

Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Moabit (Direktor: Prof. M. BRANDT).

Experimentelle Beiträge zum Alloxandibabetes*.

Von

GISELBERT SUCHOWSKY.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. März 1953.)

I. Einleitung.

Das bereits sehr reichhaltige Schrifttum über den Alloxandibabetes und die daraus ersichtlichen Widersprüche veranlaßten uns, die morphologischen Veränderungen in den verschiedenen Organen unter Ausschließung einzelner endokriner Drüsen zu untersuchen. Es muß als bekannt vorausgesetzt werden, daß heute bereits zahlreiche genaue Angaben über die Veränderungen der Inselzellen im Pankreas vorliegen. Besonders W. DOERR hat in seiner Monographie über den Alloxandibabetes und die Glyoxalvergiftung ausgezeichnete Grundlagen entwickelt und eine ebensolche Zusammenstellung des gesamten Schrifttums aufgezeichnet. Unsere Untersuchungen wurden vorzugsweise mit dem Phasenkontrastmikroskop ausgeführt. Als Versuchstiere verwendeten wir Albinoratten beiderlei Geschlechts.

II. Neue Erkenntnisse über den Alloxandibabetes.

Zu unseren Experimenten verwendeten wir ausschließlich weiße Ratten gemischten Geschlechts. Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug zwischen 180—250 g. Sämtliche Eingriffe an den Tieren wurden in Äthernarkose durchgeführt. Wir verwendeten eine Narkosekammer, die das Einsprayen von Äther gestattete. Bei jeder Ratte wurde vor Beginn des Versuchs der Normal-Blutzucker nach der geläufigen HAGEDORN-JENSENSchen Methode bestimmt. Die Blutzuckerbestimmung wurde von uns selbst und immer von ein und derselben Person durchgeführt, um die subjektiven Fehler möglichst klein und konstant zu halten. Zur Bestimmung wurde den narkotisierten Tieren der mit Toluol abgeriebene Schwanz gekappt, der Blutstropfen auf einem Objektträger aufgefangen und mit einem Kristall Natriumcitrat beschickt, um die Gerinnung zu verzögern. Nach der Entnahme wurde das Schwanzende mit einem dünnen Seidenfaden abgebunden, um ein Nachbluten zu verhindern. Diese Methode gestattet ein schnelles Arbeiten und läßt bis zu 26 Blutentnahmen zu. Für die Alloxanreihe wurden 40 Tiere verwendet. Je eine Zehnergruppe erhielt 75 mg/kg, 125 mg/kg, 200 mg/kg und über 200 mg/kg Körpergewicht Alloxan intraperitoneal verabfolgt. In stündlichen Abständen wurde der Blutzucker bestimmt. Die stündlichen Intervalle wurden bis zum Maximum der hypoglykämischen Schwankung und bis zum höchsten Punkt der Hyperglykämie eingehalten. Später erfolgte nur täglich eine Bestimmung

* Diese Arbeit wurde mit ERP-Forschungsmitteln durchgeführt.

zu verschiedenen Tageszeiten. Nach Ablauf der Versuchsdauer wurden die Tiere in Äthernarkose dekapitiert, die lebensfrischen Organe teils in absolutem Alkohol, Bouinscher Lösung und 10% Formalin fixiert. Nach der Einbettung wurden die 3–4 μ dünnen Schnitte nach H.-E., Sudan III, Bestschem Carmin und Gomori gefärbt.

a) Gruppe der Tiere mit 75 mg/kg Alloxan.

Nach der Injektion ließ sich auch nach einigen Stunden keine Veränderung im Hinblick auf das Verhalten der Tiere feststellen. Die Tiere fraßen gut und waren bewegungslustig. Die gemessenen Blutzuckerwerte zeigten etwa 1 Std post injectionem ein geringes Absinken, um nach wenigen Stunden, durchschnittlich bereits nach 6 Std, den Normalwerten wieder zu entsprechen. Regelrechte hypoglykämische Schwankungen konnten nicht beobachtet werden.

Die Sektionsbefunde zeigten bei dieser Gruppe von Tieren makroskopisch keine Veränderungen, es wird deshalb auf eine detaillierte Wiedergabe verzichtet.

Mikroskopischer Befund.

Pankreas. In allen Fällen dieser Gruppe konnte keine Veränderung am Pankreas festgestellt werden. Die Granula in den B-Zellen erschienen zart und unauffällig. Die Kerne zeigten auch bei den Tieren, die bis zu 14 Tagen in Beobachtung standen, keine Veränderungen. Das Kernchromatin war zart, die Kernform regelmäßig. Die A-Zellenrandschale war unauffällig. Auch der insuläre Gangapparat war ohne Besonderheiten. Die Relation der A:B-Zellen entsprach mit einem Verhältnis 1:3 vollkommen der Norm.

Nebenniere. Die Zona glomerulosa ist scharf von der Fasciculata, letztere scharf von der Reticularis abgrenzbar. Der Lipoidgehalt der Rinde ist ausreichend und der Norm entsprechend. Das Mark recht fest gefügt.

Niere. Die Nieren zeigen keine Veränderungen.

Leber. Leber zeigt im Bestschen Carminpräparat reichlich feine Glykogen-tröpfchen, im Sudanpräparat läßt sich kein Fett nachweisen. Im H.-E.-Schnitt keine Veränderungen. Die übrigen untersuchten Organe dieser Gruppe wiesen keine Veränderungen auf, es wird aus diesem Grunde auf eine Wiedergabe der Befunde verzichtet.

b) Gruppe der Tiere mit 125 mg/kg Alloxan.

Nach Bestimmung des Nüchternblutzuckers erhielten 10 Tiere 125 mg/kg Alloxan intraperitoneal verabreicht. Nur bei 4 Tieren dieser Gruppe konnte nach etwa 1 Std eine geringe Veränderung im Verhalten beobachtet werden. Die Atmung war gegenüber den anderen Tieren deutlich beschleunigt, das Fell geringgradig gesträubt und die Tiere etwas schläfrig. Die übrigen Tiere zeigten äußerlich keine Veränderungen. Nach einer Gesamtbeobachtungszeit von 3 Wochen unter dauernder Beobachtung des Blutzuckerspiegels wurden die Tiere in Äthernarkose dekapitiert.

Tabelle 1.

	Inselgröße		
	bis 75 μ	75–125 μ	126–175 μ
Durchschnittszahl* der Inseln/50 mm ²	5	3	3
A:B-Zellverhältnis	2:1	1,5:1	1:1
A-Zellgröße	5 μ	5 μ	5 μ
B-Zellgröße	4,2–6,2 μ	4,2–5 μ	4,2–5 μ

* Die Durchschnittszahl der Inseln wurde nach HEIBERG berechnet.

Tabelle 2. Einzeldosis von 125 mg Alloxan.

	Nr.									
	11a	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Pankreas</i>										
Zellverhältnis gestört . . .	+	+			+			+		
Degranulierung	++	+			+++			+++		
Inselzahl reduziert					+			+		
Ohne Besonderheiten . . .			+	+		+	+		+	+
<i>Nebennieren</i>										
Lipoidverarmung	+	+			+					
Ohne Besonderheiten . . .			+	+		+	+	+	+	+
<i>Niere</i>										
Nephrose										
Glykogenablagerung	+	+			+			+		
Fettablagerung								+		
Ohne Besonderheiten . . .										
Lebensdauer	3 Wochen			4 Wochen		3 Wochen		4 Wochen		

+ mäßigen Grades, ++ stärkeren Grades, +++ besonders hochgradig.

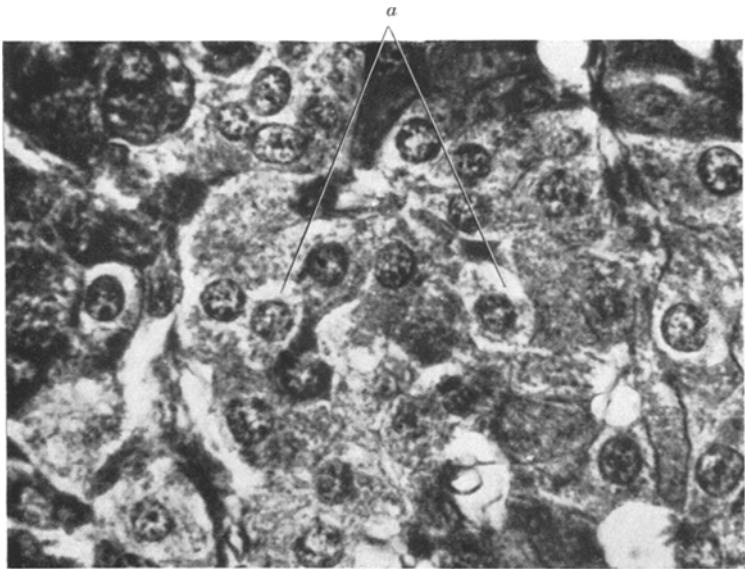


Abb. 1. R 15; 125 mg Alloxan/kg, Lebensdauer 3 Wochen. Recht starke Reduktion der Granulierung. Granula grob. Vereinzelte B-Zellkerne sind nur noch schattenhaft zu erkennen. B-Zellkerne etwas groß. Zellgrenzen deutlich. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl. a B-Zellen.

c) Gruppe der Tiere mit 200 mg/kg Alloxan.

14 Tiere dieser Gruppe wurden in der Zeit zwischen 3 Std und 19 Tagen beobachtet, der Blutzucker regelmäßig kontrolliert. In einer weiteren Gruppe wurden 6 Tiere mit 200 mg/kg Alloxan beschickt und je zwei der Tiere nach 2 min, 5 min und 10 min getötet. Bei fast allen Tieren dieser Gruppe kam es zur Ausbildung eines Diabetes. Bereits 1 Std nach der Injektion der 5%-Lösung machten

alle Tiere einen kranken Eindruck. Das Fell war gestäubt, die Tiere waren schläfrig und bewegungsunlustig. Während der Versuchsdauer erhielten die Tiere gewöhnliche Kost, in unserem Falle Körnerfutter und Wasser (Abb. 2).

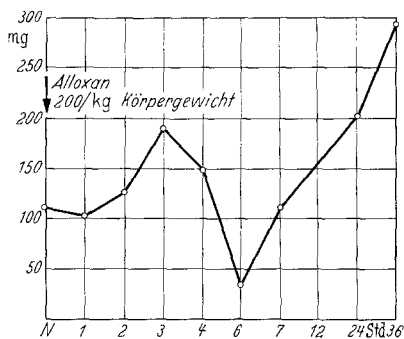


Abb. 2. Blutzuckercurve bei Alloxan-tieren aus Kurven von 14 Tieren errechnet. Einzeldosis: 200 mg/kg Körpergewicht.

Die Sektionsbefunde dieser Tiergruppe waren sehr ähnlich. Alle diabetischen Tiere zeigten bis zum etwa 8. Tage eine deutliche Hyperämie der Bauchorgane, vorwiegend der Leber, Milz und Nieren. Das Pankreas war makroskopisch ohne Veränderungen. Die Injektionsstelle zeigte keine Besonderheiten. Völlig unauffällig waren die Tiere, die nach 2 min, 5 min und 10 min nach der Alloxanverabreichung getötet wurden (Abb. 3, 4, 5 und 6).

Zusammenfassung. Betrachten wir die Ergebnisse dieser Versuchsreihe, so können wir folgende Schlüsse ziehen. Alloxandosen von 75 mg/kg

Körpergewicht sind nicht imstande, einen Diabetes auszulösen. Man kann nach einer Injektion dieser Dosis jedoch eine geringe hypo-

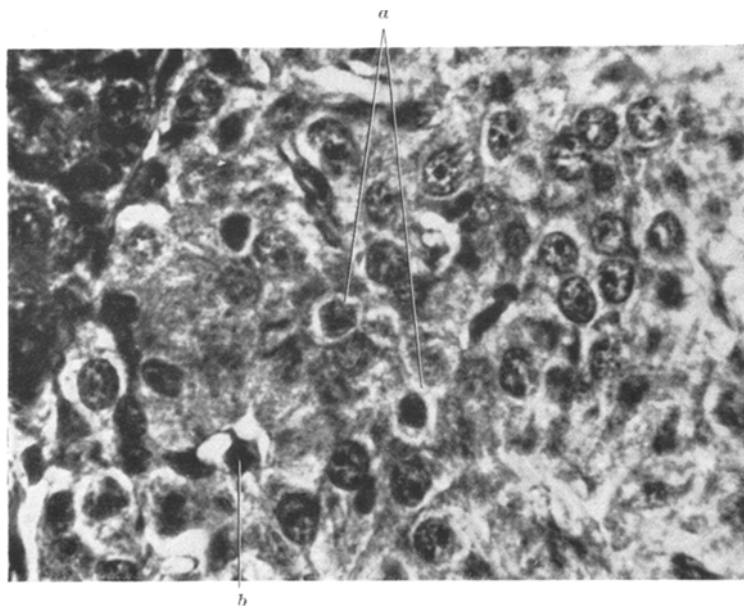


Abb. 3. R 45: 200 mg Alloxan/kg. Lebensdauer 36 Std. Verklumpung der Granula. Eine Anzahl der B-Zellkerne pyknotisch und geschrumpft (a). Dazwischen Zelltrümmer und Zellen mit intracytoplasmatischen Vacuolen (b). Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl.

glykämische Schwankung der Blutzuckercurve feststellen, die wohl einen unterschwelligen Alloxanreiz auf das B-Zellsystem darstellen

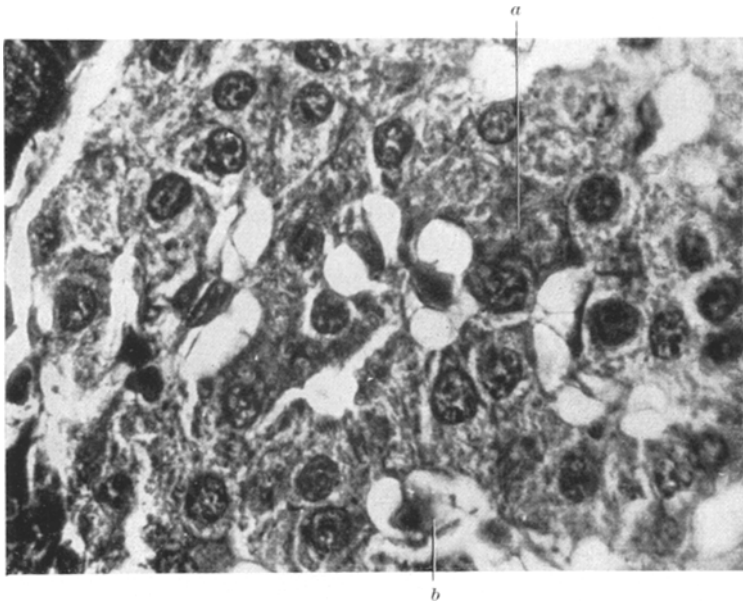


Abb. 4. R 4a: 200 mg Alloxan/kg, 10 min post injectionem getötet. Stärkere Verklumpung der Granula (a), beginnende Schrumpfung der B-Zellkerne, Hydrops vereinzelter B-Zellen (b). Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl.

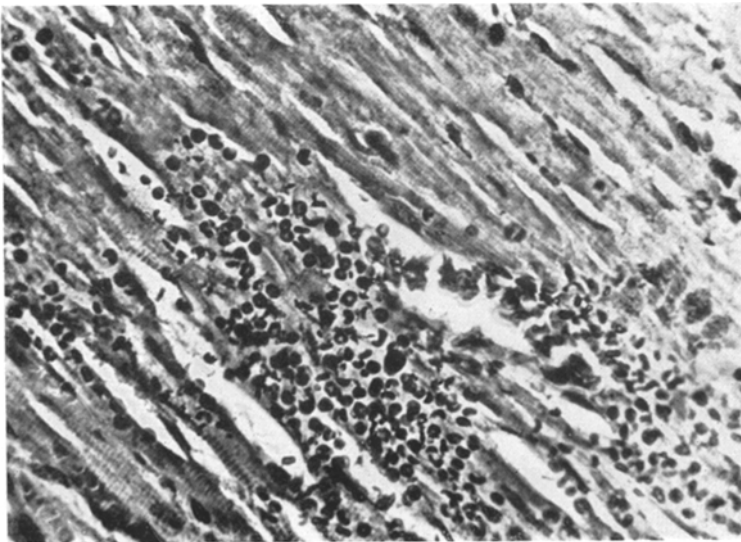


Abb. 5. R 45: 200 mg Alloxan/kg. Lebensdauer 3 Std. Besonders großer interstitielle Blutungsherd mit beginnendem scholligen Zerfall der Herzmuskulatur. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 40.

dürfte. Bei der Tiergruppe, die 125 mg/kg Körpergewicht Alloxan erhielt, konnte man nur in etwa 40% das Auftreten einer Hyperglykämie, d. h. eines milden Diabetes beobachten. Diese Tiere wurden besonders lange am Leben gehalten und dem Cytogramm besondere Beachtung geschenkt. Wir sehen, daß diese Dosis wohl nicht bei allen Tieren einen Diabetes auszulösen vermag, jedoch imstande ist, bereits schädlich zu wirken. Im histologischen Präparat kann man in den Leberläppchen eine zentrale Glykogenverarmung und eine fein-

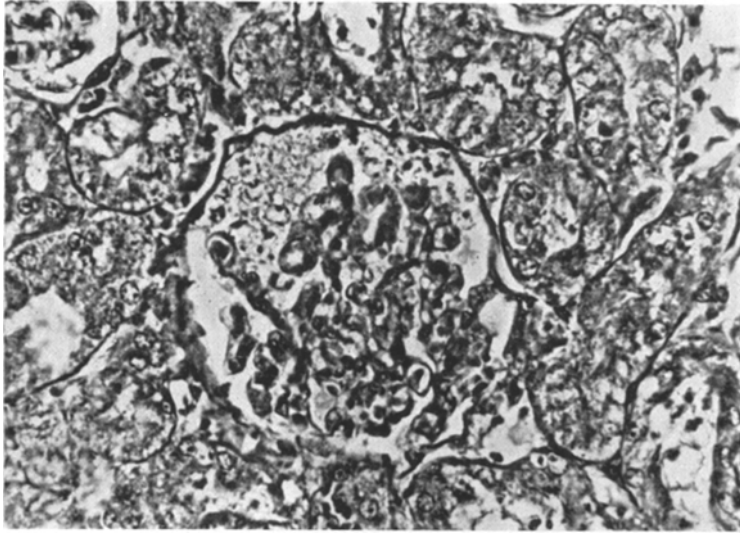


Abb. 6. R 57: 200 mg Alloxan/kg. Lebensdauer 36 Std. Nekrose des Epithels der Tubuli. Deutliche Verdichtung des Grundhäutchens der Glomeruli und Tubuli. Exsudation in den Kapselraum. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 40.

tropfige Verfettung beobachten. Die Intensität der Glykogenablagerung in der Niere ist weitgehend von der Höhe des Blutzuckerwertes abhängig. Das Pankreas dieser Tiere, die 3—4 Wochen im Versuch standen, zeigt eine deutliche Abnahme der Inseln, deren Zahl nach HEIBERG berechnet 11 auf 50 mm² beträgt. Das Inselvolumen ist deutlich herabgesetzt und das Zellverhältnis A: B zugunsten der ersteren verschoben, es verhält sich in den größten Inseln wie 1:1 und in den kleinen wie 2:1. Im Phasenkontrast lassen sich besonders deutlich verdichtete Zellmembranen und große zum Teil verklumpte Granula nachweisen. Vereinzelt zeigen Zellen eine hydropische Degeneration, die Kerne der B-Zellen erscheinen groß und zeigen ein locker gefügtes Kernchromatin, vereinzelt sind geringgradig entrundet. Je hochgradiger die Degranulierung, d. h. je hochgradiger der Diabetes ist, um so deutlicher sind die Zellmembranen verdichtet und um so größer sind die Granula der B-Zellen.

Tabelle 3. 200 mg Alloxan.

	Nr.									
	10	11	32	24	45	56	57	58	23	27
<i>Pankreas</i>										
B-Zellen:										
Unscharfe Zellgrenzen .	+					+				
Vacuolen	+									
Pyknose	+					+			+	++
Nekrose		++		+++	+++		+++	++		
Ohne Besonderheiten .										
Granula verkleinert .			++	+++	+++	++				
Granula vergrößert .										
<i>Nebenniere</i>										
Lipoidreduktion . . .					+	+				+
Blutungen					+		++		++	
Nekrosen						++	+++	++	+++	
Ohne Besonderheiten .	+	+	+	+						
<i>Niere</i>										
Nephrose	+	+		+	+++	++	+++	+++	+++	++
Glomerulonephrose .					+	+	+++	++	+++	++
Kapselverdickung . .					+	+	+++	++	++	
Nekrose							++			
Ohne Besonderheiten .			+							
<i>Thyreidea</i>										
Aktivierung										
Ohne Besonderheiten .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Milz</i>										
Stauung					++	+	+	++		
Aktivierung des RES .	+				+	+				
Ohne Besonderheiten .		+	+	+					+	+
<i>Leber</i>										
Degenerative V. . . .	+			+	++	+			+	
Glykogenverarmung . .				+						
Verfettung							++			
Hyperämie					+	+	+	+		
Ohne Besonderheiten .		+	+							+

Tabelle 4. Einzeldosis von 200 mg/kg Alloxan.

	Nr.					
	2a	7a	3a	8a	4a	9a
<i>Pankreas</i>						
B-Zelle:						
Absonderung der Granula vom Kern			+	+	+	+
Verklumpung der Granula . .					+	+
Vacuolen					+	+
Ohne Besonderheiten	+	+				
Lebensdauer	2 min		5 min		10 min	

Die Tiere, die 200 mg/kg Alloxan erhielten, wurden in 85% der Fälle schwer diabetisch; diese Alloxandosis ist imstande, einen Diabetes

auszulösen. Bei der Betrachtung der Blutzuckerkurven kann man in jedem Falle bereits nach 1 Std eine geringe hypoglykämische Schwankung beobachten, die wohl die Folge einer akuten Reizung der B-Zellen sein dürfte, die mit einer plötzlichen Insulinausschüttung antworten. Während der folgenden Stunden kommt es zu einem geringen Anstieg, der nach 6 Std von einer tiefen Hypoglykämie abgelöst wird. Wir deuten diese Phase als ein überwiegendes Insulinphänomen. Es erscheint uns durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß die Nebenniere auch die anfängliche Ausschüttung von Insulin kompensatorisch mit einer übermäßigen akuten Adrenalinausschüttung beantwortet. Da die Insulinwirkung und vor allem die Abgabe des Restinsulins aus den bereits geschädigten B-Zellen länger als die Adrenalinwirkung anhält, könnte dieses eine Erklärung für die Blutzuckerschwankungen bilden. Auch darf man die Auffassung HOUSSAYS nicht außer acht lassen, der diese Phase als eine Lähmung der Glykolyse auffaßt. Seine Auffassung erscheint uns jedoch schwer vertretbar. Wenn man versucht, diese Beobachtungen mit den Ansichten SELYES zu vereinbaren, so können wir sagen: ein Stressoragens, in unserem Fall das Alloxan, wirkt auf irgendein Receptorenorgan, dieses sei nun die Niere oder das Pankreas. Die Schädigung bewirkt nun die Auslösung eines Geschehens, das weitgehend von dem Hypophysen-Nebennierensystem abhängig ist. Auf dem Wege über den Hypophysenvorderlappen (ACTH-Ausschüttung) kommt es nun zu einer Stimulierung der Nebennierenrinde, die ihrerseits nun Rindenhormone aus ihrer reaktionsbereiten Zone, der Fasciculata abgibt, es muß angenommen werden, daß dieser Reiz in die Phase des Abfalls des Blutzuckers fällt. Dieses Stadium entspricht der Alarmreaktion nach SELYE. Die nun vermehrt vorhandenen 11-Oxysteroiden und das noch im Blut kreisende Insulin entziehen dem Organismus lebensnotwendige Kohlenhydrate. Die Schädigung der B-Zellen, der Insulinproduzenten und der Nebennierenrinde ist nun so hochgradig, was sich ja an Hand der Nekrose der B-Zellen und der zahlreichen Nekroseherde in der Nebennierenrinde demonstrieren läßt, daß ein Glykogenaufbau nun nicht mehr möglich ist oder wenn doch, so nur in sehr bescheidenem Maße. Mit der Schwere des diabetischen Zustandsbildes nimmt auch die Glykogenverarmung in der Leber zu.

Nun zur Betrachtung der histologischen Bilder. Bereits 3 Std nach der Alloxaninjektion lassen sich die ersten Nierenschäden feststellen, die ihren höchsten Grad nach etwa 36 Std zu erreichen pflegen. Von besonderer Wichtigkeit erscheint uns die Tatsache, daß zu dem gleichen Zeitpunkt die Blutzuckerwerte ihren Höhepunkt zu erreichen pflegen. In den Nieren kann man nun hochgradige degenerative Veränderungen beobachten, wie Epithelnekrosen in den Harnkanälchen, Schwellung

der Glomeruli, so daß die Kapselräume nicht mehr erkennbar sind. Der Schwellung der Glomeruli geht Exsudation in die Kapselräume voraus. Im Phasenkontrast kann man auch eine mit der Schwere der Nierenveränderungen parallellaufende Verdichtung der Basalmembranen beobachten. Bei Fällen mit geringerem Diabetes sind die Nierenveränderungen ebenfalls geringer, d. h. schwerstem Diabetes entsprechen schwerste Nierenveränderungen und umgekehrt. Wir haben diesem Befund besondere Aufmerksamkeit gewidmet und in einer anderen Tiergruppe den Zusammenhang der Niere mit dem experimentellen Diabetes beleuchtet.

Im Herzmuskel kann man einen deutlichen herdförmigen Zerfall der Querstreifung beobachten. In der Leber fallen vorwiegend zentral kleine Blutungen und Nekrosen auf. Die Nebennieren sind geschwollen, in der Rinde schwerste degenerative Veränderungen, wie hämorrhagische Nekrosen und Blutungen. Die Milz zeigt eine geringe Verarmung an lymphatischem Gewebe und Schwellung des Reticuloendothels.

Die frühesten Veränderungen an den Inseln, d. h. an den B-Zellen konnten wir bereits nach 5 min beobachten. Sie äußern sich in einem Abrücken der teilweise verklumpten Granula von den Kernen, nach 10 min kann man bereits die ersten hydropischen Zellen beobachten. Die Granula sind dann noch deutlicher verklumpt. Vereinzelte Kerne sind in diesem Stadium bereits geringgradig entrundet und das Kernchromatin erscheint verdichtet. Alle diese Beobachtungen wurden mit dem Phasenkontrastmikroskop durchgeführt.

III. Alloxanwirkung auf hypophysektomierte Ratten.

Durch Hypophysenexstirpation beim pankreasdiabetischen Hund kann die Zuckerkrankheit zum Verschwinden gebracht werden, desgleichen gelingt es mit großen Gaben von Hypophysenvorderlappenextrakt beim gesunden Tier, eine Hyperglykämie und Glykosurie zu erzeugen (HOUSSAY, YOUNG, ANSELMINO und HOFFMANN). BALLEY und Mitarbeiter (1947) untersuchten die Beziehung der Hypophyse zum experimentellen Diabetes der Ratten. Sie verabfolgten 150 mg Alloxan/kg 2 Wochen nach der Hypophysektomie subcutan. Beim Ausbleiben der diabetogenen Wirkung wurde die Dosis so lange erhöht, bis der Blutzucker in 24 Std über 200 mg-% anstieg. Bei 5 Tieren zeigte der Diabetes die gleiche Verlaufsform wie bei nicht hypophysektomierten Tieren. 10 Tiere zeigten einen leichten Diabetes mit einer Neigung zur Besserung. 4 Tiere erwiesen sich selbst bei Gaben von 300 mg Alloxan/kg pro dosi alloxanresistent. Sie schlossen, daß die Hypophyse nicht instande ist, die Nekrose der B-Zellen zu beeinflussen. Die Untersuchungen über die morphologischen Zusammenhänge der Hypophyse und der Bauchspeicheldrüse (ANSELMINO, HEROLD, HOFFMANN, 1933) ergaben bei der täglichen Behandlung der Versuchstiere mit einer wäßrigen Lösung von Hypophysenvorderlappenextrakten nach einiger Zeit eine deutliche Zunahme des Inselvolumens. Andere (SANTO, GÜTHERT) konnten hingegen keine meßbaren Veränderungen feststellen. GÜTHERT hingegen behauptete, daß die Zellkerngröße zunahm und vor allem Mitosen auftraten, die Zahl der kleinen Inseln war

nach seinem Aussagen vermehrt. MARKS, YOUNG fanden einen erhöhten Insulinhalt im Pankreas. Untersuchungen über Zellveränderungen bei der Verabfolgung der blutzuckersenkenden Fraktion des Hypophysenvorderlappens liegen bislang noch nicht vor. Bei sehr hohen Dosen der diabetogenen Fraktion des Hypophysenvorderlappens beobachtet man das Auftreten eines Diabetes, der nach 7—10 Tagen spontan verschwindet, aber bei einer Weiterbehandlung am 11. bis 25. Tage wieder zurückzukehren pflegt (RICHARDSON, YOUNG, HOUSSAY, EVANS). Der Unterschied zum pankreatopriven Diabetes besteht darin, daß trotz hochgradiger Ketonkörperausscheidung die Tiere weiter leben, auch ohne Insulintherapie. Die Glykosurie kann nur mit einer 2—3fach höheren Insulindosis behoben werden. Nur im I. Stadium kann man ein vermehrtes Auftreten von Mitosen beobachten, die als eine gesteigerte Proliferation der B-Zellen gedeutet wird. Verschiedene B-Zellen zeigten auch eine deutliche hydropische Entartung, die bei degranulierten B-Zellen vermißt wird. KIRSCHBAUM, WELIS, MOLANDER, konnten feststellen, daß die gewöhnliche Alloxanhyperglykämie (Phase III der Blutzuckerkurve) nach frisch vor der Alloxanisierung oder 72 Std vorher durchgeführten Hypophysektomie bei Ratten ausbleibt. An frisch hypophysektomierten Kröten konnten HOUSSAY, ORIAS und SARA keine derartigen Erscheinungen feststellen. Wenn Ratten 6 Tage vor der Alloxanverabfolgung hypophysektomiert werden, unterscheidet sich die Hyperglykämie nicht mehr von normalen Kontrolltieren (MARTINEZ, ORIAS). Die Untersuchungen von GRIFFITH (1947) zeigen, daß, wenn man den hypophysektomierten Tieren genügend Zeit zur Erholung gibt, die Blutzuckerkurven den Kurven der scheinoperierten Kontrolltiere entsprechen. Die gegensätzlichen Beobachtungen erklärt er mit der recht unterschiedlichen Versuchsanordnung der einzelnen Untersucher. Im Sinne GRIFFITH sprechen auch die Befunde von C. C. BALLEY, LE COMPTE, O. T. BALLEY und FRANSEEN. Sie konnten jeweils nach 2 Wochen bei Ratten einen Alloxandiabetes erzeugen, der nicht sehr ausgesprochen war und bei welchem die Blutzuckerwerte die Tendenz hatten, sich bald zu normalisieren. Der schwächere Grad der Hyperglykämie nach Hypophysektomie kann mit dem „HOUSSAY-Effekt“ erklärt werden, nämlich, daß nach gleichzeitiger Pankreatektomie und Hypophysektomie der Diabetes mellitus verschwindet. Nach Zwischenhirnpunktion (J. ANDREU-URRA, 1950) bei Hunden vor der Alloxanisierung trat im Verlauf des Diabetes keine Abweichung auf. L. G. ABOOD und J. J. KOCIS (1950) beschrieben bei 50 % der von ihnen hypophysektomierten Ratten eine verminderte Glykogensynthese in der Leber. Nach ACTH-Gaben konnte dieser Zustand wieder normalisiert und gleichzeitig der Glykogengehalt des Gehirns ausgeglichen werden. Der Adenosintriphosphorsäuregehalt war bei mit ACTH behandelten hypophysektomierten Ratten geringer als bei nur hypophysektomierten Tieren. Auch die Menge der Adenosindiphosphorsäure war herabgesetzt, das Verhältnis der Adenosintriphosphorsäure zur Adenosindiphosphorsäure war 1 : 7 bei den behandelten Tieren 10:1. Der Adenylsäuregehalt war bei den unbehandelten Tieren um 50 % erniedrigt. Die anaerobe Glykolyse der hypophysenlosen Tiere war im Gehirn gegenüber den Kontrolltieren um 20 % herabgesetzt.

Versuchsanordnungen.

Unsere Untersuchungen beziehen sich hauptsächlich auf die Frage der *Einwirkung der Hypophysektomie auf einen bereits bestehenden Diabetes* und eine Besserung des klinischen Zustandsbildes.

Die Gruppe der Tiere dieser Versuchsreihe sind gemischt-geschlechtlich und weisen ein durchschnittliches Körpergewicht von 250—300 g auf. Vor der Hypo-

physektomie wurden die Tiere mit einer Einzeldosis von 200 mg Alloxan je Kilogramm Körpergewicht diabetisch gemacht. Unter Kontrolle der Blutzuckerwerte nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN wurde 24 Std später (Beginn der Hyperglykämie) hypophysektomiert. Von den zahlreichen Methoden der Hypophysektomie erwies sich folgende als die zuverlässigste: Das Tier wird in Rückenlage auf einem Rattenbrett fixiert und mit Äther narkotisiert. Man führt von der Papilla submentalis bis zum Jugulum einen medianen Hautschnitt. Die nun sichtbaren großen Speicheldrüsen werden jetzt in der Mittellinie stumpf freipräpariert und mittels Retraktoren zur Seite gehalten. Um den Luftzutritt während der Operation frei zu halten, wird nun nach stumpfer Freipräparation der Trachea mit einer kleinen Injektionskanüle eine Incision zwischen 2 Trachealknorpeln unterhalb der Schilddrüse ausgeführt und eine stumpfwinklig abgebogene dünne Glaskanüle eingeführt. Die Narkose kann jetzt am freien Ende der Kanüle gegeben werden. Mit einer an ihrem Ende gebogenen Pinzette wird jetzt der Musculus digastricus und der Nervus hypoglossus rechts vom Kehlkopf freipräpariert und zur Seite geschoben, während man den Pharynx gegen die Mittellinie verschiebt, um zur Schädelbasis zu gelangen. An der Schädelbasis sucht man vor allem den rechten Processus pterygoideus auf, der stark hervorsteht und leicht zu finden ist. Caudal von demselben wird der Pharynx von der Schädelbasis losgelöst. Quer durch die nun frei gelegte Knochenfläche zieht eine feine bläuliche Linie, die der Synchondrosis sphenooccipitalis entspricht. Um Blutungen aus dem Sinus cavernosus zu vermeiden, ist es am besten, den Knochen genau in der Mittellinie ein wenig cranial von dieser Synchondrose zu eröffnen. Unserer Erfahrung nach ist zur Eröffnung am besten ein Bohrer geeignet, wie ihn die Zahnärzte benutzen. Vermittels einer gespreizten, an ihren Enden abgebogenen Pinzette werden die Weichteile von der freigelegten Knochenplatte abgehalten. Der Bohrer wird nun so angesetzt, daß das entstehende Bohrloch etwa zu einem Drittel die Synchondrose bedeckt. Nach vorsichtigem Aufbohren stellt sich das innere Periost dar, das infolge seiner Elastizität dem Bohrer ausweicht. Das Periost läßt sich nun mit einem kleinen abgebogenen, scharf geschliffenen Raspatorium aufschlitzen. Nun kann man die Hypophyse als eine rosenrot glänzende Halbkugel liegen sehen. Die Hypophyse wird nun mittels einer rechtwinklig abgebogenen, an ihrem Ende sich verjüngenden Glaskanüle, die mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden ist, vorsichtig unter mäßigem Unterdruck abgesaugt. Bei entsprechender Übung dauert diese subtile Operation etwa 10 min. Blutungen, soweit sie nicht aus dem lädierten Sinus kommen, können durch Wattetampons leicht beherrscht werden. Man kann zu einer Sicherung bei Beendigung des Eingriffs ein Stückchen Muskulatur auf die Blutungsstelle bringen. Die Tracheotomiewunde bleibt unversorgt, da sie von selbst verwächst. Muskelnähte werden nicht angelegt, da die Muskulatur nur stumpf und in Faserrichtung auseinander gedrängt wird. Die postoperative Mortalität ist bei entsprechender Pflege der Tiere außerordentlich gering. Es ist jedoch wichtig, die Tiere nach der Operation in einem gleichmäßig warmtemperierten Raum zu halten. Unsere Mortalitätsquote konnten wir mit 15% nach dem 10. Tag festlegen. Die Tiere unserer Versuchsanordnung standen bis zu 10 Tage im Versuch und wurden in Äthernarkose dekapitiert. Durch Schädelsektion vergewisserten wir uns von dem Erfolg der Hypophysektomie, der in jedem Falle zu verzeichnen war. Die Organe wurden nach Fixation mit BOUINScher Lösung in Paraffin eingebettet, und dann nach der Originalmethode nach GOMORI (Pankreas), Hämatoxylin-Eosin und Gieson gefärbt. Ein Teil der Organe wurde in Formol und ein Teil in absolutem Alkohol fixiert, um die Sudanfärbung und die Darstellung des Glykogens nach BEST zu ermöglichen (Abb. 7).

R 81, 79 und 31 der Tabelle 5 sind Kontrolltiere, bei denen lediglich eine Hypophysektomie durchgeführt wurde. Die Tiere 29 und 38 standen 5 bzw.

10 Tage im Versuch. Die Blutzuckerkurve umfaßt alle Tiere, außer den Kontrolltieren. Die beiden letzten Werte des 5. und 10. Tages sind Durchschnittswerte der Tiere R 38 und 29. Im Verlauf der Kurve sieht man 1 Std nach Alloxanisierung eine geringe hypoglykämische Schwankung, die von einem geringen Ansteigen gefolgt wird. Die zweite hypoglykämische Phase wurde 6 Std gemessen. Nach 24 Std wurden die Tiere hypophysektomiert. An Hand der Kurve kann ein deutliches Ansteigen der Blutzuckerwerte gezeigt werden.

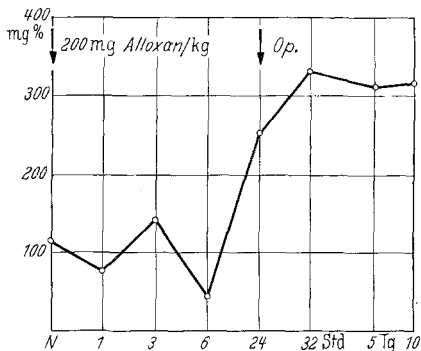


Abb. 7. Blutzuckerkurve der Tiere, die 24 Std nach der Alloxanisierung (200 mg/kg) hypophysektomiert wurden.

Die Untersuchungsergebnisse dieser Gruppe zeigen, daß eine Hypophysektomie auf einen bereits bestehenden Diabetes keinen Einfluß hat. Die Blutzuckerwerte werden nicht beeinflusst, das klinische Bild des Diabetes bleibt gleich schwer, im Gegenteil, die Tiere sind durch den Ausfall der Hypophysenhormone noch schwerer geschädigt. Die Alloxantiere, bei denen nach 24 Std eine Hypo-

Zusammenfassung. Die Untersuchungsergebnisse dieser Gruppe zeigen, daß eine Hypophysektomie auf einen bereits bestehenden Diabetes keinen Einfluß hat. Die Blutzuckerwerte werden nicht beeinflusst, das klinische Bild des Diabetes bleibt gleich schwer, im Gegenteil,

die Tiere sind durch den Ausfall der Hypophysenhormone noch schwerer geschädigt. Die Alloxantiere, bei denen nach 24 Std eine Hypo-

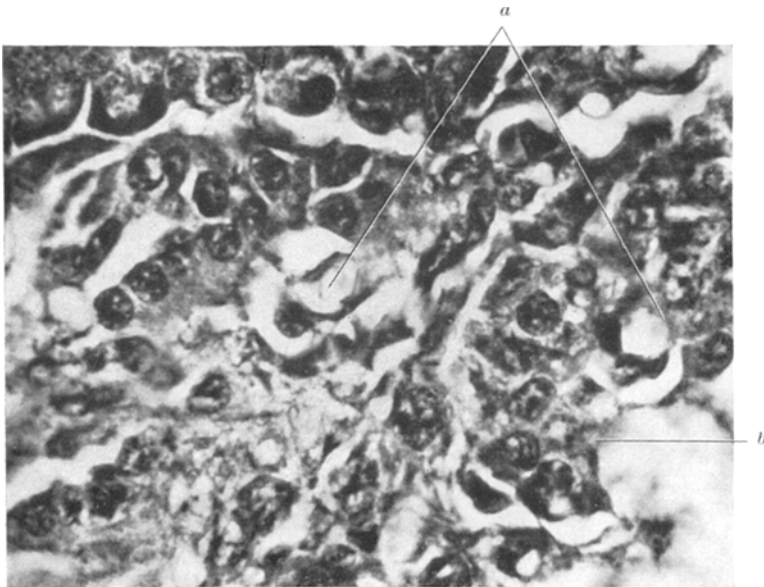


Abb. 8. R 76: Vereinzelte hydropische B-Zellen (a) in einer mittelgroßen Insel. Die meisten B-Zellen sind jedoch nekrotisch zerfallen. Die B-Zellgranula verklumpt (b), das Inselgefüge aufgelockert. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl.

physsektomie durchgeführt wurde, zeigten schwerste degenerative Veränderungen am Inselapparat, die in Nekrosen der B-Zellen sowie

Tabelle 5. *Hypophysektomie.*

	Nr.								
	81	76	77	79	31	21	22	38	29
<i>Pankreas</i>									
B-Zellen:									
Basalmembran									
Verdickt.		++				++	++		
Vacuolen		+							
Granula verklumpt. .		+	++			++	++		
Pyknose						+			
Nekrose		++	++			+	+++		
Ohne Besonderheiten .	+			+	+			+	+
Sklerose								+	+
<i>Nebenniere</i>									
Ödem der Rinde . . .			+						
Blutungen			+			+			
Nekrose		+++	++			++			
Lipoidverarmung . . .		++						+	+
Ohne Besonderheiten .	+			+	+		+		
<i>Niere</i>									
Tubulonephrose . . .		+	++			+++	+++	+	+
Glomerulonephrose . .		+	++			+++	++		
Verquellung der Basal-									
membran		++	+++			+++	++		
Verdickung der Basal-			++						
membran									
Blutungen									
Glykogen								+	+
Ohne Besonderheiten .	+			+	+				
Lebensdauer	24 Std	36 Std	36 Std	36 Std	36 Std	36 Std	36 Std	5 Tg.	10 Tg.

hydropische Entartung und kleinsten Kernvacuolen zum Ausdruck kamen. Im Phako sieht man eine deutliche Verdichtung der Zellmembranen bei den noch nicht zerfallenen B-Zellen. Vereinzelte B-Zellen mit noch erhaltenem Kern sind verhältnismäßig groß. Die Granula der B-Zellen sind grob verklumpt. Die Nebennieren der Alloxangruppen zeigen eine aufgelockerte Rinde sowie hier und da kleine Nekrosen und Blutungen. Die Nieren zeigen schwerste nekrotisierende Nephrose, Schwellung der Glomeruli, sowie Exsudation in die Kapselräume. Auch hier ist das Grundhäutchen deutlich verdichtet. Die Tiere mit einer Lebensdauer über 5 Tagen zeigen in ihren Inseln hauptsächlich A-Zellen sowie eine deutliche Zunahme des Bindegewebes. Man kann von sklerosierenden Veränderungen sprechen. Die im Zentrum verschiedener Inseln zu beobachtenden B-Zellen zeigen einen übergroßen Kern und im Cytoplasma deutliche Vacuolenbildung, teilweise sind die Vacuolen so groß, daß die Kerne komprimiert werden. Die Inselzahl und Größe ist deutlich herabgesetzt. Man beobachtet vorwiegend Inseln, die nicht größer als 100μ sind und die größten ihrer Art in den Bauchspeicheldrüsen darstellen. Die meisten Inseln sind

36—70 μ groß. Auch hier sieht man eine deutliche Verdichtung der Zellmembranen der geschädigten Zellen. Neben geringsten nephrotischen Erscheinungen in der Niere sieht man bei dieser Tiergruppe in den Kanälchenepithelien eine mehr oder weniger deutliche Glykogenspeicherung.

IV. Alloxanwirkung bei bilateraler Epinephrektomie.

Beim Zustandekommen des Alloxandiabetes, der durch eine Zerstörung der B-Zellen des Inselapparates bedingt ist, spielt die Nebenniere eine entscheidende Rolle. Sie läßt sich durch mangelnde Schutzwirkung des Insulins (GOLDNER und GOMORI, 1944) und durch nach Epinephrektomie ausbleibende Glykoneogenese in der Leber nachweisen (MORITA und ORTEN, 1950). Besonders wichtig für die Stellung der Nebenniere im experimentellen Diabetes erscheinen die Angaben von BENNETT und KONEFF (1946) über die Hyperplasie des Organs. Die Nebennierenrinde stellt das wichtigste Bindeglied zu dem Hypophysenvorderlappen dar und zeichnet sich durch die Fähigkeit, bei der Glykogensynthese mitzuwirken, aus. Sie ist imstande, die im Blute kreisende Milchsäure in der Leber zu Glykogen zu resynthetisieren. Die Atrophie oder die Zerstörung der Nebennierenrinde hat eine sehr schnelle Reduktion des Glykogens in der Leber zur Folge. Als unmittelbarer Insulinantagonist wird vom Nebennierenmark das Adrenalin gebildet, welches seine wichtigste Aufgabe in der Verhinderung lebensbedrohlicher Hypoglykämien besitzt. Das Adrenalin wirkt auf hormonalem und neuralem Wege (LUCKE und Mitarbeiter). Der neurale Wirkungsmechanismus läßt sich am besten mit dem Zuckerstich nach CL. BERNARD demonstrieren, der seine Wirksamkeit erst über das Nebennierenmark erhält. Bei einer akuten Überschwemmung des Organismus mit Adrenalin kommt es zu einer jedoch viel langsamer einsetzenden kompensatorischen Insulinausschüttung, die selbst nach Abklingen der Adrenalinwirkung ihren Fortgang nimmt und sich in einer bedrohlichen Hypoglykämie manifestiert. Durch häufige Adrenalinwirkungen auf das Inselorgan der Bauchspeicheldrüse kann es zu einer Erschöpfung der überanspruchten Insulinproduzenten kommen, deren Folge das Entstehen eines Unterfunktionsdiabetes (H. BARTELHEIMER) ist. Der Bedarf des normalen Organismus an Hormonen der Nebennierenrinde scheint verschiedenen Untersuchungen nach ein recht geringer zu sein. Erst Änderungen der inneren und äußeren Bedingungen bringen eine rasche und erhöhte Ausschüttung von Rindenhormonen mit sich. M. VOGT (1943/44) konnte zeigen, daß unter einem gewissen Beanspruchungszustand, der durch Agens und Reaktion im Organismus entsteht und der nach SELYE „Stress“ genannt wird, ein 10 kg schweres Tier die gleichen Mengen Nebennierenrindenhormon abgibt, als aus 17 kg Nebennieren durch Extraktion zu gewinnen ist.

Die Anpassung der Nebennierenrinde geschieht vorwiegend unter dem Einfluß des vom Hypophysenvorderlappen abgegebenen corticotropen Hormons, dem ACTH. Das ACTH bewirkt nun eine vermehrte Ausschüttung von Nebennierenrindenhormon aus den Reserven des Organs, außerdem regt es zur Neubildung und vermehrter Bereitstellung von neuem Hormon an. Dieser Vorgang ist nun mit einer Vergrößerung des Organs, d. h. mit strukturellen Umbauerscheinungen und mit histochemischen, sowie chemischen Veränderungen verbunden. Die sich aus den 3 Schichten, der Glomerulosa, Fasciculata und Reticularis aufbauende Nebenniere zeigt in ihrer Zona fasciculata (Lipoide, Ascorbinsäure, Plasmalogen) die funktionsbereite Schicht. Eine Leistungseinschränkung hat eine Einengung dieser Schicht und eine Verbreiterung der beiden anderen zur Folge. Die sog. regressive Transformation (TONUTTI) erreicht nach der Hypophysektomie ihren Höhepunkt. Die progressive Transformation, d. h. die Verbreiterung der Zona fasciculata ist das Ergebnis einer erhöhten corticotropen Tätigkeit. Die progressive Transformation erreicht im Tierversuch nach etwa 3—5 Tagen ihren Höhepunkt.

Unsere Untersuchungen bezogen sich auf den *Einfluß der Nebenniere auf die Hyperglykämie der alloxandibetischen Tiere*, sowie auf den weiteren Verlauf des Diabetes und auf die Organveränderungen.

Versuchsanordnungen.

a) Operationsmethode.

Wir schlugen bei der Epinephrektomie den transperitonealen Weg ein. Die Tiere wurden in Rückenlage auf dem Rattenoperationstisch festgebunden. In Äthernarkose wurde ein etwa 3 cm langer Mittelbauchschnitt angelegt. Wir exstirpierten zuerst immer die linke Nebenniere. Nach Darstellung der Milz wurde dieselbe etwas vorgezogen und gemeinsam mit dem Darmkonvult teils vor die Bauchhöhle nach rechts gedrängt. Die Niere wurde stumpf herabgezogen und das leicht gespannte Gewebe zwischen der dargestellten Nebenniere und dem oberen Nierenpol mit einer Klemme, wie sie gewöhnlich zur Gefäßchirurgie benutzt wird, abgeklemmt. Danach wurde die Nebenniere scharf herauspräpariert und der Gewebsstumpf mit einem dünnen Seidenfaden unterbunden. Etwas schwieriger gelingt die Exstirpation auf der rechten Seite, da die Nebenniere weitgehend von der Leber überlagert wird. Wir gingen genau so vor, wie auf der linken Seite und drängten die Leber etwas nach oben.

b) Postoperativer Verlauf.

Alle operierten Tiere machten einen schwerkranken Eindruck. Sie waren bewegungsunlustig, das Fell war gesträubt, die Ohren, Schnauze und Pfoten waren cyanotisch, die Körpertemperatur war herabgesetzt. Besondere Schwierigkeit bereitete die Blutabnahme. Der Schwanz mußte vor der Entnahme besonders lange in warmes Wasser gehalten und nachträglich mit Toluol abgerieben werden. Das entnommene Blut war dunkel und dickflüssig. Die Tiere dieser Versuchsreihe wurden nun in 3 verschiedene Gruppen eingeteilt.

Tabelle 6. I. Epinephrektomie, 24 Std später Alloxanisierung.

	Nr.					
	59	60	61	85	86	87
<i>Pankreas</i>						
B-Zellen:						
Zellgrenzen verwaschen	++	++		+++		
Granula verklumpt	+++	+++	++	+++	+++	++
Vakuolen	++		++	++		++
Pyknose						+
Nekrose	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Zellmembran verdichtet	++	++	++	++	++	++
<i>Niere</i>						
Tubulonephrose	+++	+++	+++	++	+++	++
Glomerulonephrose	++	+++				
Verdichtete Basalmembran	+	++	++	+	++	+
<i>Herzmuskel</i>						
Querstreifung ausgefallen	++		++		+++	++
Scholliger Zerfall		+++	+	+	+	+
Nekrose						
Blutungen						
Ohne Besonderheiten						
<i>Milz</i>						
Hyperämie						
Aktivierung der RES	++	+++	+++	+++	+++	++
Lymphatisches System reduziert	+	+++	++	++		+

Gruppe I. Die Tiere dieser Gruppe erhielten unmittelbar nach der Epinephrektomie eine diabetogene Einzeldosis von 200 mg Alloxan/kg intraperitoneal. Die Blutzuckerwerte zeigten bereits 3 Std nach der Operation und der Injektion einen Abfall um mehr als die Hälfte der Normalwerte. Nach 7 Std konnten nur noch Werte von 10 mg-% bestimmt werden. Nach 7 Std wurden die Tiere in Äthernarkose dekapitiert (Abb. 9).

Gruppe III. Die Gruppe dieser Tiere wurden nur epinephrektomiert und erhielten kein Alloxan. Auch hier kann man ein Absinken der Blutzuckerwerte bereits nach 3 Std um mehr als die Hälfte nachweisen, nach 5 Std erreicht die Hypoglykämie ihren Höhepunkt. In den folgenden Stunden kam es wieder zu einem geringen Ansteigen des Blutzuckers, jedoch verblieben alle Tiere dieser Gruppe in einer mehr oder weniger schweren Hypoglykämie. Die Blutzuckerkurve dieser Tiere ist zum Vergleich auf der Kurve der Tiere der Gruppe I registriert.

Gruppe II. Die Tiere dieser Gruppe wurden 24 Std vor der Epinephrektomie alloxanisiert. Man kann hier wieder einen typischen Verlauf der Alloxankurve beobachten mit einer beträchtlichen Hyperglykämie nach 24 Std. Da erfahrungsgemäß die Hyperglykämie ihren Höhepunkt nach 36 Std zu erreichen pflegt, haben wir nach der Zeitspanne von 24 Std nach der Alloxanisierung epinephrektomiert und den Verlauf der Blutzuckerkurven festgehalten. Auch in dieser Gruppe konnten wir 3 Std nach der Operation bereits ein Absinken der Blutzuckerwerte beobachten, nach 24 Std war der Blutzucker um mehr als $\frac{3}{4}$ der höchsten Hyperglykämie gesunken. Alle Tiere wurden 48 Std nach der Alloxanisierung getötet. Die lebensfrischen Organe wurden fixiert und eingebettet.

Nach der Einbettung wurden die Organe verschiedenen Färbeverfahren unterzogen. Die Bauchspeicheldrüsen wurden nach GOMORI, die Leber nach HÄMAT-

oxylin-Eosin und BEST, die Nieren nach Hämatoxylin-Eosin, nach BEST und Sudan III gefärbt. Die Auswertung der einzelnen Organe ergab. (Abb. 10).

Die Befunde an der Leber der einzelnen Versuchstiere waren so gleich, daß sie zusammengefaßt werden können. In allen Fällen sah man eine trübe Schwellung und eine Dilatation der kleinen Gefäße. Bei der Glykogenfärbung konnte kein besonderer Befund erhoben werden. Die Fettfärbung war negativ. Die Lebensdauer post operationem et injectionem betrug bei den Tieren R 59, R 60, R 61, R 86, R 87 7 Std und bei dem Tier R 85 nur 4 Std.

Die Veränderungen an der Leber waren bei dieser Tiergruppe ebenfalls gleichartig und können gemeinsam zusammengefaßt werden. Im Glykogenpräparat sah man eine herdförmige, vorwiegend zentrale Verarmung an Glykogen. Im Fettpräparat konnte man bei allen Tieren, die eine Gesamtlebensdauer von 48 Std hatten, eine ganz feintropfige Ver-

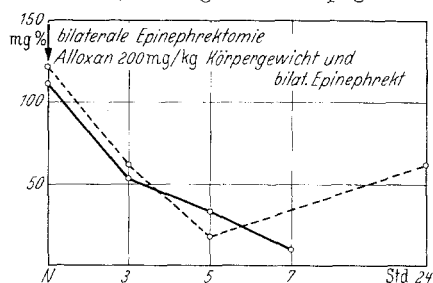


Abb. 9.

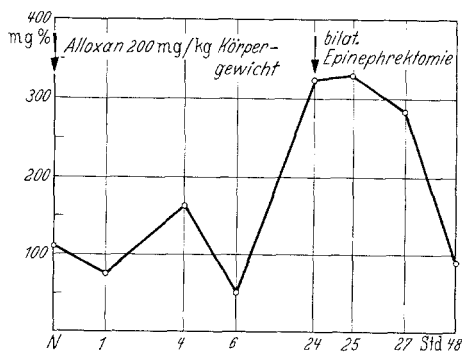


Abb. 10.

Abb. 9. Blutzuckerkurven der Tiergruppe I und III. Die Tiere der Gruppe I erhielten unmittelbar nach der Epinephrektomie 200 mg/kg Alloxan i. p. Die Tiere der Gruppe III wurden nur epinephrektomiert. Gruppe I: ———, Gruppe III: - - - -

Abb. 10. Blutzuckerkurve der Tiergruppe II. Einzeldosis von 200 mg/kg Alloxan. 24 Std p. i. bilaterale Epinephrektomie.

fettung beobachten. Die Milz zeigt in allen Fällen eine Schwellung des RE und undeutlich abgrenzbare spärlich vorhandene Lymphfollikel. Der Herzmuskel zeigte neben einer trüben Schwellung herdförmigen Zerfall der Querstreifung.

Tabelle 7. II. Alloxanisierung. 24 Std später Epinephrektomie.

	Nr.					
	67	91	92	93	94	95
<i>Pankreas</i>						
B-Zellen:						
Zellgrenze unscharf	+++	++	+++	++	+++	+++
Granula verklumpt	+++	++	+++	++	+++	++
Vacuolen	+		+	+		+
Pyknose	+++	+++	++	+++	+++	+++
Nekrose	+++	+	++	++	+++	++
Zellmembran	+++	+	++	++	+++	++
<i>Niere</i>						
Tubulonephrose	+++	+++	+++	+++	++	++
Glomerulonephrose	+	++	+++	+++	++	
Verdichtete Basalmembran. .	+	+	+	++	++	+

Gruppe III. Die histologische Befunde der Kontrolltiere, die lediglich epinephrektomiert wurden, werden ebenfalls wegen der Ähnlichkeit der Befunde gemeinsam besprochen. Der Inselapparat der Bauchspeicheldrüse war unverändert mit regelrechtem Zellverhältnis. Im Phasenkontrast sah man eine feine dichte Granulierung der B-Zellen, die Zellmembranen waren eben noch sichtbar. Die Kerne von regelrechter Größe. Das exkretorische Parenchym unverändert. Die Herzmuskulatur, die Leber und Nieren waren geringgradig trüb geschwollen, die Gefäße, selbst die kleinsten Capillaren, maximal erweitert (Abb. 11).

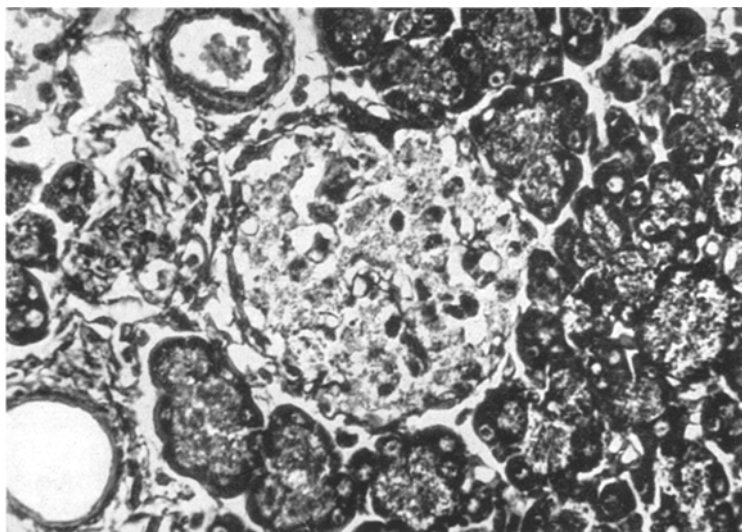


Abb. 11. R 59: Epinephrektomie und 200 mg Alloxan/kg. Vollkommene B-Zellnekrose. Vereinzelte B-Zellen hydropisch degeneriert. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 40.

Zusammenfassung. Alle Tiere dieser Gruppe zeigten nach der Operation neben einer Adynamie schwere Kollapserscheinungen. Die Zirkulation war schwerstens beeinträchtigt. Bei der Sektion konnte man neben einer geringen Eindickung des Blutes auch eine maximale Blutfülle der abdominalen Gefäße erkennen.

Regelmäßig konnte man unmittelbar nach der Operation beginnend eine tiefe Remission des Blutzuckers beobachten. Die nur epinephrektomierten Tiere zeigten den höchsten Grad der Hypoglykämie nach 5 Std, in den folgenden 24 Std kam es zu einem geringen Anstieg der Blutzuckerwerte, alle Tiere dieser Gruppe verbleiben jedoch in einem hypoglykämischen Zustand. Die Tiere, die unmittelbar nach der Epinephrektomie Alloxan (200 mg/kg) erhielten, mußten wegen des schweren hypoglykämischen Zustandes bereits 7 Std später getötet werden. Der Verlauf der Blutzuckerkurve war gleichmäßig fallend, eine sonst bei Alloxanisierung zu beobachtende hyperglykämische Schwankung konnte nicht nachgewiesen werden. Wurden die Tiere vor der Epi-

nephrektomie alloxanisiert, so sah man den typischen Blutzucker-verlauf nach Alloxaneinwirkung, die Epinephrektomie wurde zu einem Zeitpunkt, nämlich nach 24 Std, zu dem die höchsten Blutzuckerwerte noch nicht erreicht sind, durchgeführt. Auch hier beobachtete man ein rapides Absinken der Hyperglykämie. Die histologischen Veränderungen bestanden in den Inseln in vollkommener Nekrose der B-Zellen, Dilatation der Inselcapillaren sowie stellenweise kleinen Blutungen. Auch die Niere zeigte neben einer hochgradigen teilweise nekrotisierenden Nephrose eine Dilatation des Gefäßsystems mit zahlreichen Blutungen besonders an der Mark-Rindengrenze. Auch die übrigen Organe zeigten im histologischen Bild eine deutliche Atonie der Gefäße.

V. Alloxanwirkung bei Thyreodektomie.

Schon aus der klinischen Pathophysiologie ist bekannt, daß die Prognose des Diabetes mellitus durch einen Morbus Basedow erheblich verschlechtert wird. Der durch eine Hyperthyreose oder Thyreotoxikose erhöhte Umsatz wirkt sich in einer Überbeanspruchung des Pankreas aus. Bei der Kombination von Diabetes und Basedow lassen sich auch manchmal insulinresistente Fälle beobachten. Ist die Überfunktion der Schilddrüse hypophysärer Natur, d. h., wird sie durch eine Überfunktion des Hypophysenvorderlappens hervorgerufen, so findet man auch eine Vermehrung der thyreotropen Fraktion des Hypophysenvorderlappens im Blute.

Am Perfusionspräparat konnte gezeigt werden (E. ANDERSON und J. A. LONG, 1946/47), daß weder Thyroxin noch Adrenalin den Sekretionsreiz auf die Inseln bei einer Hyperglykämie aufzuheben vermag. HOUSSAY rief bei einem partiell pankreatektomierten Hund bei einer vermehrten Verabfolgung von Schilddrüsenhormon eine Glykosurie hervor. Untersuchungen über die Wirkung des thyreotropen Hormons zeigten auch hier, daß keine Einwirkung auf die Sekretion erfolgt.

Eine Thyreodektomie hat eine Erhöhung der Glucosetoleranz zur Folge, Schilddrüsenhormon setzt sie hingegen herab, und ist imstande, eine alimentäre Glykosurie hervorzurufen. Es wird angenommen, daß die herabgesetzte Glucosetoleranz bei Hyperthyreosen auf eine herabgesetzte Speicherfähigkeit in den Leberzellen zurückzuführen ist, da vermehrte Zufuhr von Schilddrüsenhormon eine Glykogenentspeicherung der Leber zur Folge hat, ohne den Glykogengehalt der Muskulatur zu beeinflussen. Die beschleunigte Glucose-Absorption aus dem Darm und die Schädigung der LANGERHANSschen Inseln werden auch eine gewisse Rolle spielen. Die glykogenentspeichernde Wirkung des Thyroxins auf die Leberzellen wird durch den Vitamin B-Komplex aufgehoben. In früheren Jahren führte man mit geringem Erfolg bei Diabeteskranken eine Thyreodektomie durch.

Untersuchungen ergaben, daß die Alloxanempfindlichkeit nach Schilddrüsenexstirpation herabgesetzt und daß sie durch Schilddrüsenpräparate erhöht wird. Verabfolgt man z. B. Alloxan und Methylthiouracil gemeinsam, so kann man ein Absinken der Mortalität im

Vergleich zu den nur alloxanisierten Tieren sehen. Bei der Verabfolgung von Methylthiouracil konnte man auch eine beschleunigte Regeneration beobachten. Die Bindegewebshüllen der Insel verschwanden allmählich, die Inseln erhielten so einen besseren Kontakt mit den benachbarten Drüsenzellen. Die angrenzenden Drüsenzellen sollen zymogenfrei sein und ihre Kernfärbbarkeit ist herabgesetzt, so daß sie von verschiedenen Untersuchern als Übergangszellen angesprochen werden. Der daraus mögliche Schluß ist, daß bei Ratten eine Regeneration von Inselgewebe aus dem Drüsengewebe möglich wäre.

a) Versuchsanordnung.

Von 6 Ratten wurden 3 lediglich thyreodektomiert, weitere 3 Ratten wurden thyreodektomiert und mit einer diabetogenen Einzeldosis von 200 mg/kg Alloxan beschickt. Bei beiden Tiergruppen wurde die Blutzuckerbestimmung nach HAGEDORN-JENSEN in regelmäßigen Zeitabständen durchgeführt. Unsere Fragestellung bei dieser Versuchsanordnung war, ob eine Thyreodektomie einen Einfluß auf eine unmittelbar danach eingeleitete Alloxanisierung hat, vor allem wurde den Blutzuckerwerten bei den Versuchstieren und bei den Kontrolltieren besondere Beachtung geschenkt.

b) Operationsmethode.

Die narkotisierten Tiere werden in Rückenlage auf dem Rattenoperationstisch befestigt. Der Kopf wird am besten durch Anschlingen der Zähne des Oberkiefers mit einem Bindfaden fixiert. Danach legt man einen Schnitt in der Mittellinie des Halses von der Papilla submentalis bis zum Jugulum an. Die freiliegenden Speicheldrüsen werden nun stumpf zur Seite gezogen. Nun stellt man sich die Trachea dar. Kurz unterhalb des Kehlkopfes sieht man links und rechts von der Trachea die rötlich gefärbte Schilddrüse. Es gelingt leicht, die beiden Schilddrüsenlappen stumpf zu mobilisieren. Beide Lappen werden möglichst nahe an der Trachea umstochen und abgebunden. Nach dem Abbinden werden sie scharf abgetragen. Kommt es dabei zu Blutungen, so gelingt es leicht, dieselben durch Thermokoagulation zum Stehen zu bringen. Es erfolgt danach Verschluß der Operationswunde.

c) Alloxanisierung und postoperativer Verlauf.

Unmittelbar nach der Operation wurden die Tiere mit einer Einzelgabe von 200 mg Alloxan/kg diabetisch gemacht. Die Blutzuckerwerte wurden genau registriert. 48 Std nach der Alloxanisierung wurden die Tiere in Äthernarkose dekapiert. Alle Tiere waren nach der Operation bewegungsunlustig, das Fell war gesträubt, die Körpertemperatur war deutlich herabgesetzt (Abb. 12).

An beiden Kurven (die gestrichelte Kurve stellt die Werte der Kontrolltiere zum Vergleich) sieht man 3 Std nach der Thyreodektomie einen Anstieg der Blutzuckerwerte, die in der Folgezeit bei den Kontrolltieren langsam absinken. Die alloxanierten Tiere zeigen den gewöhnlichen Verlauf der Alloxankurven mit einer initialen hypoglykämischen Remission, die von einer geringen hyperglykämischen Schwankung abgelöst wird, um in eine zweite hypoglykämische

Remission überzugehen. Schließlich kommt es zur Ausbildung einer hochgradigen Hyperglykämie, die nach 48 Std einen Durchschnittswert von 660 mg-% erreicht hat. Die Kontrolltiere zeigen ein geringgradiges Schwanken der Werte, die jedoch immer wieder der Norm zustreben.

Zusammenfassung. Bei allen Tieren konnte man unmittelbar nach der Thyreodektomie einen kurzen Anstieg der Blutzuckerwerte beobachten. Die Kontrolltiere zeigten bereits nach kurzer Zeit eine Normalisierung der Blutzuckerwerte. Die unmittelbar nach der Operation alloxanisierten Tiere zeigten einen charakteristischen Alloxankurvenverlauf. Die Operation hatte also keinen Einfluß auf den Verlauf der Blutzuckerkurve. Die nach 48 Std gemessenen hyperglykämischen Werte betrugen bis zu 660 mg-%. Die Tiere zeigten kurz nach der Operation ein Absinken der Körpertemperatur, das Fell war gesträubt, die Tiere im allgemeinen bewegungsunlustig.

Die Sektion ergab nur bei den Alloxantieren dieser Gruppe eine akute Stauungshyperämie der Leber, Milz und Nieren. Auch die Gefäße des Mesenteriums und des Netzes waren prall mit Blut gefüllt. Bei einem Tier konnte man ein deutliches Lungenödem beobachten. Histologisch

konnte man nur bei den Alloxantieren eine undeutliche Abgrenzung der Inseln gegen das exkretorische Parenchym beobachten. Die sonst zarte Bindegewebshülle ließ sich auch mit dem Phasenkontrastverfahren nicht nachweisen. Die Inseln setzen sich vorwiegend aus A-Zellen zusammen, die B-Zellen sind nur sehr spärlich zu beobachten. Ihre Kerne sind pyknotisch, außerdem sind sie hydro-pisch degeneriert. Die Granula sind verklumpt, die Zellmembranen im Phasenkontrastbild deutlich verdichtet. Die Nieren zeigen schwerste

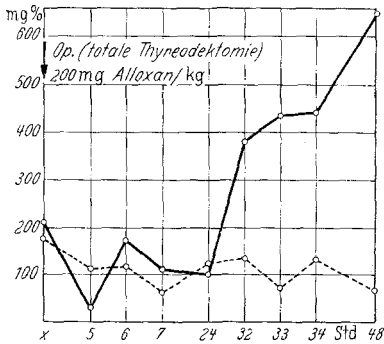


Abb. 12. Unmittelbar nach totaler bilateraler Thyreodektomie Alloxanisierung (200 mg/kg). × = 3 Std nach der Operation.

Tabelle 8. Thyreodektomie und Alloxanisierung.

	Nr.		
	51	52	53
<i>Pankreas</i>			
B-Zellen:			
Zellgrenzen	++		
Granula verklumpt.	++	++	+
Vacuolen	+		
Pyknose	++	+++	++
Nekrose	++	+++	+++
Zellmembran			
Inselgrenzen	+++	+++	+++
<i>Niere</i>			
Tubulonephrose . .	++	+++	+++
Glomerulonephrose .	++		+++
Verdichtete Basal-			
membran	+		+
Lebensdauer	48 Std	48 Std	48 Std

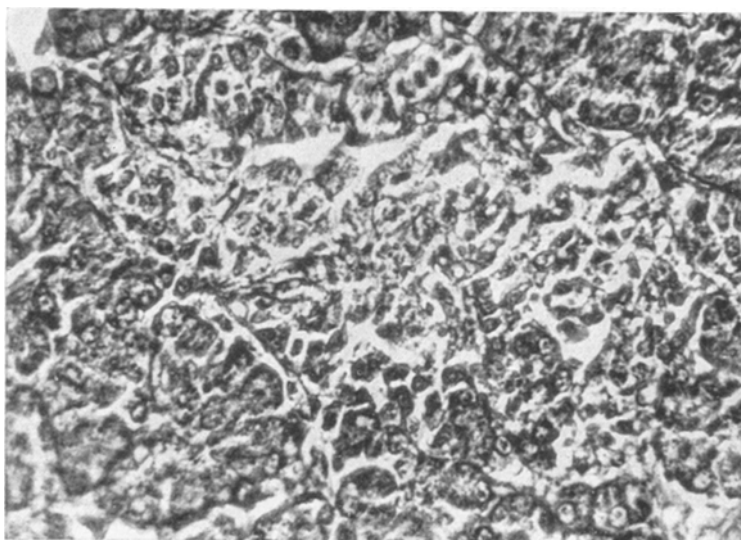


Abb. 13. R 52. Thyreodektomie und 200 mg Alloxan/kg. Eine etwa $125\ \mu$ große Insel, die sich von dem umgebenden exkretorischen Parenchym fast nicht abhebt. Die zentral gelegenen B-Zellen sind größtenteils nekrotisch. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 40.

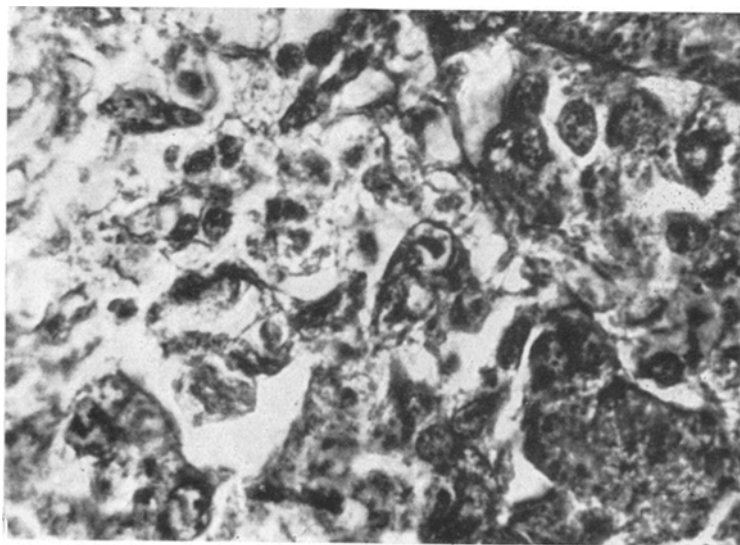


Abb. 14. R 52. Thyreodektomie und 200 mg Alloxan/kg. Randpartie der gleichen Insel. Neben zahlreichen degenerativ veränderten und nekrotischen B-Zellen kann man vereinzelt A-Zellen erkennen. In das exkretorische Parenchym senkt sich an der rechten Seite ein Zellzapfen ein, der aus sehr großkernigen Zellen besteht. Die Granula dieser Zellen sind spärlich und grob. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl.

nekrotisierende Veränderungen der Tubuli, daneben zahlreiche Blutungen in Rinde und Mark. Die Nebennieren sind bei den alloxanierten Tieren schwerstens geschädigt. Die Rinde ist lipoidarm, neben streifigen Nekrosen sieht man auch kleine Blutungen. Selbst das Mark ist aufgelockert, die Blutgefäße erweitert und prall mit Blut gefüllt. Ganz vereinzelt kann man auch degenerativ veränderte Zellen beobachten. Die Leber ist trüb geschwollen, herdförmig läßt sich eine geringe Glykogenverarmung nachweisen.

VI. Alloxanwirkung bei bilateraler Nephrektomie und die Bedeutung der Nieren beim experimentellen Diabetes.

Als nicht außergewöhnlich beim Diabetes kann man die Proteinurie, Lipidnephrose und selbst verschiedene Formen der Nephritis ansprechen. Die für den Diabetes charakteristische Nierenveränderung ist die Glykogenspeicherung, die man fast als pathognomisch bezeichnen kann. Bislang ist es noch zweifelhaft, ob die häufige Verbindung der Hypertension mit dem Diabetes, ein sekundäres auf die Nieren zurückführendes Geschehen darstellt. Die Verbindung der intercapillaren Glomerulosklerose mit Nephrose, Hochdruck und milden Diabetes wird in der Klinik gewöhnlich als KIMMELSTIEL-WILSON-Syndrom bezeichnet. Noch nicht eindeutig erscheint die Frage der Stellung der Niere bei verschiedenen endokrinen Störungen geklärt zu sein. Man nimmt heute an, daß die Niere aktiv bei der Synthese der Kohlenhydrate aus Fett und Eiweiß eine gewisse Rolle spielen.

F. GRANDE COVIAN, C. JIMENEZ DIAZ und J. C. DE OYA (1949) stellten Untersuchungen über die Aufgabe der Niere im Kohlenhydratstoffwechsel an. Sie führten bei Hunden eine bilaterale Nephrektomie durch, die vorher pankreatektomiert wurden. Sie stellten eine Verschlimmerung des pankreatogenen Diabetes fest. Die nach der Pankreatektomie gemessenen Blutzuckerwerte betrugen durchschnittlich 334 mg-% und stiegen nach der bilateralen Nephrektomie binnen 24 Std auf 664 mg-% an. Auch an Hand der Zuckertoleranzproben konnte eine Verschlimmerung des Diabetes nach Nephrektomie bewiesen werden. Der bestimmte Zuckermittelwert wurde nach 120 min mit 494 mg-%, nach 24 Std mit 840 mg-% und nach 48 Std mit 1245 mg-% angegeben.†[Sie konnten beweisen, daß diese Erscheinung nicht auf die Ausscheidungsstörung des Zuckers durch die Niere zurückzuführen ist, da bei einer bilateralen Ureterligatur die Blutzuckerwerte nicht verändert werden. Sie konnten dadurch auch den Einfluß der Urämie auf dieses Geschehen ausschließen. Bei einer partiellen Pankreatektomie scheint die Nephrektomie keinen Einfluß auf den Blutzucker zu haben, das gleiche wird von gesunden Tieren berichtet. Verabreicht man bei Hunden nach Pankreatektomie 100 mg/kg Alloxan, so gelingt es ebenfalls, eine ähnliche Urämie, wie man sie durch Nephrektomie setzt, auszulösen. Die Verfasser sehen darin einen Beweis, daß die Alloxanwirkung hauptsächlich die Nieren betrifft. Sie nehmen an, daß die Niere eine wichtige Rolle im Kohlenhydratstoffwechsel spielt und glauben, auch von einem aktiven Nierenparenchym sprechen zu können.

Die mit der Schwere des experimentellen Diabetes parallel verlaufenden Nierenveränderungen veranlaßten auch uns, Untersuchungen des

Einflusses der Nieren auf den experimentellen Diabetes auszuführen. Wir verwendeten als Versuchstiere auch in dieser Reihe Ratten. Es ist bekannt, daß das Nagerpankreas zur Totalexstirpation nicht geeignet ist. Trotzdem gelang es uns nach der bereits angegebenen Methode, über 95% der Bauchspeicheldrüse zu resezieren. Die Tiere überstanden die Pankreatektomie gut, sie wurden 2 Tage lang nach der Operation mit physiologischer NaCl-Lösung gefüttert und nach Abklingen der postoperativen Erscheinungen auf Normalkost gesetzt.

a) Versuchsanordnung.

Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt. Die 1. Gruppe wurde 24 Std nach der Alloxanisierung mit einer diabetogenen Einzeldosis von 200 mg/kg bilateral nephrektomiert. Die 2. Gruppe erhielt nach der vorausgegangenen Alloxanisierung und Nephrektomie rohen Nierenextrakt zweier gesunder Rattennieren und die 3. Gruppe wurde 3 Tage nach der subtotalen Pankreatektomie bilateral nephrektomiert. Die Kontrolltiere der einzelnen Gruppen wurden nicht nephrektomiert, doch eine bilaterale Ureterligatur durchgeführt. Die Blutzuckerwerte wurden in verschiedenen Zeitabständen nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN gemessen und registriert.

b) Methode der Nephrektomie.

Wir wählten bei der Methode der Nephrektomie den transperitonealen Weg, erstens muß bei dieser Methode nur ein Schnitt angelegt werden und zweitens näht sich die Bauchhaut leichter als die ziemlich derbe Rückenhaul der Ratten. Die Tiere wurden in Rückenlage auf dem Rattenoperationstisch befestigt, wir haben meistens unter den Lendenabschnitt des Rückens eine kleine Zellstoffrolle gelegt. Man legt nun einen ziemlich langen Mittelbauchschnitt an. Die Därme werden bei der Exstirpation auf die gegenüberliegende Seite gedrängt, ein Teil läßt sich bequem vor die Bauchdecke lagern. Die freiliegenden Eingeweide werden laufend mit physiologischer NaCl-Lösung befeuchtet. Nach der Darstellung des Nierenlagers wird die Niere mit einer feinen Klemme an ihrem Stiel abgeklemmt, der Strang läßt sich recht einfach umstechen. Nach Abbindung des Stiels wird die Niere scharf abgetragen und die Klemme gelöst. Vor dem Abtragen der Niere schlitzt man mit einem kleinen Skalpell die Kapsel auf, auf diese Art gelingt es verhältnismäßig einfach und schnell, beide Nieren zu exstirpieren.

c) Methode der Ureterligatur.

Transperitoneales Vorgehen, wie bei der Nephrektomie angegeben. Darstellung des Ursprungs des Musculus iliopsoas. Mit einer Präparierlupe (Stirnlupe) läßt sich bei einiger Übung der Ureter leicht auffinden und unterbinden. Der Erfolg der Operation läßt sich bei der Sektion der Tiere leicht auf Grund der Hydronephrose und der Hydrureterbildung sowie der Harnsperrre während des Lebens feststellen.

Gruppe I. Die Tiere dieser Gruppe wurden 24 Std nach der Alloxanisierung mit einer diabetogenen Einzeldosis von 20 mg/kg, bilateral nephrektomiert.

Bereits wenige Stunden nach der Nephrektomie beobachtete man einen Anstieg des Blutzuckers. 24 Std nach der Operation war der Blutzuckerwert etwa doppelt so hoch als zum Zeitpunkt der Operation. Die Kontrolltiere dieser Gruppe, die lediglich nach vorausgegangener Alloxanisierung ureterligiert wurden, zeigten

einen Alloxanverlauf der Kurve, jedoch keine zusätzliche Erhöhung der Blutzuckerwerte, zumindest nicht nennenswerte Maßeinheiten. Die Sektion der nach 48 Std durch Dekapitation getöteten Tiere ergab neben einem Lungen-

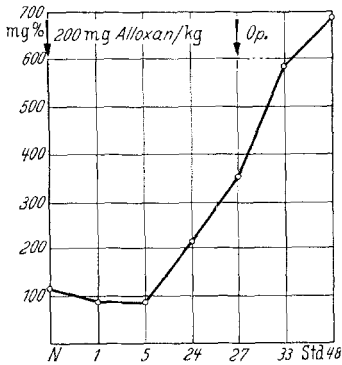


Abb. 15.

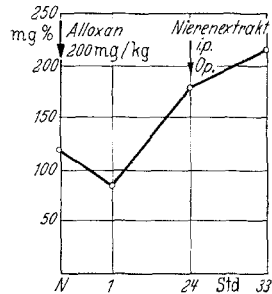


Abb. 16.

Abb. 15. Blutzuckercurve alloxanisierter Ratten (200 mg/kg). 24 Std nach Alloxan-
verabfolgung bilaterale Nephrektomie.

Abb. 16. Die Tiere dieser Gruppe wurden 24 Std nach der Alloxanisierung (200 mg/kg)
bilateral nephrektomiert, in gleicher Sitzung Verabfolgung von rohem Nierenextrakt in
physiologischer NaCl-Lösung i. p.

ödem und deutlichen Stauungserscheinungen besonders der Abdominalorgane keine Besonderheiten. Die Kontrolltiere zeigten beiderseits eine deutliche sackförmige Erweiterung der Nierenbecken und der Ureter (Abb. 15).

Gruppe II. Bei den Tieren dieser Gruppe wurde 24 Std nach der Alloxanisierung mit einer diabetogenen Einzelgabe von 200 mg/kg eine bilaterale Nephrektomie durchgeführt. Unmittelbar nach der Operation wurde den Tieren ein mit physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmter Nierenextrakt aus zwei gesunden lebenswarmen Rattennieren verabfolgt. Die Kontrolltiere dieser Gruppe wurden nach der Alloxanisierung ureterligiert (Abb 16).

Tabelle 9. *Gruppe I. Alloxanisierung, 24 Std später Nephrektomie.*

	Nr.		
	42	72	71
<i>Pankreas</i>			
B-Zellen:			
Zellgrenzen	+++	+++	+++
Granula verklumpt . .	++	+++	+++
Vacuolen	++	+++	+++
Pyknose	++		++
Nekrose	++		++
Zellmembran verdichtet			
<i>Nebenniere</i>			
Lipoidreduktion . . .	++	+	
Blutungen	+		
Nekrose			+

Auch diese Gruppe zeigt eine deutliche Hyperglykämie nach der Alloxanisierung, jedoch vermißt man den schnellen Anstieg des Blutzuckers nach der Nephrektomie. Der Sektionsbefund ergab bei diesen Tieren ähnliche Befunde wie bei den vorhergehenden.

Gruppe III. Die Tiere dieser Gruppe wurden 3 Tage nach der subtotalen Pankreatektomie nephrektomiert. Das operative Vorgehen bei diesen Tieren unterschied sich nur dadurch, daß wir bei der Nephrektomie auf Grund der vorausgegangenen Pankreatektomie den translumbalen Weg wählten.

Die Befunde an der Leber und der Milz können bei den ersten beiden Gruppen gemeinsam abgehandelt werden. Die Milz zeigte eine Auflockerung der Struktur und

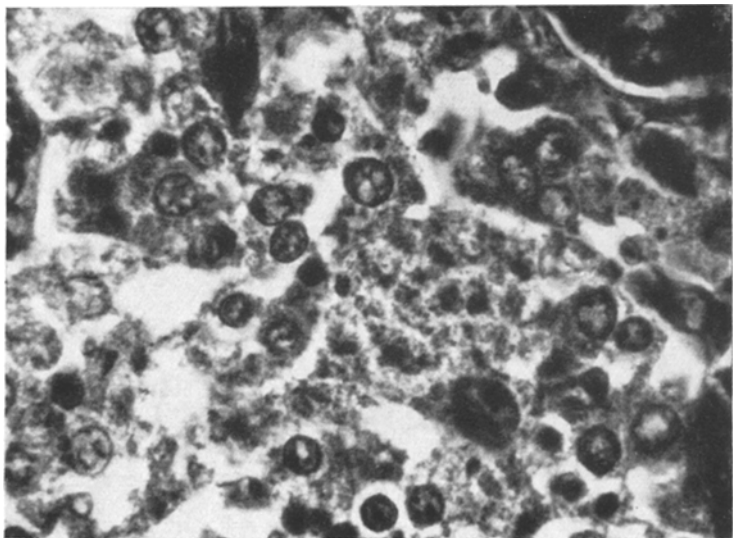


Abb. 17. R 84. Alloxan 200 mg/kg, Nephrektomie und Nierenextrakt. Vollkommene Nekrose der B-Zellen, im Zentrum neben Zelltrümmern freie Kerne mit deutlicher Pyknose. Aufnahme: Zeiß-Opton, Photo 9, Phako 100 Öl.

eine Schwellung des Reticulums. Die Lymphfollikel waren deutlich zu sehen. Die Leberzellen zeigten eine körnige Beschaffenheit des Cytoplasmas. Im Carmin-

Tabelle 10. Gruppe II. Alloxanisierung, 24 Std
später Nephrektomie und Injektion von Nierenextrakt.

	Nr.		
	82	84	84a
<i>Pankreas</i>			
B-Zellen:			
Zellgrenzen	++		+
Granula	+		
Vacuolen	+++	++	+++
Pyknose	++		
Nekrose	++		
Zellmembran verdichtet			
<i>Nebennieren</i>			
Lipoidreduktion. . . .	+	+	+
Blutungen	+		
Nekrose	+		

präparat nach Best sah man eine herdförmige Reduktion von Glykogen. Die Fettpräparate waren negativ. Die gesondert untersuchten Nieren zeigten eine nekrotisierende Nephrose mit Verdichtung und Verquellung der Basalmembranen. Stellenweise konnte man auch eine geringe Exsudation in die Kapselräume der Glomeruli nachweisen. Bei der Gruppe der pankreatektomierten und nephrektomierten Tiere sah man eine trübe Schwellung der Leber und auch hier eine geringe Schwellung des

Reticulums in der Milz. Die Nieren zeigten eine mäßige Glykogenanlagerung vorwiegend in den Tubuli convoluti (Tabelle 10).

Zusammenfassung. Die mit Alloxan vorbehandelten Tiere (200 mg/kg) wurden durchweg diabetisch. Durch eine 24 Std nach der Alloxanisierung durchgeführte

bilaterale Nephrektomie konnte der Diabetes bei der Gruppe I verschlimmert werden. Die Gruppe II erhielt unmittelbar nach der Nephrektomie einen rohen Nierenextrakt aus zwei gesunden Rattennieren mit physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt intraperitoneal verabfolgt. Bei dieser Tiergruppe kam es nach der Operation ebenfalls zu einem Ansteigen der Blutzuckerwerte, doch im Vergleich zu der Gruppe I nur in bescheidenem Maße. Werden die Tiere durch subtotale Pankreatektomie diabetisch gemacht, so kann man auch hier mit einer bilateralen Nephrektomie das diabetische Zustandsbild verschlimmern.

VII. Schlußfolgerung.

Betrachten wir nun die *alloxangeschädigten Tiere*, so können wir sagen, daß kleine Dosen nicht instande sind, einen Diabetes oder ein diabetesähnliches Zustandsbild auszulösen, zumindest nicht bei einer einmaligen Verabreichung. Die Schwankungen der Blutzuckerwerte, die nach kurzer Zeit verschwinden, können entweder als ein unter-schwelliger B-Zellenreiz oder als Reiz auf die Nebennieren aufgefaßt werden. Es steht im Bereich der Möglichkeit, daß die geschädigte Nebenniere mit einer Hormonausschüttung antwortet, die ebenfalls instande ist, eine Senkung des Blutzuckers über das Inselorgan zu bewirken. Stärkere Dosen, wie 125 mg/kg, können nach einigen Tagen zu einer Verschiebung des Inselcytogramms und zu Degranulation der B-Zellen führen. Diese Veränderung zeigt sich in einem milden diabetesischen Zustandsbild. In der Niere kann man dann parallel mit der Höhe der Blutzuckerwerte eine mehr oder weniger schwere Glykogenablagerung beobachten. Die Nebennieren zeigten nur eine ganz geringgradige Lipoidverarmung. Auch hier sieht man, daß diese Dosis nicht genügt, um in kürzerer Zeit ein diabetesähnliches Zustandsbild hervorzurufen. Die Ergebnisse sprechen nicht ganz überzeugend für einen akuten B-Zellschaden. Man muß hier ebenfalls an einen Allgemeinschaden denken, dessen Resultat vielleicht durch übermäßige Stimulation der Nebennierenrinde, die ja doch eine gewisse Verbreiterung der Reaktionsschicht aufweist, hervorgerufen wird. Der Ausdruck des Schadens ist dann eine Erschöpfung der B-Zellen mit ungenügender Insulinproduktion. Es kann angenommen werden, daß auch regressive Veränderungen in den Inseln einsetzen, die das Überwiegen der A-Zellen erklären dürften. Wir denken dabei allerdings nicht an eine Vermehrung der A-Zellen, sondern vielmehr an eine Demaskierung. Besonders wertvolle Dienste leistete bei der Beurteilung der einzelnen Schnitte die Phasenkontrastmikroskopie, die eine bessere Beurteilung der B-Zellgranula und der Zellgrenzen zuläßt.

Verabfolgt man 200 mg Alloxan/kg, so läßt sich an Hand der histologischen Schnitte zeigen, daß man es mit einer allgemeinen Organschädigung zu tun hat, die sich klinisch in einem diabetesähnlichen Zustandsbild äußert. Wir sehen in den Inseln fast regelmäßig eine vollkommene Nekrose der B-Zellen. Vereinzelt kann man noch B-Zellen

sehen, die hydropisch degeneriert sind. Untersuchungen über die Qualität des Vacuoleninhalts sind leider nicht möglich gewesen, da es sich dabei um Bouin-fixiertes Material handelte. Wir haben allerdings, bezugnehmend auf die Arbeiten von TORESON (1951), der in den Vacuolen Glykogen nach der BESTschen Methode nachweisen konnte, an Leichenmaterial Vergleichsuntersuchungen vorgenommen und konnten seine Annahme bestätigen. Es ist nun naheliegend anzunehmen, daß die Vacuolen in den B-Zellen ebenfalls Glykogen enthalten haben dürften. Die früheste Schädigung, die sich in den B-Zellen nachweisen ließ, war bei einer Einzeldosis von 200 mg/kg intraperitoneal verabreicht nach 5 min zu verzeichnen. Wir konnten zu diesem Zeitpunkt mit dem Phasenkontrastmikroskop ein deutliches Abrücken der Granula von dem Zellkern beobachten, nach 10 min bereits sah man in vereinzelter Zellen kleine Vacuolen. Als inkonstante Beobachtung möchten wir noch das Auftreten von Kernvacuolen erwähnen. Die A-Zellen zeigten in keinem Falle eine Veränderung. Sehr schwere Veränderungen konnten wir immer in der Niere nachweisen. In dem akuten Stadium sah man eine Verquellung der Basalmembranen und eine beginnende Nekrose der Tubulusepithelien, in späteren Zeitabständen verdichteten sich die Basalmembranen deutlich, auch diese Befunde lassen sich besonders schön im Phasenkontrastmikroskop erheben. Die Glomeruli erschienen auch in jedem Fall schwer geschädigt. Neben einer Exsudation konnten wir eine Schwellung des Capillarknäuels beobachten. Hin und wieder sehen wir in der Niere Blutungen. Die Nebennieren zeigten in der Zona fasciculata stellenweise streifige, hämorrhagische Nekrosen. Im Herzmuskel sah man einen scholligen Zerfall der Fasern und eine Auflösung der Querstreifung. Auch hier konnte man in verschiedenen Fällen kleine Blutungen nachweisen. Wir fassen das gesamte Krankheitsbild als einen allgemein-toxischen Zustand auf, der sich klinisch in einem diabetesähnlichen Geschehen zeigt.

Wenn man *alloxanisierte Tiere hypophysektomiert*, so kann man in der klinischen Verlaufsform des Diabetes keine Unterschiede gegenüber den scheinoperierten Kontrolltieren feststellen. Wir neigen mit unserer Auffassung zu der von GRIFFITH bereits entwickelten Anschauung, daß eine Hypophysektomie auf den Alloxandabetes keinen Einfluß hat. Wir haben allerdings erst nach der Alloxanisierung hypophysektomiert und können über eine Schutzwirkung auf die B-Zellen bei vorhergegangener Hypophysektomie keine Aussage machen. Die Veränderungen an den Nebennieren sind logischerweise auch von einem gewöhnlichen Gesichtspunkt, nämlich einem toxischen Alloxanschaden, zu betrachten. Bei Tieren, die den 5. und 10. Tag überlebten, konnten wir lediglich zeigen, daß das Inselvolumen beträchtlich abgenommen hat und daß auch die Inselzahl reduziert ist. Die Inseln bauen sich

vorwiegend aus A-Zellen auf. Die wenigen vorhandenen B-Zellen sind recht groß und zum Teil hydropisch degeneriert. Diese Erscheinung an den B-Zellen kann man auch im Sinne einer übermäßigen Beanspruchung deuten.

Die *Entfernung der Nebennieren* zeigen ein schnelles Absinken der Blutzuckerwerte. Bei unmittelbar nach der Epinephrektomie eingeleiteter Alloxanisierung kann man keinen initialen Blutzuckeranstieg beobachten. Die Blutzuckerkurve sinkt auf lebensbedrohliche, hypoglykämische Werte herab, die durch Alloxan bewirkte Hyperglykämie bleibt aus. Wenn die Tiere vor der Operation alloxanisiert werden, so beobachtet man ebenfalls wenige Stunden post operationem nach einer anfänglich charakteristischen Alloxankurve ein Absinken der Blutzuckerwerte. Die Kontrolltiere wiesen ebenfalls eine recht tiefe Hyperglykämie auf. Die histologischen Untersuchungen ergaben bei den alloxanisierten Tieren regelmäßig eine nekrotische Zerstörung fast aller B-Zellen. Die A-Zellen erschienen unverändert. Die Versuche zeigen, daß durch Ausschaltung der Nebenniere die Glykogenmobilisation aus der Leber einerseits und die Glykoneogenese andererseits ausbleiben. Durch Stimulation der Nebenniere, z. B. bei einer Reizung, die ja auch durch eine Alloxanisierung ausgelöst werden kann, kommt es zu einem unmittelbaren Anstieg des Blutzuckers. Dieser Anstieg ist auf eine Adrenalinausschüttung zurückzuführen. Spätere Stadien haben ein Absinken des Blutzuckers zur Folge, wahrscheinlich auf Grund einer gegenregulatorischen Insulinausschüttung, deren Wirkung länger anzuhalten pflegt als die des Adrenalins. Im Stadium der Resistenz kann es nun zu hyperglykämischen Schwankungen kommen, die von einer recht tiefen Hypoglykämie im Stadium der Erschöpfung abgelöst werden kann. Wenn nun die schädliche Substanz eine spezifische Wirkung auf das Blutzuckerniveau besitzt, so können alle geschilderten Erscheinungen in verstärktem Maße auftreten. Adrenalektomierte Tiere kann man Tieren gleichsetzen, die sich in einem Zustand der Erschöpfung befinden. Interessant ist das Absinken des Leberglykogens während der Alarmreaktion nach SELYE.

Die abnorm hohen Blutzuckerwerte nach der *Thyreodektomie* sind auf das Fehlen des Schilddrüsenhormons zurückzuführen, das eine normale Zuckerverwertung gewährleistet. Es kann angenommen werden, daß die Glykoneogenese aus Eiweiß erhöht ist, der Grund dafür liegt in der erhöhten Ausscheidung von Glucocorticoiden. Als besonders bemerkenswert können wir die unscharfe Abgrenzung der Inseln gegen das exkretorische Parenchym erwähnen. Die histologischen Präparate der Bauchspeicheldrüse zeigen reichlich Inseln, deren B-Zellen durchweg nekrotisch sind. Die feine Bindegewebshülle, die die Insel zu umkleiden pflegt, läßt sich zumindest bei den Alloxantieren nicht

nachweisen. Die Anlehnung der Inseln an das exkretorische Parenchym ist eine sehr enge. Die A-Zellen lassen sich gut erkennen, daneben sieht man Zellen, die eine teils gröbere und teils spärlichere Granulierung aufweisen. Möglicherweise sind diese Zellen, die auch recht große Kerne mit locker-gefügttem Kernchromatin zeigen, Übergangszellen des exkretorischen Parenchyms zum inkretorischen Inselgewebe. Durch den Ausfall der Schilddrüse kommt es zu einer erhöhten Abgabe von thyreotropem Hormon und außerdem zu einer erhöhten Abgabe von Wachstumshormon, die möglicherweise die erhöhte Regeneration bedingen können. Auch wir schließen uns der Auffassung KANs an, daß bei Ratten unter bestimmten Bedingungen eine Inselregeneration aus exokrinen Parenchym möglich sei.

Bei subtotaler Pankreatektomie und bei alloxandiabetischen Ratten kann man durch eine *bilaterale Nephrektomie* den Diabetes verschlimmern. Die Blutzuckerwerte steigen in kürzester Zeit fast um das Doppelte an. Den Einfluß einer Urämie auf den Blutzuckeranstieg konnten wir ausschließen, da bei einer bilateralen Ureterligatur und der daraus resultierenden Harnsperrde die Blutzuckerwerte unverändert bleiben, zumindest die kleinen durch die Operation bedingten Schwankungen in kurzer Zeit normalisiert werden. Auffallend erschien uns die Tatsache, daß bei Verabfolgung von rohem Nierenextrakt nach der bilateralen Nephrektomie die Blutzuckerwerte nicht wesentlich ansteigen. Eine Deutung diese Phänomens erscheint uns zur Zeit noch nicht möglich. Ob es sich dabei um eine Schutzwirkung oder um antidiabetische Substanzen aus dem Nierenparenchym handelt, konnten wir bislang noch nicht klären. Untersuchungen über die Zusammenhänge sind zur Zeit noch im Gange. Wir sind jedoch geneigt, auf Grund der bereits vorliegenden Befunde der Niere vielleicht eine gewisse aktive Funktion im experimentellen Alloxandiabetes einzuräumen, zumal eine Entfernung der Nieren den Diabetes verschlimmert.

Zusammenfassung.

1. Die Alloxanwirkung wird auf Grund der Schädigung vieler Organe als allgemein toxisch aufgefaßt. Unterschwellige Alloxandosen sind nicht imstande, bei einmaliger Gabe ein diabetesähnliches Krankheitsbild auszulösen. Die ersten Alloxanschäden beobachtet man bereits 5 min nach der Injektion an den B-Zellen.
2. Unmittelbar nach der Alloxanisierung hypophysektomierter Tiere zeigen im klinischen Verlauf keine Unterschiede gegenüber den nicht hypophysektomierten.
3. Die Reaktion adrenaletomierter Tiere ist mit dem Zustand der Erschöpfung nach SELYE vergleichbar.

4. Die abnorm hohen Blutzuckerwerte nach Thyreodektomie werden auf das Fehlen von Schilddrüsenhormon zurückgeführt. In dieser Gruppe konnte gezeigt werden, daß unter bestimmten Bedingungen bei der Ratte eine Inselregeneration aus exokrinen Parenchym möglich ist.

5. Den Nieren wird im experimentellen Alloxandibetes eine aktive Funktion eingeräumt, da ihre Entfernung eine Verschlechterung des diabetischen Zustandes zur Folge hat.

6. Die untersuchten Hypophysen bei den einzelnen Tiergruppen zeigten keine groben Veränderungen. Es ließ sich von uns in keinem Falle ein krankhafter histologischer Befund erheben.

Literatur.

ABOOD, L. G., and J. J. KOCSIS: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **75**, 55 (1950). — ANDREU-URRA, J. u. Mitarb.: Rev. españ. Enferm. Apar. digst. **9**, 3 (1950). — BAILEY, C. C. u. Mitarb.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **66**, 271 (1947). — BARTELHEIMER, H., u. K. KLOOS: Z. exper. Med. **1952**. — BENNETT and KONEFF: Anat. Rec. **96**, 1 (1946). — DOERR, W.: Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. K. **1949**. — Virchows Arch. **318**, 175 (1950). — GOLDENER and GOMORI: Endocrinology **35**, 241 (1944). — GRANDE, COVIAN F. u. Mitarb.: Rev. clin. españ. **34**, 91 (1949). — HOUSSAY, B. A., y GERSCHMAN: Rev. Soc. argent. Biol. **23**, 28 (1947). — LUKENS, F. D. W.: Proc. Amer. Diab. Assoc. **10**, 103 (1950). — MORITA and ORTEN: Amer. J. Physiol. **161**, 545 (1950). — RICHARDSON, K. C., and F. G. YOUNG: (1) Lancet **1938**, 1082. — (2) Biochemie. J. **1938**, 32. — SELYE, H.: Textbook of Endocrinology. 1949. — TORESON, W. E.: Amer. J. Path. **27**, 327 (1951). — VOGT: J. of Physiol. **102**, 341 (1943); **103**, 317 (1944). — YOUNG, F. G.: Schweiz. med. Wschr. **1946**. — Proc. Amer. Diab. Assoc. **10**, 11 (1950).

Dr. GIESELBERT SUCHOWSKY, Berlin NW. 21,
Patholog. Institut d. Freien Universität im Städt. Krankenhaus Moabit,
Turmstr. 21.
