

Über eine spontane Nephropathie bei Wistarratten

Die licht- und elektronenmikroskopischen Glomerulumveränderungen

B. Kraus und H. Cain

Pathologisches Institut des Katharinenhospitals Stuttgart
(Direktor: Prof. Dr. H. Cain)

Eingegangen am 3. April 1974

A Spontaneous Nephropathy of Wistar-Type Rats

The Light and Electron Microscopic Changes of the Glomerula

Summary. All the animals of a Wistar-type rat strain spontaneously fell ill with a nephropathy with proteinuria, polydipsia, and polyuria. The glomerular changes are similar to those of the nephrotic syndrome, also to the so-called focal glomerulosclerosis of man and the aminonucleoside nephrosis of the rat. Their quantitative evaluation, according to age, showed initial slight focal changes at the age of 2–3 months. They spread to more and more glomerula and, also become more severe from the 14–16th month of life. At the age of 25–29 months, 43 out of 94% diseased glomerula were partially or totally obliterated. Light microscopy of capillary walls and mesangium showed a PAS-positive thickening; podocytes accumulated protein in hyaline droplets; endothelial cells in late stages showed a fatty degeneration. In electron microscopic study we found basement membrane-like deposits between endothelial (mesangial) cells and the thickened and “wrinkled” basement membrane. The podocytes, when fusion of their foot processes occurs, often lie flat on the lamina rara externa. In addition to protein droplets they contain finely dispersed material in vacuoles. In all cells that take part in the filtration process, brown-pigmented residual bodies may appear in old animals. The severity of glomerular changes can be influenced in special experiments. Aging cannot be the only cause of the disease, although it plays a role as a complicating factor. Spontaneous nephropathy apparently is not rare in experimental animals; it can overlap experimentally induced changes.

Zusammenfassung. Alle Tiere eines institutseigenen Rattenstammes vom Wistarotyp erkranken spontan an einer Nephropathie mit Proteinurie, Polydipsie und Polyurie. Die glomerulären Veränderungen haben Gemeinsamkeiten mit denen des nephrotischen Syndroms und der sog. fokalen Glomerulosklerose des Menschen wie auch mit der Aminonucleosid-nephrose der Ratte. Ihre quantitative Wertung in Abhängigkeit vom Alter ergibt erste diskrete Veränderungen bei 2–3 Monate alten Ratten. Sie breiten sich allmählich auf immer mehr Glomerula aus und nehmen vom 14.–16. Lebensmonat an auch im Schweregrad zu. Bei 25–29 Monate alten Tieren sind von durchschnittlich 94% erkrankten Glomerula 43% teilweise oder total obliteriert. Lichtmikroskopisch zeigen Capillarschlingen und Mesangium eine PAS-positive Verdickung, die Podocyten speichern Eiweiß in hyalintropfiger Form, die Endothelien sind in Spätstadien häufig verfettet. Elektronenmikroskopisch finden sich Ablagerungen basalmembranartiger Massen zwischen Endothel- bzw. Mesangiumzellen und der verdickten und „gefältelten“ Basalmembran. Die Podocyten liegen bei zunehmendem Verstreichen ihrer Fortsätze flach der Lamina rara externa auf. Neben Eiweißtropfen enthalten sie Vacuolen mit feinflockigem Inhalt. In allen am Filtrationsprozeß beteiligten Zellen können bei alten Tieren braun pigmentierte Residualkörper auftreten. Der Schweregrad der Glomerulumveränderungen lässt sich experimentell beeinflussen. Der Altersprozeß kann nicht als alleinige Ursache der Erkrankung angesehen werden, er spielt aber als komplizierender Faktor eine Rolle. Die spontane Nephropathie ist bei Versuchstieren offenbar nicht selten, sie kann experimentell gesetzte Veränderungen überlagern.

In früheren Untersuchungen an Wistaratten (BD I-Ratten vom Wistar-Typ) haben wir uns mit den morphologischen und histochemischen Eigenschaften eines braunen Pigmentes befaßt, das bei alternden Tieren in großen Mengen im Tubulusepithel angehäuft wird (Cain und Kraus, 1972). Wir stellten fest, daß die Bildung dieses Pigmentes mit einer langdauernden Rückresorption von Eiweiß in ursächlichem Zusammenhang steht. Da die Tubulusepithelien bei unseren Ratten quantitativ mehr Eiweiß in sich aufnehmen, als sie stoffwechselmäßig bewältigen können, resultiert zwangsläufig eine intracelluläre Eiweiß-Stapelung, die, gemeinsam mit weiteren komplizierenden Faktoren, schließlich zur Bildung von pigmentierten Residualkörpern führt. Ursache der massiven Proteinurie ist eine erhöhte Durchlässigkeit der glomerulären Capillaren.

In den vorliegenden Untersuchungen soll geklärt werden, ob es sich bei solcher Permeabilitätsänderung der Glomerula nur um eine funktionelle Erscheinung handelt oder ob auch morphologische Glomerulumveränderungen nachweisbar sind und — gegebenenfalls — welchen Charakter sie haben. Da die Nierenkrankung regelmäßig und ausnahmslos alle männlichen und weiblichen Tiere unseres Stammes befällt und sich im Alter auffällig steigert, sollen die glomerulären Befunde zunächst quantitativ von ihrem frühesten Auftreten bis zum Tod der Tiere in ihrer Abhängigkeit vom Alter ermittelt werden. Sie sollen sodann mit einigen Parametern, die die veränderte Nierenfunktion kennzeichnen, verglichen werden. Schließlich interessieren die Ursachen, die für die Entstehung dieser eigenartigen Glomerulopathie in Frage kommen.

Unsere Befunde sind aus zwei Gründen interessant. Einmal können sie nützlich sein für das Verständnis bzw. die Klärung ähnlicher humanpathologischer Prozesse (z.B. beim nephrotischen Syndrom und der sog. fokalen Glomerulosklerose), zum anderen sind sie, da die Erkrankung bei Versuchstieren nicht nur des eigenen Stammes auftritt, bedeutsam für die tierexperimentelle Pathologie überhaupt.

Untersuchungsgut und Methodik

Verwendet wurden insgesamt 126 männliche und weibliche Ratten vom Wistar-Typ (BD I) in verschiedenen Lebensaltersstufen. Die jüngste untersuchte Tiergruppe hat ein Alter von 2—3 Monaten, die älteste ist 25—29 Monate alt. Die Ratten dieses Stammes werden höchstens $2\frac{1}{2}$ Jahre alt. Immer 6 Tiere sind in Makrolonkäfigen untergebracht. Nach 4 Wochen langer Säugung durch die Mutter erhalten die jungen Tiere die Standard-Diät Altromin R und M, Serienbezeichnung 1324 (10,0 mm); als Trinkflüssigkeit dient in Flaschen abgefülltes Leitungswasser. Die Tiere wurden mittels Durchtrennung der Aorta ascendens getötet.

1. Morphologische Untersuchungen

Lichtmikroskopie: Fixierung der lebensfrisch entnommenen Nieren in 10% Formalin. Scharlachrot-Färbungen an Gefrierschnitten. Einbettung in Paraffin, Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, Goldner, Pearse, PAS, Kresylviolett, Kongorot. Versilberung nach Movat an semidünnen Schnitten (Ultramikrotom LKB) nach Einbettung kleiner Gewebswürfel in Methacrylat.

Elektronenmikroskopie: Fixierung kleiner Gewebswürfel 2 Std lang in 2,25% Glutaraldehyd. Einbettung in Epon. Kontrastierung der Schnitte (Ultramikrotom LKB) mit Uranylacetat und Bleizitrat. Elektronenmikroskop Philips EM 300.

2. Quantitative Wertung der glomerulären Veränderungen

In PAS-gefärbten Schnittpräparaten durch die ganze Nierenlänge von 70 Tieren der Altersgruppen 2—3, 6—8, 10—12, 14—16, 17—20 und 25—29 Monate wurden mit dem 40er Objektiv pro Niere 100 Glomerula ausgezählt und nach folgendem Schema beurteilt:

- a) nicht veränderte Glomerula;
- b) diskret bis gering veränderte Glomerula;
- c) mäßiggradige Veränderungen der Glomerula;
- d) starke Veränderungen der Glomerula.

Anhand dieser Beurteilungen lassen sich Zahlenformeln für die einzelnen Nieren aufstellen, die, nach Berechnung der Mittelwerte für die verschiedenen Altersgruppen, in einer graphischen Darstellung verglichen werden.

3. Trinkmenge, Urinmenge, renaler Eiweißverlust

56 Tiere (7 Gruppen zu je 8 Ratten; Alter: 4, 8, 12, 16, 20—23, 25 und 28 Monate) wurden jeweils 15 Tage lang in Stoffwechselkäfigen gehalten. Nach 5 Tagen Gewöhnung wurden 10 Tage lang Trinkwasserverbrauch und ausgeschiedene Urinmenge in 24 Std-Abständen zwischen 9 und 10 Uhr morgens gemessen. Der tägliche renale Eiweißverlust wurde aus dem mittleren Eiweißgehalt des Urins in g/l (Biuret) und der mittleren täglichen Urinmenge errechnet.

4. Serumbefunde

Harnstoff-Stickstoff (Urease-Methode); Kreatinin (Jaffesche Reaktion); Gesamt-Eiweiß Biuret-Methode); Gesamt-Cholesterin (Kolorimetrisch).

Ergebnisse

Lichtmikroskopie

Frühestens im Alter von 2—3 Monaten findet man ganz vereinzelt Glomerula mit diskreten, PAS-positiven Verdickungen der Capillarwand und des Mesangiums (Abb. 1a). Die glomeruläre Basalmembran kann ebenfalls bereits zu diesem Zeitpunkt, stärker aber bei 6—8 Monate alten Tieren, eine feine Fältelung aufweisen. Der glomeruläre Kapselraum enthält oft schwach eosinophiles Material. Die Endothelien, deutlicher die Deckzellen, können Eiweiß in hyalin-tropfiger Form speichern.

Vom 14.—16. Lebensmonat an nimmt der Schweregrad der Veränderungen in den Glomerula deutlich zu. Ihre Capillarwand ist verstärkt PAS-positiv und in solchen Bezirken verbreitert. Verdickt ist auch das Mesangium. Diese Veränderungen betreffen im allgemeinen aber noch nicht das ganze Glomerulum, sondern befallen herdförmig einzelne Lobuli. Gehäuft findet man eine Fältelung der Basalmembran der Capillarwand, die zuweilen doppelt konturiert und dadurch „aufgesplittet“ erscheint. Bei Zunahme aller Befunde kommt es zu einer Einengung der Capillarlumina. Gleichzeitig sind Verwachsungen von benachbarten Glomerulumcapillaren und von Capillarwänden mit der Bowman'schen Kapsel zu erkennen (Abb. 1b). Deckzellen speichern intensiv hyaline Tropfen.

Stark ausgeprägte Veränderungen der Glomerula sind bei Tieren jenseits des 25. Lebensmonats zu beobachten. Sie führen durch Obliteration der Capillarlumina bei gleichzeitiger Verwachsung der Lobuli mit dem inneren Kapselblatt zur Einengung oder zum vollständigen Schwund des Filtrationsraumes (Abb. 1c). Mit weiterer Zunahme dieser Prozesse bei sehr alten Tieren geht auch der fokale Charakter der Glomerulumerkrankung, wie er sich bei jungen Tieren abzeichnet hat, weitgehend verloren. Auffällig ist, daß die Kerne sowohl der Endothelien als auch der Mesangium- und Deckzellen innerhalb der zunehmend verödeten Glomerula im allgemeinen gut erkennbar bleiben. Als zusätzliches Phänomen sind bei HE schaumig-wabig aufgetriebene Endothelien zu sehen (Abb. 1b, c), deren Cytoplasma scharlachrot-positive Lipoidablagerungen besitzt. Anhäufungen von Fettmaterial lassen sich ferner im Mesangium und als vereinzelte Tropfen im Deckepithel nachweisen. Zuweilen ist in den Zellen der Glomerula auch körniges braunes Pigment zu finden.

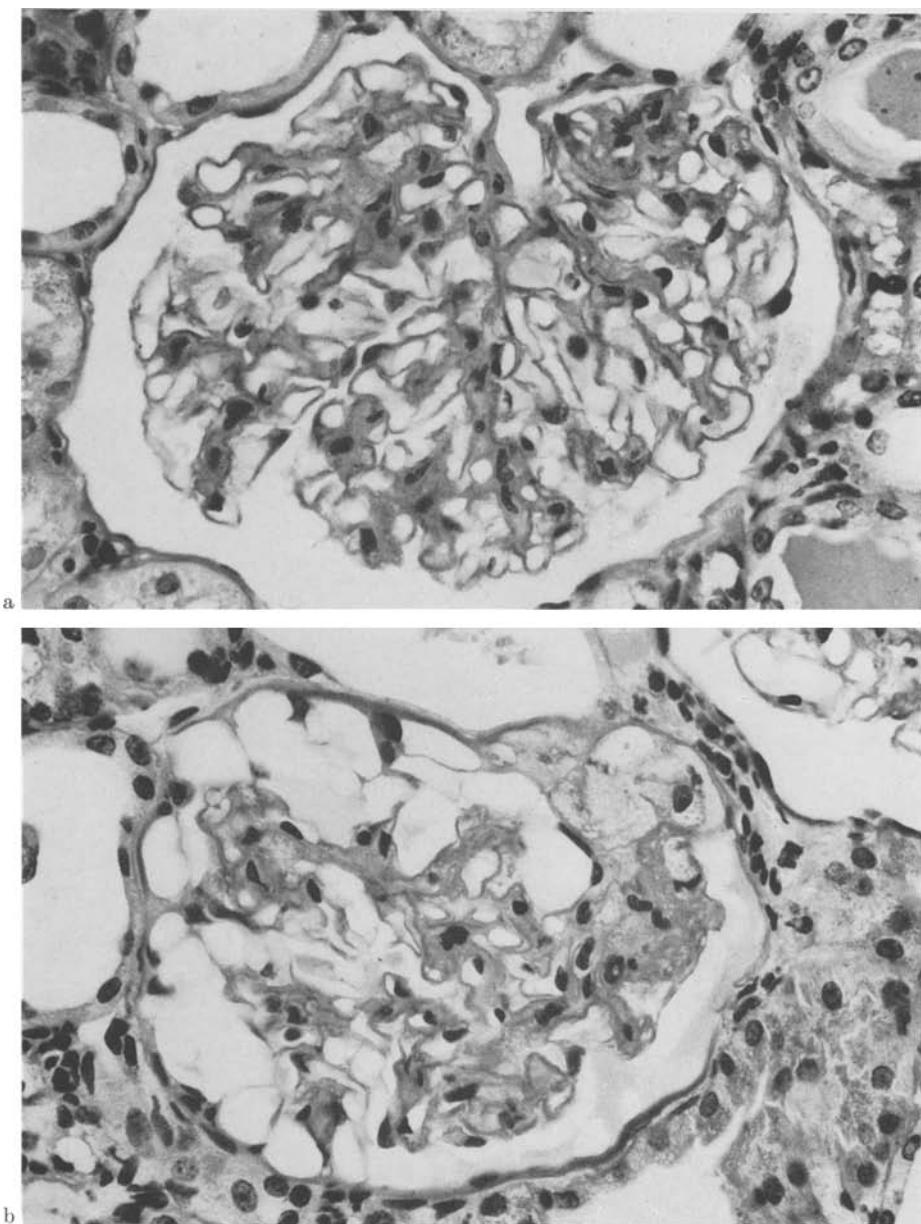


Abb. 1a—c. Verschiedene Schweregrade der Glomerulumveränderungen. PAS 1:625. a Dis-
kret verändertes Glomerulum mit leichter, herdförmiger, PAS-positiver Verdickung des
Mesangiums. 8 Monate alte Wistarratte. b Mäßiggradig alteriertes Nierenkörperchen. PAS-
positive Verdickung von Capillarwand und Mesangium, beginnende Kapseladhäsionen.
Schaumzellen infolge Endothelverfettung (rechts oben). Exsudat im Kapselraum. 29 Monate
alte Wistarratte. c Stark verändertes Glomerulum mit totaler Obliteration des Kapselraumes.
Endothelverfettung. Subendotheliale, PAS-positive Ablagerungen. 29 Monate alte Wistarratte

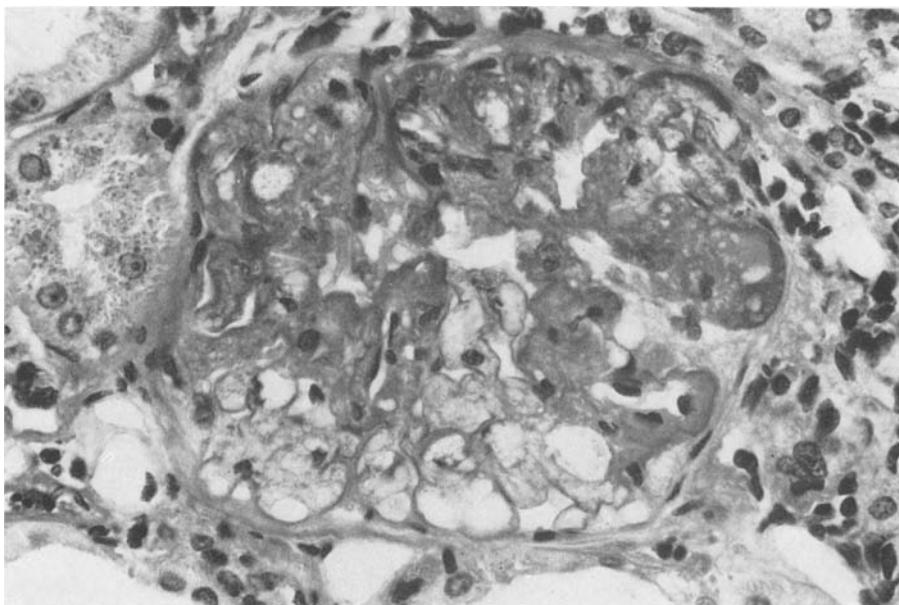


Abb. 1c

Versilberungen nach Movat an Methacrylat-eingebettetem Gewebe (Abb. 2a—c) zeigen, daß die Verdickung der glomerulären Capillarwand vorzugsweise auf Ablagerungen homogener Massen zwischen Endothel und Basalmembran beruht. Auf diese Erscheinung ist die Einengung des Capillarlumens zurückzuführen.

Elektronenmikroskopie

In den gering veränderten Glomerula der jüngeren Tiere ist die Schichtung der Basalmembran in Lamina rara interna, Lamina densa und Lamina rara externa gewöhnlich gut erkennbar. Man sieht aber hin und wieder bereits eine ungleichmäßige Dichte der Basalmembran-Substanz.

In stärker erkrankten Nierenkörperchen variiert die Breite der Basalmembran deutlicher, vor allem die innere Schicht wirkt aufgelockert. Oft ist sie nicht mehr scharf abgrenzbar gegenüber basalmembranartigen Massen, die zwischen ihr und dem Endothel bzw. den Mesangiumzellen liegen (Abb. 3a). Diese Massen erscheinen optisch heller als die Basalmembransubstanz selbst. Auch elektronenmikroskopisch ist die lichtoptisch beschriebene starke Schlängelung und Fältelung der glomerulären Basalmembran nachweisbar. Dabei liegen die Falten so dicht nebeneinander, daß man Anschnitte von Mesangium- und Endothelzellen zwischen ihnen nur noch vereinzelt erkennen kann (Abb. 3 b).

In den Endothelien schwer veränderter Glomerula finden sich neben tropfigen Eiweißinschlüssen besonders häufig Ablagerungen von Fettsubstanzen und vereinzelt auch stark osmophile, körnige und lamelläre Strukturen, die den lichtmikroskopisch beschriebenen, braun pigmentierten Gebilden entsprechen (Abb. 4).

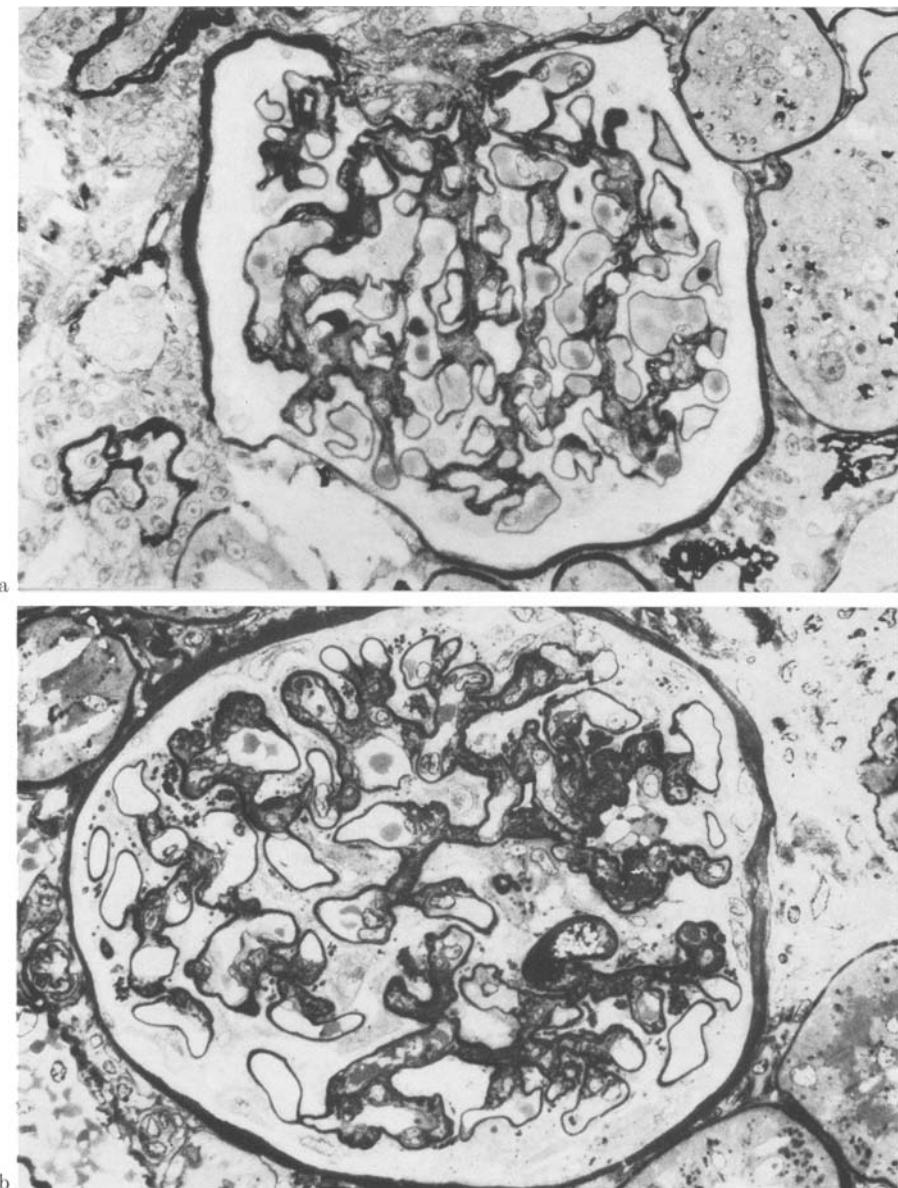


Abb. 2a—c. Verschiedene Schweregrade der Glomerulumveränderungen bei einer 24 Monate alten Wistar-Ratte. Versilberung nach Movat an semidünnen Schnitten. 1:625. a Diskrete, herdförmige Mesangium- und Capillarwandverdickung. b Neben zarten Capillaranschnitten mäßige Verdickung von Mesangium und Capillarwand. Endothelverfettung (rechts Mitte). Versilberbare Tropfen im Deckepithel. c Stark verändertes Glomerulum mit Ablagerungen homogener Massen zwischen Endothel und Basalmembran (vor allem unten im Bild). Kapseladhäsionen

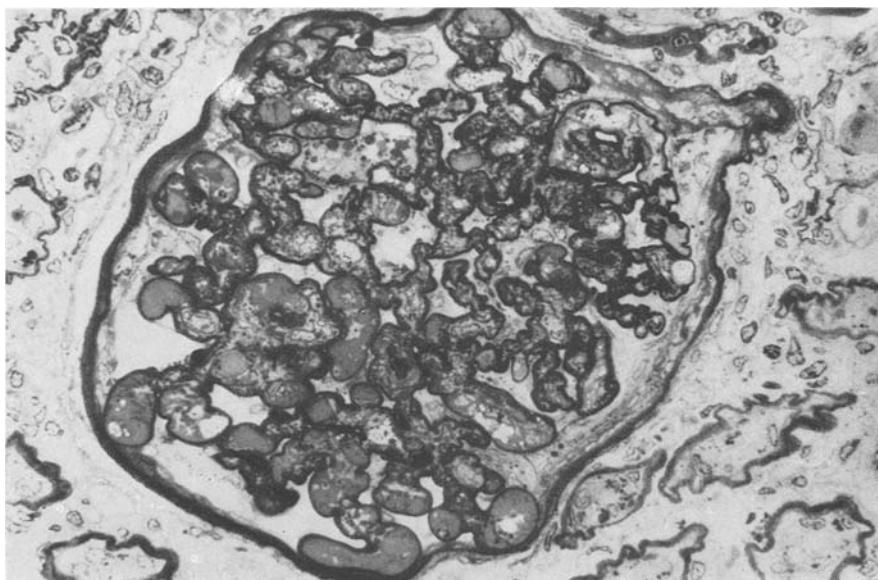


Abb. 2c

Für die glomerulären Deckepithelien ist die Einengung bzw. der Schwund der Filtrationsschlüsse zwischen den verbreiterten Fußfortsätzen charakteristisch (Abb. 5). Oft liegen die Epithelien dadurch mit ihrem gesamten Cytoplasmaleib flach der Lamina rara externa auf. Ein zweites eindrucksvolles Phänomen ist die ganz erhebliche Eiweißspeicherung der Deckzellen. Neben rundlichen, scharf begrenzten Tropfen unterschiedlicher Größe und Osmiophilie finden sich zahlreiche, von einer Membran umgebene Vacuolen. Sie erscheinen teils optisch leer, häufiger enthalten sie feinflockiges und granuläres, schwach osmiophiles Material (Abb. 6). Gelegentlich sind Einbuchtungen der Podozytenoberfläche zu erkennen, die mit ähnlichem Material gefüllt sind. Im übrigen können auch die Deckzellen kräftig osmiophile Pigmentablagerungen enthalten.

Quantitative Wertung der glomerulären Veränderungen (Abb. 7)

Bei 2—3 Monate alten Tieren sind nur 3 von 100 Glomerula diskret verändert (97/3/—/—). Solche leichten Alterationen lassen sich im Alter von 6—8 Monaten bereits an 40 % der Nierenkörperchen erkennen (60/40/—/—). Bei 10—12 Monate alten Tieren ist ein Fortschreiten der glomerulären Erkrankung nicht zu verzeichnen (63/37/—/—), während im Alter von 14—16 Monaten schon 60 % der Glomerula verändert sind (40/52/6/2). 17—20 Monate alte Tiere weisen 89 % veränderte Glomerula auf (11/79/9/1). Die älteste Tiergruppe (25—29 Monate) zeigt ein weiteres Fortschreiten der Erkrankung mit nur 6 % normalen, 51 % diskret bis gering, 30 % mäßiggradig und 13 % stark veränderten Nierenkörperchen (6/51/30/13). Es nimmt also im Laufe des Lebens der Wistarratten sowohl der Schweregrad der Erkrankung als auch die Zahl der befallenen Nierenkörperchen regelmäßig kontinuierlich zu.

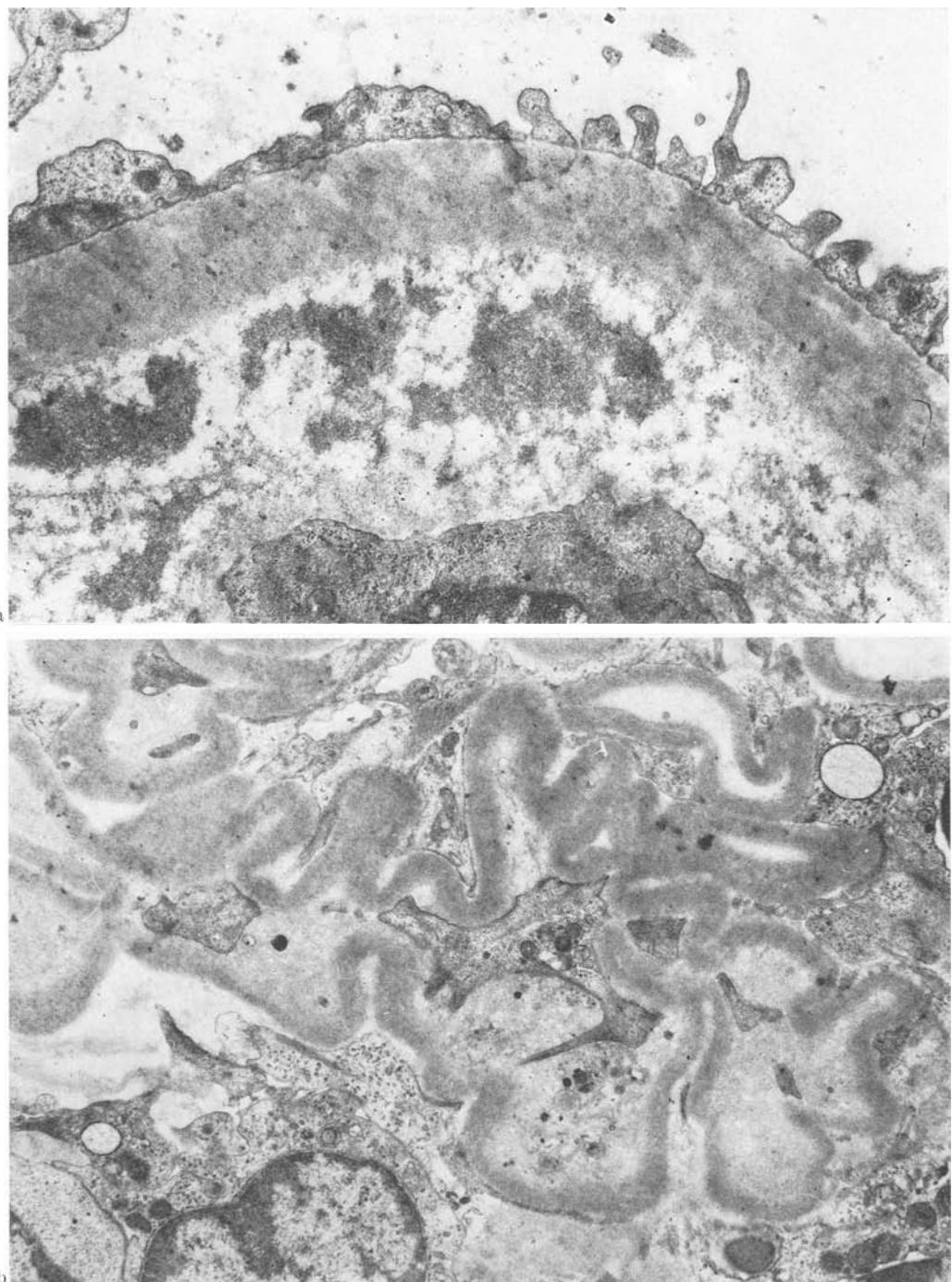


Abb. 3. a Ablagerungen schwammartig lockeren Materials zwischen glomerulärer Basalmembran und Mesangiumzellen bzw. Endothelien. 27 Monate alte männliche Ratte. 1:14200.
b Starke „Fältelung“ der glomerulären Basalmembran, dazwischen einzelne Anschnitte von Mesangiumzellen. 26 Monate alte weibliche Ratte. 1:7000

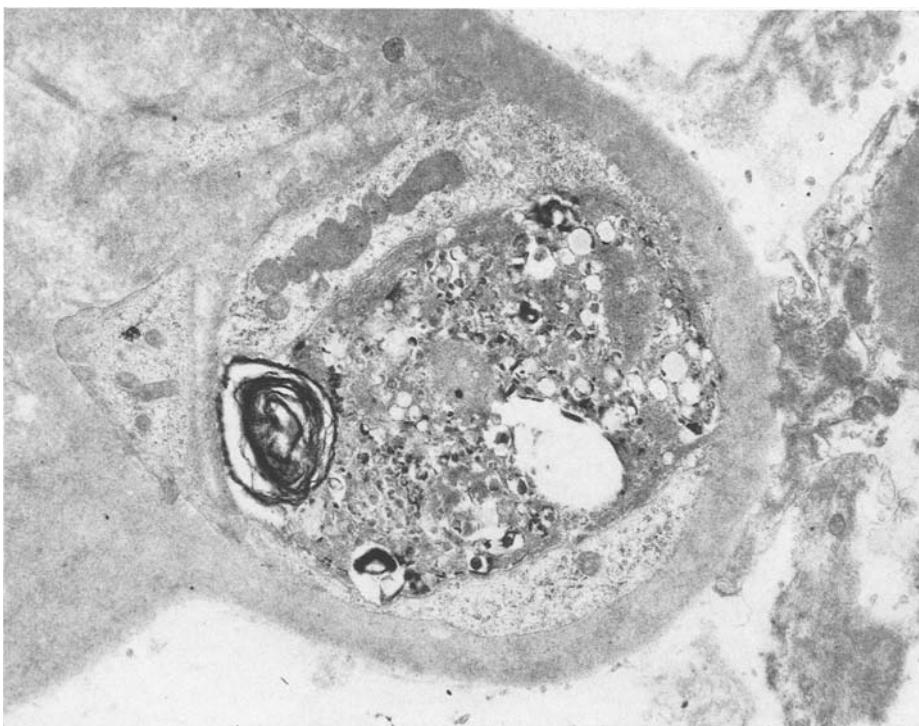


Abb. 4. Unterschiedlich stark osmiophile, granuläre und wirbelige Ablagerungen im glomerulären Endothel einer 26 Monate alten weiblichen Ratte. 1:10000

Trinkmenge, Urinmenge, renaler Eiweißverlust (Abb. 8)

Die tägliche *Trinkmenge* 4 Monate alter Wistarratten beträgt im Mittel 21,9 ml. Bis zum Lebensalter von 16 Monaten nimmt sie nur gering auf einen mittleren Wert von 23,2 ml zu, um dann über 34,9 ml bei 20—23 und 41,4 ml bei 25 Monate alten Tieren auf 54,8 ml im Alter von 28 Monaten anzusteigen. Die tägliche Aufnahme von Trinkflüssigkeit vermehrt sich damit im Laufe des Lebens um mehr als das Doppelte.

Die tägliche *Urinmenge* zeigt in der entsprechenden Zeitspanne einen noch stärkeren Anstieg, nämlich auf das 5fache des Ausgangswertes. Während sie bei 4 Monate alten Tieren im Mittel noch 5,4 ml mißt, steigert sie sich zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten über im Mittel 7,6 ml, 10,4 ml, 11,1 ml, 12,1 ml und 21,8 ml bis auf einen höchsten Mittelwert von 27,3 ml bei den 28 Monate alten Tieren.

Als Folge der unterschiedlich starken Vervielfachung von täglicher Trink- und Urinmenge verschiebt sich der *Quotient* beider Faktoren von 4:1 bei 4 Monate alten Tieren auf 2:1 bei 28 Monate alten Ratten.

Der tägliche mittlere *Eiweißverlust* durch die Niere beträgt im Lebensalter von 4 Monaten 9 mg. Er steigert sich bis zum 16. Monat auf einen mittleren Wert von 59 mg und nimmt dann bis zum Alter von 20—23 Monaten weiter auf 88 mg zu. 25 Monate alte Tiere weisen einen täglichen renalen Eiweißverlust von 242 mg, 28 Monate alte Tiere von 198 mg auf.



Abb. 5. Verschmelzung der podozytären Fortsätze auf der verdickten glomerulären Basalmembran mit weitgehendem Schwund der Schlitze. 26 Monate alte weibliche Ratte. 1:14200

Serumbefunde

Harnstoff-Stickstoff und *Kreatinin* steigen vom 3.—5. bis zum 24.—27. Lebensmonat langsam von durchschnittlich 18 mg-% (10—26) bzw. 0,8 mg-% (0,7—1,0) auf 42 mg-% (21—46) bzw. 1,0 mg-% (0,9—1,1) an. In den letzten 3 Lebensmonaten ist dann, bei stärkeren individuellen Schwankungen, eine ausgeprägte Steigerung beider Parameter auf 89 mg-% (23—196) bzw. 2,1 mg-% (0,8—6,0) zu verzeichnen.

Das mittlere *Gesamt-Cholesterin* ändert sich vom 3.—5. bis 24.—26. Lebensmonat von durchschnittlich 94 mg-% (70—130) auf 174 mg-% (120—260). Der mittlere Wert der 27 bis 29 Monate alten Tiere liegt mit 139 mg-% (85—170) dann wieder etwas niedriger.

Das *Gesamt-Eiweiß* zeigt im Laufe des Lebens der Ratten keine wesentlichen Veränderungen. Die Mittelwerte betragen bei 3—5 und 23—26 Monate alten Tieren jeweils 6,1 g-% (5,0—6,5) bzw. 4,3—6,8), im Alter von 27—29 Monaten liegen sie bei 6,9 g-% (5,9—8,3).

Besprechung

Bei allen männlichen und weiblichen Tieren unseres Rattenstammes vom Wistarotyp tritt spontan eine Glomerulopathie auf. Sie dokumentiert sich im Lebensalter von 2—3 Monaten in sehr diskreten Veränderungen zunächst an einigen wenigen Glomerula und in diesen nur fokal. Mit zunehmendem Alter erkranken allmählich immer mehr Nierenkörperchen bei gleichzeitiger Zunahme des Schweregrades der glomerulären Alteration. 25—29 Monate alte Tiere, bei denen mehr als 90% der Glomerula verändert sind, sterben häufig an einer

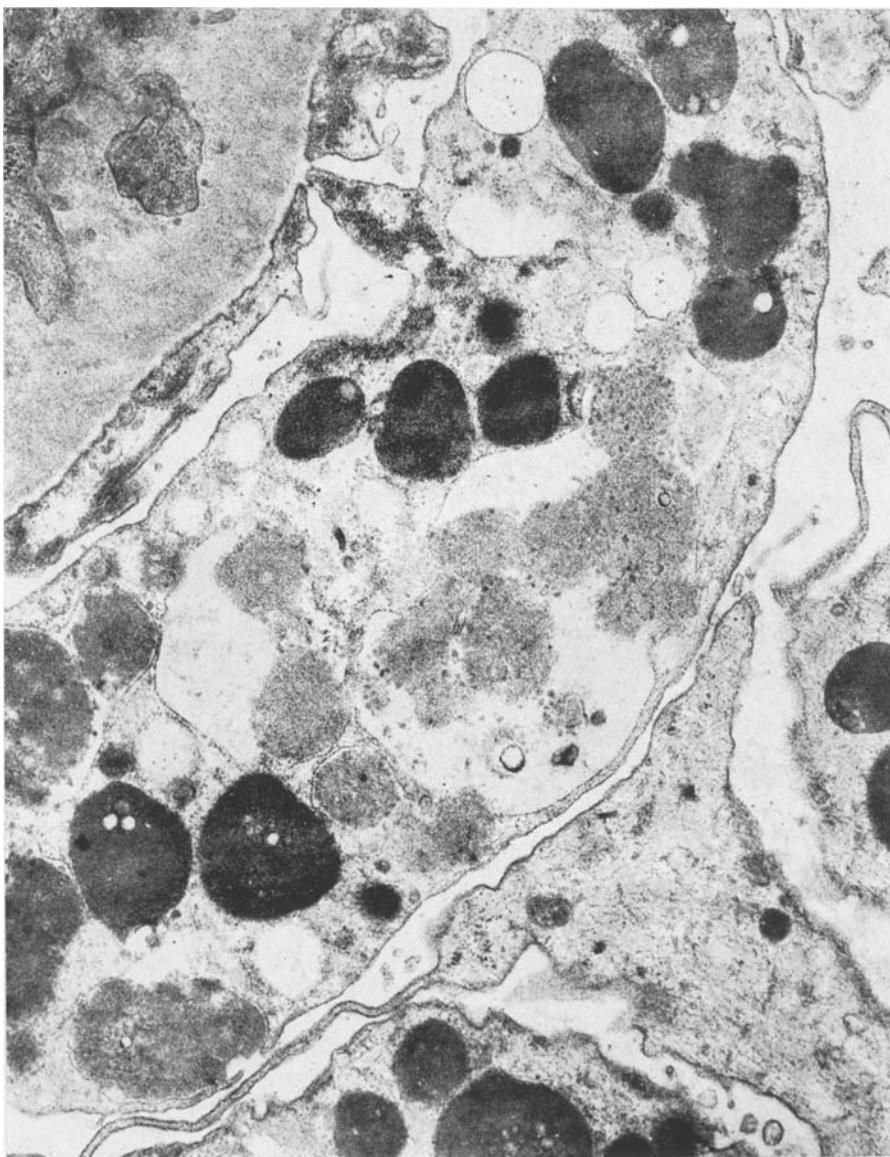


Abb. 6. Glomeruläre Deckzelle mit kräftig osmiophilen Eiweißtropfen und unterschiedlich großen Vacuolen, darin schwach osmiophiler, feingranulärer Inhalt. 26 Monate alte weibliche Ratte. 1:17750

Urämie. Die quantitative Auszählung der Glomerulumveränderungen in Abhängigkeit von äußerer und innerer (juxtamedullärer) Rindenzone hat in frühen Stadien der Erkrankung regionale Unterschiede nicht erkennen lassen. Bei alten Tieren sind aber stark sklerosierte und obliterierte Glomerula bevorzugt in der juxtamedullären Zone zu finden, in der die Erkrankung offenbar rascher voranschreitet als in der äußeren Rinde (Kraus, 1974).

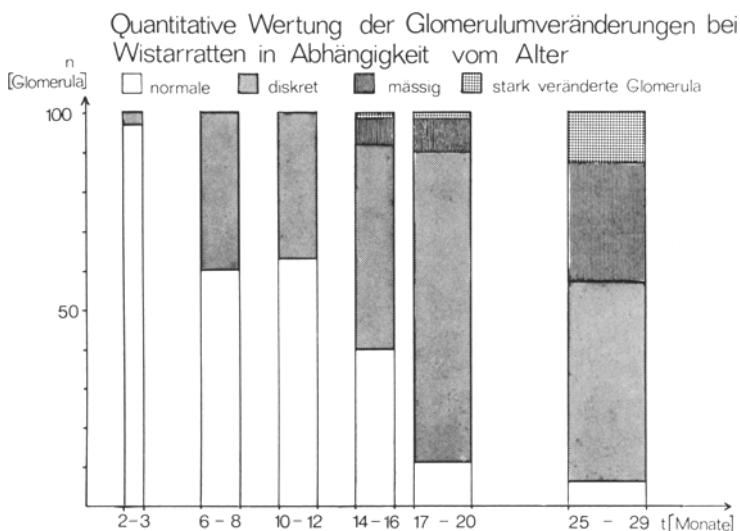


Abb. 7. Zwischen 2.—3. und 25.—29. Lebensmonat erkranken nahezu alle Glomerula der Nieren unbehandelter Ratten vom Wistar Typ mit Standardnahrung. Bis zum 10.—12. Lebensmonat sind die Veränderungen diskret bis gering, vom 14.—16. Lebensmonat an treten sie zunehmend stärker hervor. Bei 25.—29 Monate alten Tieren sind im Mittel 50% der Glomerula diskret bis gering, 30% mäßiggradig und 13% stark alteriert

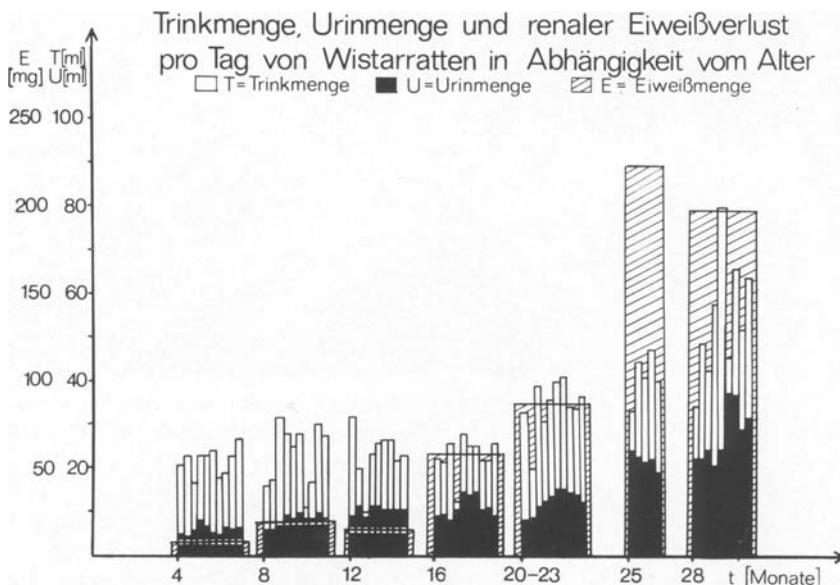


Abb. 8. Mittlere tägliche Trinkmenge und Urinmenge von unbehandelten Wistaratten mit Standardnahrung nehmen im Laufe des Lebens um das $2\frac{1}{2}$ fache bzw. 5fache zu. Der mittlere renale Eiweißverlust pro Tag steigert sich im gleichen Zeitraum um das 20fache

Lichtmikroskopische Charakteristika sind eine zunehmende, bis zur Verödung des Filtrationsraumes führende, PAS-positive Verdickung der glomerulären Capillarwand und des Mesangiums, eine tropfige Eiweißspeicherung und, bei alten Tieren, eine starke Endothelverfettung. Elektronenmikroskopisch ist die glomeruläre Basalmembran verdickt, in ihrer Struktur aufgelockert und oft schon in frühen Stadien der Erkrankung stark „gefältelt“. Subendothelial werden basalmembranartige Substanzen abgelagert. Durch Verbreiterung der auf der Lamina rara externa ruhenden Podocytenfortsätze werden die Filtrationsschlüsse zunächst eingeengt, später weitgehend verlegt. Im Cytoplasma der Deckzellen treten neben Eiweißtropfen zahlreiche, mit feinflockigem Material gefüllte Vacuolen auf. Das alles sind Veränderungen, wie sie vom nephrotischen Syndrom des Menschen (Michielsen, 1963; Thoenes, 1971) und von der Aminonucleosidnephrose (Vernier *et al.*, 1959; Dubach, 1963; Venkatachalam *et al.*, 1969; Exaire *et al.*, 1972) her bekannt sind.

Funktionell besteht bei unseren Ratten, wie auch beim nephrotischen Syndrom und bei der Aminonucleosidnephrose, eine erhöhte Durchlässigkeit der glomerulären Capillarwand für Eiweiß, verbunden mit einer massiven Proteinurie. Zum „klinischen“ Krankheitsbild gehört ferner regelmäßig eine mit steigendem Alter der Tiere erheblich sich verstärkende Polydipsie und Polyurie (Cain und Kraus, 1972; Kraus, 1974).

Bis heute ist nicht geklärt, auf welche näherte Weise Eiweiß das normale und das veränderte glomeruläre Filter passiert (Sitte, 1959; Farquhar *et al.*, 1961; Farquhar und Palade, 1961; Graham und Karnovsky, 1966; Thoenes, 1971). Mit Tracer-Substanzen durchgeführte Versuche von Farquhar *et al.* (1961) und Farquhar und Palade (1961) haben ergeben, daß die Basalmembran die wichtigste Barriere beim Filtrationsprozeß ist und daß sie unter krankhaften Bedingungen Ferritin und Protein in gesteigerten Mengen passieren läßt. Graham und Karnovsky (1966) sind der Ansicht, daß die Schlitzmembranen der Deckzellen das eigentliche Filter darstellen. Beide Bauelemente der glomerulären Capillarwand sind bei der von uns beobachteten spontanen Glomerulopathie von Ratten wesentlich verändert, die Basalmembran ist verdickt und aufgefaltet, die Epithelschlüsse sind eingeengt oder geschwunden. Hinzu kommen subendothiale, PAS-positive Ablagerungen, die mit quantitativen und qualitativen Verschiebungen der Zusammensetzung der Grundsubstanzen, besonders der Mucopolysaccharide in der glomerulären Capillarwand in Zusammenhang gebracht werden (z.B. Ashworth *et al.*, 1960). Alle diese Befunde lassen das glomeruläre Filter aus morphologischer Sicht verdickt bzw. weniger leicht passierbar erscheinen. Zu der Tatsache, daß massive Eiweißmengen trotzdem in den Kapselraum gelangen, lieferten 1969 Venkatachalam *et al.* in Versuchen mit Meerrettichperoxydase an Aminonucleosid-Ratten neue Gesichtspunkte. Anhand von Serienschnitten stellten sie fest, daß Peroxydase-Moleküle innerhalb von Vacuolen, die eine Art transzellulären Kanal bilden, von der defekten glomerulären Basalmembran aus unter Umgehung der reduzierten Filtrationsschlüsse durch das Cytoplasma der Podocyten hindurch sozusagen in den Kapselraum eingeschleust werden können. Da wir in den glomerulären Deckzellen unserer Ratten neben einer starken hyalintropfigen Eiweißspeicherung besonders zahlreiche eiweißhaltige Vacuolen finden, scheint uns die Vorstellung von Venkatachalam *et al.* eine durchaus in

Betracht zu ziehende Möglichkeit für die Vorgänge am nephrotischen Glomerulum zu sein. Grundsätzlich offen ist aber noch die Frage, ob die Glomerulumveränderungen unserer Ratten, wie auch die ähnlicher Krankheitsbilder beim Menschen, die Ursache oder aber eine Begleit- und Folgeerscheinung der Proteinurie sind.

Als besonders auffälliges Phänomen haben wir an unseren Ratten in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung außer der intracellulären Stapelung von Eiweiß- und Fettsubstanzen auch immer wieder braun pigmentierte Einschlüsse in den Zellelementen des Glomerulums gefunden. Es handelt sich hierbei in Analogie zum braunen Pigment im Tubulusepithel der gleichen Tiere (Cain und Kraus, 1972) um lysosomale Gebilde, die sich hauptsächlich aus Eiweiß- und Fettanteilen zusammensetzen. Es ist leicht einzusehen, daß bei der im Laufe des Lebens der Tiere ständig sich steigernden Proteinurie alle am Filtrationsprozeß in irgendeiner Weise beteiligten Zellen — seien sie nun direkt in den Durchschleusungsvorgang eingeschaltet oder rückresorptiv tätig — stoffwechselmäßig stark beansprucht und schließlich überlastet sind. Sie können dann das intracellulär angehäufte Material nicht mehr abbauen und kondensieren es daher in Form vielfältiger, stark osmiophiler Residualkörper.

Spontane Glomerulopathien sind bei manchen Nagetieren, die zu Versuchszwecken verwendet werden, schon seit längerem bekannt. Andrew und Pruett (1957) beschreiben eine mit dem Alter der Tiere zunehmende Fibrose der Glomerula, Durand *et al.* (1964) eine Schrumpfung der Glomerulumschlingen mit Erweiterung des Kapselraumes. Foley *et al.* (1964) sprechen von einer Atrophie und Sklerose der Glomerula bei Verbreiterung der Capillarwände, Simms und Berg (1957) von einer chronischen Nephrose und Glomerulonephritis. Als spontane progressive Glomerulosklerose alter Tiere bezeichnen Ashworth *et al.* (1960) eine Glomerulumerkrankung, die lichtmikroskopisch mit einer Zunahme PAS-positiver Substanzen, elektronenmikroskopisch mit einer Verdickung der Lamina densa und einer Verschmälerung von Lamina rara externa und interna einhergeht. Eine Vermehrung von Mesangiumzellen und -matrix und Ablagerungen amorpher, PAS-positiver Massen mit resultierender Capillareinengung wird von Elema *et al.* (1971) beobachtet. Gleichlautende Beschreibungen stammen von Gude und Upton (1972) und von Guttmann und Kohn (1960). Alle genannten Autoren bringen die spontane Glomerulumerkrankung ihrer Tiere in irgend einer Weise ursächlich mit dem Alterungsprozeß in Verbindung, ohne aber nähere Zusammenhänge erklären zu können.

Unsere eigenen Beobachtungen sprechen gegen das Altern als Ursache oder alleinigen Faktor der Entstehung von Strukturänderungen des Glomerulumfilters. Denn die frühesten, wenn auch nur diskreten Veränderungen an den Glomerula sind bereits bei 2—3 Monate alten Tieren zu finden. Bis etwa zum 18. Lebensmonat schreitet die Erkrankung langsam fort, um dann, ablesbar an der quantitativen und qualitativen Beteiligung der Nierenkörperchen und an den klinischen Daten, sich wesentlich zu steigern und oft in die Urämie zu münden. Wir sind zu der Meinung gelangt, daß der Alterungsprozeß erst als komplizierender Faktor zu der anderweitig verursachten Erkrankung hinzukommt. Hierbei spielt dann nicht mehr nur die glomeruläre Alteration, sondern auch der tubuläre Schaden (Cain und Kraus, 1972) eine entscheidende Rolle.

Für die Klärung der Ätiologie ist möglicherweise von Bedeutung, daß sich der Schweregrad der spontanen Glomerulopathie experimentell durch verschiedene Maßnahmen beeinflussen läßt. Durch einseitige Nephrektomien konnte in eigenen Versuchen (Kraus, 1974), wie auch schon früher von Striker *et al.* (1969) und von Elema *et al.* (1971) eine Steigerung der vorbestehenden Erkrankung in der Gegen-

niere erzielt werden. Führt man die einseitige Nephrektomie bei Tieren verschiedenen Alters durch und läßt sie 6 Monate lang überleben, dann zeigt sich, daß die bereits stärker von der spontanen Nephropathie befallene Restniere älterer Tiere den stärkeren Schaden erleidet als die geringer erkrankte Restniere jüngerer Tiere (Kraus, 1974). Wirksames Prinzip für die Verstärkung der spontanen Nephropathie durch einseitige Nierenentfernung ist sicher die funktionelle Mehrbelastung der verbliebenen Niere (Zollinger, 1966).

Eine weitere Möglichkeit, die spontane Glomerulopathie zu verstärken, liegt in einer länger dauernden eiweißreichen Ernährung der Tiere (Blatherwick und Medlar, 1937; Moise und Smith, 1927; Saxton und Kimball, 1941; Kennedy, 1957). Zur Deutung dieser Versuche kann man einerseits ebenfalls die Überlastungstheorie beanspruchen, andererseits ist zu diskutieren, ob im Rahmen einer unphysiologisch gesteigerten Eiweißaufnahme (bis 85% Proteinanteil der Nahrung) nicht abnorme Stoffwechselprodukte anfallen, die die glomeruläre Basalmembran zu schädigen imstande sind.

In eigenen, noch nicht abgeschlossenen Versuchen sind wir dabei, zu prüfen, ob sich der Schweregrad der spontanen Glomerulopathie durch eine relativ eiweißarme Diät (6% bzw. 12% Eiweißanteil der Nahrung gegenüber 19% der üblicherweise verfütterten Standardnahrung) vermindern läßt (Kraus, 1974). Den Anstoß zu solchen Untersuchungen lieferte der Umstand, daß unsere alten Wistarratten, im Gegensatz zum nephrotischen Syndrom des Menschen, trotz massiver Proteinurie keine Verminderung des Serum-Gesamteiweißes und auch keine Ödeme entwickeln. Sie haben demnach genügende Eiweißreserven, die letztendlich nur aus der Nahrung stammen können. Solange die Leber der Tiere funktionstüchtig ist und über die notwendigen synthetischen Aktivitäten für den Aminosäurestoffwechsel verfügt, können Eiweißverarmung und Ödeme nicht entstehen (Müller und Cain, 1974). Unsere bisherigen Ergebnisse nach eiweißarmer Diät zeigen eine Verringerung der funktionell erfaßbaren Nierensymptomatik, das morphologische Resultat ist noch abzuwarten. Wir nehmen aber nicht an, daß der prozentuale Eiweißgehalt der Nahrung allein den entscheidenden Faktor bei der Entstehung der Glomerulopathie von Versuchstieren darstellt.

Es bleibt darauf hinzuweisen, daß die beschriebene Glomerulopathie mit allen ihren Folgen nicht nur eine spontane Erkrankung des eigenen Rattenstammes ist (s. auch Hoedemaeker, 1973). Da sie sich erst in höherem Lebensalter der Tiere in typischer Weise ausprägt, mit diskreten morphologischen Befunden aber schon im 3. Lebensmonat beginnt, kann sie, sofern nicht bekannt, zur Verfälschung von Ergebnissen der tierexperimentellen Nierenpathologie führen.

Literatur

- Andrew, W., Pruett, D.: Senile changes in the kidneys of Wistar institute rats. Amer. J. Anat. **100**, 51—79 (1957)
Ashworth, C. T., Edmann, R. R., Arnold, N. J.: Age changes in the renal basement membrane in rats. Amer. J. Path. **36**, 165—171 (1960)
Blatherwick, N. R., Medlar, E. M.: Chronic nephritis in rats fed high protein diets. Arch. intern. Med. **59**, 572—596 (1937)
Cain, H., Kraus, B.: Über lysosomale Pigmentablagerungen in der Niere alter Wistarratten. Virchows Arch. Abt. B **10**, 322—338 (1972)
Dubach, U. C.: Aminonucleosid-Nephrose. In: Das nephrotische Syndrom, F. Reubi und H. G. Pauli (edts.), II. Symp. Ges. Nephrol., S. 71—81. Stuttgart: Georg Thieme 1963

- Durand, A. M., Fisher, M., Adams, M.: Histology in rats as influenced by age and diet. I. Renal and cardiovascular systems. *Arch. Path.* **77**, 268—277 (1964)
- Elema, J. D., Koudstall, J. D., Lamberts, H. B., Arends, A.: Spontaneous glomerulosclerosis in the rat. *Arch. Path.* **91**, 418—415 (1971)
- Exaire, E., Pollak, V. E., Pesce, A. J., Ooi, B. S.: Albumin and γ -globulin in the nephron of the normal rat following the injection of aminonucleoside. *Nephron* **9**, 42—54 (1972)
- Farquhar, M. G., Palade, G. E.: Glomerular permeability. II. Ferritin transfer across the glomerular capillary wall in nephrotic rats. *J. exp. Med.* **114**, 699—715 (1961)
- Farquhar, M. G., Wissig, S. L., Palade, G. E.: Glomerular permeability. I. Ferritin transfer across the normal glomerular capillary wall. *J. exp. Med.* **113**, 47—65 (1961)
- Foley, W. A., Jones, D. C. L., Osborn, G. K., Kimeldorf, D. J.: A renal lesion associated with diuresis in the aging Sprague-Dawley rat. *Lab. Invest.* **13**, 439—450 (1964)
- Graham, R. C., Karnovsky, M. J.: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxydases as protein tracers. *J. exp. Med.* **124**, 1123—1133 (1966)
- Gude, W. O., Upton, A. C.: A histologic study of spontaneous glomerular lesions in aging RF mice. *Amer. J. Path.* **40**, 699—709 (1962)
- Guttmann, P. H., Kohn, H. I.: Progressive intercapillary glomerulosclerosis in the mouse, rat and Chinese hamster, associated with aging and X-ray exposure. *Amer. J. Path.* **37**, 293—307 (1960)
- Hoedemaeker, P. J.: Proteinuria and glomerulopathy in clinical and experimental pathology. *Acta morph. Acad. Sci. hung.*, Suppl. XIV, 105 (1973)
- Kennedy, G. C.: Effects of old age and overnutrition on the kidney. *Brit. med. Bull.* **13**, 67—70 (1957)
- Kraus, B.: Über eine spontane Glomerulopathie mit tubulärer Eiweißspeicherung bei Wistar-ratten. *Habilitationsschrift Tübingen*, 1974
- Michielsen, P.: Die glomeruläre Ultrastruktur bei nephrotischem Syndrom. In: *Das nephrotische Syndrom*, F. Reubi und H. Pauli (edts.). II. Symp. Ges. Nephrol., S. 25—36. Stuttgart: Georg Thieme 1963
- Moise, T. S., Smith, A. H.: The effect of high protein diet on the kidneys. *Arch. Path.* **4**, 530—542 (1927)
- Müller, H., Cain, H.: Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel verschieden alter Wistar-ratten mit spontaner Nephropathie. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **58** (1974)
- Saxton, J. A., Kimball, G. C.: Relation of nephrosis and other diseases of albino rats to age and modifications of diet. *Arch. Path.* **32**, 951—965 (1941)
- Simms, H. S., Berg, B. N.: Longevity and the onset of lesions in male rats. *J. Geront.* **12**, 244—252 (1957)
- Sitte, H.: Veränderungen im Glomerulum der Ratteniere nach Fremdeiweißgaben und hypothetische Erklärung der glomerulären Ultrafiltration. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **43**, 225—232 (1959)
- Striker, G. E., Nagle, R. B., Kohnen, P. W., Smuckler, A. E.: Response to unilateral nephrectomy in old rats. *Arch. Path.* **87**, 439—442 (1969)
- Thoenes, W.: Renale Behandlung der Proteine in morphologischer Sicht. In: *Fortschritte der Nephrologie*, A. Bohle und G. E. Schubert (edts.). VII. Symp. Ges. Nephrol., S. 123—137. Stuttgart-New York: Schattauer 1971
- Venkatachalam, M. A., Karnovsky, M. J., Cotran, R. S.: Glomerular permeability. Ultrastructural studies in experimental nephrosis using horseradish peroxydase as a tracer. *J. exp. Med.* **130**, 381—399 (1969)
- Vernier, R. L., Papermaster, B. W., Good, R. A.: Aminonucleoside nephrosis. I. Electron microscopic study of the renal lesions in rats. *J. exp. Med.* **109**, 115—125 (1959)
- Zollinger, H. U.: Überlastungsglomerulitis. In: *Spezielle pathologische Anatomie*, Bd. 3, W. Doerr und E. Uehlinger (edts.), S. 447—455. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

Dr. Brigitte Kraus

Prof. Dr. H. Cain

Pathologisches Institut am Katharinenhospital

D-7000 Stuttgart

Bundesrepublik Deutschland