964.
- Wetzel, E.: Die Aktivität des Tubulusepithels beim akuten Nierenversagen. Fortschr. Med. **83**, 79—82 (1965).
- Wirtz, H.: Tubulusfunktionen, Membrantransporte, Harnkonzentrierung und Diureseformen. In: Handbuch der Inneren Medizin, 5. Aufl., Bd. VIII/1, S. 99—136. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1968.
- Zollinger, H. U.: Anurie bei Chromoproteinurie. Stuttgart: Thieme 1952.

Dr. P. Bihl  
Priv.-Doz. Dr. G. E. Schubert  
Pathologisches Institut der Universität  
D-7400 Tübingen, Liebermeisterstraße 8  
Deutschland