

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg  
(Direktor: Prof. Dr. H.-W. ALTMANN)

## Stress-Reaktionen am Hypophysenvorderlappen der Ratte\*

Von

G. DHOM und H.-P. SCHERER

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Dezember 1962)

Die Reaktion der Nebennierenrinde auf akute und chronische Belastungen der verschiedensten Art ist an Mensch und Versuchstier mit biochemischen und morphologischen Methoden ausführlichst studiert worden. Die Bedeutung der Hypophyse für die Reaktionsabläufe an der Nebennierenrinde haben die Experimente von TONUTTI eindrucksvoll belegt. Durch biologische Testmethoden haben wir auch einen Einblick in den Sekretionsmechanismus des ACTH unter Stressbedingungen erhalten (GEMZELL et al., HODGES et al.). Dagegen haben morphologische Studien am Hypophysenvorderlappen (HVL) der Ratte im Stress teils negative, teils zwar positive, aber unterschiedlich interpretierte Ergebnisse geliefert (FINERTY et al., HALMI, KIEF, REESE und KONEFF, TUCHMANN-DUPLESSIS), so daß auch von diesen Experimenten her die Produktionsstätte des ACTH noch umstritten blieb.

In vorausgegangenen Untersuchungen (DHOM und TIETZE, DHOM, BURKERT und TIETZE) haben wir gezeigt, daß nach Adrenalectomie und besonders nach längerer chemischer Nebennierenblockade durch Hemmung der 11- $\beta$ -Hydroxylierung am Steroidmolekül mit Metopiron nur *ein* Zellsystem des HVL wesentliche Formwandlungen als Ausdruck der z. T. langfristig erhöhten ACTH-Produktion und Sekretion erkennen läßt, nämlich die Gruppe der sog. „thyreotropen Zellen“ (PURVES und GRIESBACH, HALMI). Die dabei zu erkennenden Einzelphänomene sind weitgehend mit denen nach inkompletter Schilddrüsenblockade durch 5-jodo-2-thiouracil identisch, so daß die erhöhte ACTH- und TSH-Sekretion morphologisch am HVL zu weitgehend übereinstimmenden Bildern führen. Als gemeinsamer Zelltyp wurde dabei die sog. Thyreoidektomiezele festgestellt. Die vorliegenden Untersuchungen haben zum Ziel, Art und Umfang der cytologischen Veränderungen des HVL unter akuten Belastungen zu studieren. Die Befunde sollen einen Einblick in den zeitlichen Ablauf stressbedingter morphokinetischer Reaktionen geben und mit den Ergebnissen biologischer Testversuche verglichen werden.

### Material und Methodik

55 männliche Wistarratten von durchschnittlich 250 g Gewicht wurden in sechs Versuchsgruppen eingeteilt.

1. 6 und 12 Std vor der Tötung einmalige Gabe von Metopiron<sup>1</sup> oral 150 mg/kg — 10 Tiere.

2. 3 Std, 3 Std 30 min, 8 Std, 8 Std 30 min vor der Belastung 150 mg/kg Metopiron, anschließend Schwimmen in einem größeren Trog mit auf 25—27° angewärmtem Wasser.

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

<sup>1</sup> Für die Überlassung von Metopiron haben wir der Firma Ciba-AG, Basel, sehr zu danken.

Schwimmzeiten siehe Tabelle 1. Tötung durch Entbluten in Ätheranaesthesia unmittelbar nach dem Herausnehmen aus dem Wasser — 15 Tiere.

3. Einseitige Adrenalectomie 16 und 20 Std vor dem Schwimmen, 3 und 4 Std vor dem Schwimmen 150 mg/kg Metopiron — 8 Tiere.

4. 18—19 Std vor dem Schwimmen einseitige Adrenalectomie, keine zusätzliche Metopironblockade.

5. Schwimmen ohne Vorbehandlung — 6 Tiere.

6. Nach Metopirongabe und Schwimmen Erholungszeit von 7—12 $\frac{1}{2}$  Std, dann Tötung in Ätheranaesthesia — 10 Tiere.

Hypophysen unbehandelter Kontrollen aus der gleichen Zucht standen aus den vorhergehenden Versuchsreihen reichlich zur Verfügung.

Fixierung der in situ belassenen Hypophysen in Sublimat-Formol (ADAMS und PEARSE). Paraffineinbettung. Färbungen: Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Reaktion (ADAMS und SWETTENHAM, DHOM et al.: Methodische Bemerkungen). Trichromfärbung nach PEARSE. Routinemäßig wurden die Schilddrüsen und beide Nebennieren untersucht.

## Ergebnisse

**1. Einmalige Metopirongabe ohne Stressbelastung.** Wie bereits früher mitgeteilt (DHOM, BURKERT und TIETZE) führt die einmalige Gabe von 150 mg/kg Metopiron nach 6 Std am HVL der Ratte noch zu keinen signifikanten Zellwandlungen. Die alcianblauen „thyreotropen“ Zellen zeigen gelegentlich entleerte Formen mit randständigen feinen „Restgranula“, doch sind auch bei unbehandelten Kontrollen solche Elemente zu finden. Der Gesamtbestand spezifisch färbbaren granulären Materials hat in diesem Zellsystem nicht signifikant abgenommen. An den übrigen chromophilen Zellgruppen, den „Gonadotropen“ und den  $\alpha$ -Zellen, sind keine Veränderungen festzustellen. 12 Std nach einmaliger Gabe von Metopiron hat sich nur bei einem Tier ein abweichender Befund ergeben. Hier treten neben grobschollig positiven alcianblauen „thyreotropen“ Elementen homogenisierte Zellen mit gelblich getöntem Plasma auf. Sie enthalten große Vacuolen, die mit blaß färbbarer Flüssigkeit gefüllt sind und entsprechen „frühen Thyreoidektomiezellen“.

**2. Nebennierenblockade und Schwimmen bis zu 12 Std Gesamtversuchsdauer** (s. Tabelle 1, Spalte 1). Bei den kurzfristig behandelten Tieren (kürzeste Gesamtversuchsdauer 7 Std) zeigt der HVL im Perameisensäure-Alcianblau (PAA)-Präparat nur einen gering verminderten Bestand granulähaltiger „thyreotroper“ Zellen. (Es ist zur sicheren Beurteilung notwendig, jeweils fünf bis sechs Schnitte aus verschiedenen Stufen der Horizontalebene zu durchmustern, um Fehleinschätzungen zu vermeiden.) Die vollgranulierten Elemente haben insgesamt an Zahl abgenommen, während degranulierte Zellen z. T. in großer Zahl auftreten. Diese zeigen meist eine Homogenisierung des Cytoplasmas, das bei PAA-Reaktion gelblich bis rosa und im Pearse-Präparat gelblich getönt ist. Alcianblaues granuläres Restmaterial ist meist noch an der Zellmembran erkennbar, die dadurch deutlich markiert wird, oder liegt verdichtet an einem Zellpol. Im homogenisierten Zellteil treten kleinere, z. T. aber auch große Vacuolen auf, die mit einer schwach färbbaren Flüssigkeit gefüllt sind. Die Einzelzelle behält entweder ihre charakteristische Form, oder sie erscheint aufgetrieben, mit einigen zipfeligen Cytoplasmaausläufern ausgestattet oder abgerundet. Der Zellkern liegt öfters außerhalb der Schnittebene, er ist leicht vergrößert und hell. Ein ringförmiges Golgifeld kann im homogenisierten Plasma auftauchen, vereinzelt werden auch

Tabelle 1. Übersicht über die Versuchsgruppen,  
Die Zeitangaben bei Metopiron-+Adrenalektomie beziehen

Bis 12 Std			12—24 Std			
Tier Nr.	Metopiron	Schwimmzeit	Tier Nr.	Adrenal-ektomie	Metopiron	Schwimmzeit
2	3 Std	8 Std	6	—	3 Std	11 Std
3	3 Std	4 Std 15 min	21	—	8 Std	4 Std
4	3 Std	7 Std	22	—	8 Std	5 Std 10 min
16	3 Std 30 min	4 Std	24	—	8 Std 30 min	6 Std 10 min
17	3 Std 30 min	4 Std 25 min	25	—	8 Std 30 min	6 Std 40 min
18	3 Std 30 min	4 Std 55 min	26	—	8 Std 30 min	6 Std 40 min
19	3 Std 30 min	5 Std 30 min	11	18 Std	3 Std 30 min	2 Std
20	3 Std 30 min	5 Std 55 min	12	19 Std	—	1 Std 40 min
5	—	10 Std 30 min	13	18 Std	3 Std 30 min	1 Std 30 min
23	—	5 Std 20 min	14	18 Std	3 Std 30 min	2 Std
38	—	5 Std 45 min	15	18 Std (nur lap.)	3 Std	2 Std
52	—	6 Std 10 min				
53	—	7 Std	35	19 Std (dopp.)	—	1 Std 20 min
54	—	6 Std 30 min				

PAS-positive Tropfen beobachtet, die den sog. Thyreoidektomiegranula von PURVES und GRIESBACH entsprechen. Neben diesen degranulierten und homogenisierten Zellen treten noch alcianblaue granulahaltige Elemente auf, die scharf umgrenzte kleine Vacuolen ohne erkennbaren Inhalt aufweisen. Die der Zellmembran anliegenden Vacuolen runden die Zelle ab, je größer sie sind, desto spärlicher wird der Granulabestand der Zelle und desto mehr wird sie wabig umgewandelt, bis schließlich — unter manchmal grotesker Auftreibung des Zellleibes — ein weitgehend leer erscheinendes Wabenwerk mit zentral liegendem Kern gebildet ist. Die spärlichen Cytoplasmafäden und die oft „zerfließenden“ Zellgrenzen reagieren noch alcianblau. Solche Zellen treten aber hinter den homogenisierten Formen mit ihren teilweise gefüllten Vacuolen deutlich an Zahl zurück. Das Spektrum der Formen ist auf diese Weise sehr bunt. Der Gesamtbestand der „Thyreotropen“ ist eher leicht vermehrt als vermindert. An den gonadotropen Zellen, die bei den männlichen Tieren in großer Zahl vorhanden sind, ist ein auffälliger Befund nicht zu erheben. Der Granulagehalt der  $\alpha$ -Zellen erscheint nicht verändert. Alle acht Tiere, die zu dieser Gruppe gehören (s. Tabelle 1), haben in gleicher Weise reagiert. Bei den sechs Tieren, die ohne Metopiron-Vorbehandlung geschwommen haben, ist der Gesamtbestand granulahaltiger „thyreotroper“ Zellen nicht vermindert, man findet aber vereinzelt vacuolisierte und kleine teilhomogenisierte Zellen. Dieser Befund ist nur bei Tier Nr. 5 deutlicher, das 10 $\frac{1}{2}$  Std geschwommen hat.

**3. Gesamtversuchsdauer bis 24 Std** (Adrenalektomie, Metopiron-Vorbehandlung, Schwimmen; s. Tabelle 1, Spalte 2). Von den 12 Tieren dieser Versuchsreihe zeigen acht einen ausgeprägten Verlust granulären Materials, zwei zeigen nur eine geringe Abnahme, während bei zwei Tieren der Granulagehalt in den

geordnet nach der Dauer des Gesamt-Versuches  
sich auf den Zeitpunkt vor Beginn der Schwimmbelastung.

Über 24 Std				Mit Erholungspause			
Tier Nr.	Adrenal-ektomie	Metopiron	Schwimmzeit	Tier Nr.	Metopiron	Schwimmzeit	Erholungszeit
8	16 Std	3 Std 30 min	8 Std 20 min	39	8 Std	5 Std 10 min	7 Std 15 min
33	19 Std	4 Std	3 Std 30 min	40	8 Std	5 Std 25 min	7 Std 10 min
34	19 Std	4 Std	2 Std 45 min	41	8 Std	5 Std 35 min	7 Std 10 min
36	20 Std	—	6 Std 45 min	42	8 Std	5 Std 40 min	7 Std 15 min
37	18 Std	4 Std	7 Std 30 min	43	8 Std	5 Std 10 min	7 Std 50 min
49	20 Std 30 min	—	7 Std	44	8 Std	6 Std	12 Std
50	21 Std 55 min	—	6 Std 25 min	45	8 Std	5 Std 45 min	12 Std 10 min
51	20 Std 05 min	—	6 Std 10 min	46	8 Std	5 Std 50 min	12 Std 15 min
				47	8 Std	6 Std	12 Std 30 min
				48	8 Std	5 Std 55 min	12 Std 25 min

„Thyreotropen“ regelhaft erscheint. Unter den acht Tieren mit starker Degranulierung finden sich vier, die nur mit Metopiron vorbehandelt sind, drei, die zusätzlich adrenaletomiert wurden und ein Tier, das zusätzlich nur laparotomiert wurde. Signifikante Unterschiede sind innerhalb dieser Gruppe nicht festzustellen. Das Spektrum der Zellwandlungen entspricht den schon in der vorhergehenden Gruppe beschriebenen Veränderungen. Gegenüber den homogenisierten Zellen haben jetzt die wabig umgewandelten Elemente eher an Zahl zugenommen. Die Kerne solcher Zellen fallen oft durch einen vergrößerten Nucleolus auf. Auch bei den beiden Tieren, bei denen der Bestand spezifisch granulären Materials nur gering vermindert ist, finden sich zahlreiche homogenisierte und wabig umgewandelte Zellen (Tier Nr. 13 und 22). Zu den beiden Tieren, die nur gering reagiert haben, gehört auffälligerweise auch das Tier, das doppelseitig adrenaletomiert wurde.

**4. Gesamtversuchsdauer über 24 Std** (Adrenaletomie, Metopiron-Vorbehandlung und Schwimmen; s. Tabelle 1, Spalte 3). In dieser Versuchsgruppe, in der alle Tiere einseitig adrenaletomiert wurden, teils ohne, teils mit zusätzlicher Metopiron-Blockade, ist der Bestand alcianblauen granulären Materials wieder weitgehend normalisiert. In keinem Fall wurde noch eine signifikante Verminderung angetroffen. In der Übersicht erscheinen die granulahaltigen „thyreotropen“ Zellen dicht angefärbt und sind von regelhafter Gestalt. Sie liegen gehäuft in den zentralen und frontalen Partien des Vorderlappens. Kleinvacuolisierte und wabig aufgetriebene sowie homogenisierte Zellformen sind daneben in wechselnder Zahl anzutreffen, wobei sich hier jetzt größere Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchstieren ergeben. Bei einigen Tieren sind solche Zellwandlungen nurmehr gering ausgeprägt.

**5. Metopiron-Vorbehandlung, Schwimmen und anschließende Erholungspause von 7—12 $\frac{1}{2}$  Std Dauer** (s. Tabelle 1, Spalte 4). Wie in der vorhergehend geschilderten Gruppe ist der Bestand granulären Materials im System der „Thyreotropen“ bei acht von zehn Tieren wieder der Norm entsprechend. Nur bei zwei Tieren (Nr. 45 und 48) findet man nach 12stündiger Erholungspause noch deutlich verminderte Granula. Im ganzen treten jetzt auch die homogenisierten und wabigen Zellformen deutlich zurück, bei drei Tieren sind signifikante Abweichungen vom „Normbefund“ der Ruhhypophyse nicht mehr auffindbar, bei den

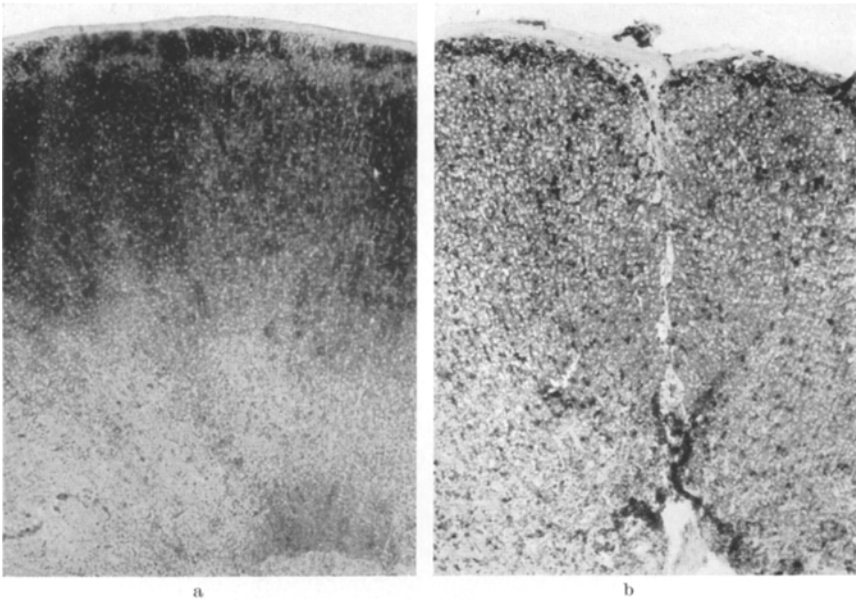


Abb. 1 a u. b. Lipoidentspeicherung der Nebennierenrinde nach Metopironblockade und Schwimmen. Sudanschwarz. Vergr. 80fach. a Tier 16: 3 $\frac{1}{2}$  Std vor dem Schwimmen Metopiron, Schwimmzeit 4 Std, partielle Lipoidentspeicherung. b Tier 34: Adrenalektomie vor 19 Std, Metopiron 4 Std vor dem Schwimmen. Schwimmzeit 2 Std 45 min. Totale Fasciculata-Entspeicherung

übrigen sind vacuolisierte und homogenisierte Zellen nurmehr vereinzelt vorhanden. Die „gonadotropen“ Zellen und die  $\alpha$ -Zellen zeigen in keiner Versuchsgruppe signifikante Zellwandlungen. Gelegentlich treten in den „gonadotropen“ Zellen Vacuolen auf, doch kann man diesen Befund auch in Kontrollhypophysen erheben. Zum anderen treten aber auch keine regressiven Zellveränderungen in den chromophilen Zellgruppen hervor, wie etwa vermehrter Zellkollaps.

**6. Befunde an den Nebennieren.** In der Gruppe bis zu 12 Std Gesamtversuchsdauer findet sich eine Abnahme der Lipoiden vornehmlich in der Reticularis und inneren Fasciculata, geringer und nur herdförmig auch in der äußeren Fasciculata bis zur sudanophoben Zone (Abb. 1). Nur zwei Tiere (Nr. 19 und 23) zeigen eine totale Lipoidentspeicherung der Fasciculata. Im polarisierten Licht verhalten sich die doppelbrechenden Substanzen ähnlich. In der Gruppe bis 24 Std Gesamtversuchsdauer hat die Lipoidentspeicherung der Nebennierenrinde zugenommen. Fünf Tiere (Nr. 6, 22, 26, 12 und 15) zeigen einen vollständigen Schwund in der Zona fasciculata. Das Cytoplasma der Rindenzellen ist hier kompakt acidophil oder enthält

nur kleine Vacuolen, die Kerne liegen dichter beisammen, die Capillaren erscheinen weit. Blutungen und Nekrosen haben wir in keinem Fall beobachtet. Mehrfach sind Mitosen in der äußeren Fasciculata zu finden. Eine vollständige Fasciculata-Entspeicherung liegt auch bei allen Tieren mit über 24 Std Gesamtversuchsdauer vor (die operativ gewonnenen Nebennieren zeigen dagegen jeweils regelhaften vollen Lipoidgehalt). Auch hier treten keine Blutungen und Nekrosen auf. Nach 7 und 12 Std Erholungspause finden wir immer noch Lipoidverluste in der inneren und meist auch noch in der äußeren Fasciculata, in einem Fall (Nr. 45) liegt noch eine totale Fasciculata-Entspeicherung vor.

**7. Befunde an den Schilddrüsen.** Bis auf drei Ausnahmen finden wir in allen Fällen eine nicht aktivierte Schilddrüse. Die Rattenschilddrüse zeigt bekanntlich unter gewöhnlichen Stallbedingungen eine „mittlere Aktivität“ mit würfelförmigem Epithel und vacuolenreichem Kolloid. Gegenüber diesem Verhalten sehen wir bei unseren Versuchstieren zum überwiegenden Teil und in allen Gruppen Zeichen herabgesetzter Aktivität: Das Follikel-epithel ist erniedrigt, das Kolloid füllt die Follikel ganz aus und zeigt weniger Vacuolen. In drei Fällen fand sich dagegen eine deutliche Aktivitätssteigerung: hohes zylindrisches Epithel und wenig vacuolenreiches Kolloid.

1. *Tier 23.* Keine Metopiron-Blockade, sondern nur Schwimmen, 5 Std 20 min. Es besteht hier gleichzeitig eine vollständige Entspeicherung der Zona fasciculata der Nebennierenrinde, während an der Hypophyse bei noch reichlichem Bestand granulären Materials erst wenige vacuolenhaltige Elemente zu finden sind.

2. *Tier 21* (Metopiron 8 Std, Schwimmzeit 4 Std). Die Nebennieren zeigen eine nur geringe Lipoidentspeicherung der inneren und mittleren Fasciculata. Das Hypophysenbild zeigt einen noch reichlichen Bestand granulahaltiger „thyreotroper“ Zellen. Kleine wabig umgewandelte und homogenisierte Formen sind erst in geringer Zahl zu finden.

3. *Tier 40* (Metopiron-Blockade 8 Std, Schwimmzeit 5 Std 25 min, Erholungspause von 7 Std 10 min). Die Aktivierung der Schilddrüse ist hier geringer als in den vorhergehenden Fällen, die Nebenniere zeigt gleichfalls nur eine geringe Lipoidentspeicherung der inneren Fasciculata. Das Hypophysenbild zeigt einen noch verminderten Bestand regelhaft granulierter Zellen, daneben noch vereinzelt Wabenformen und homogenisierte Zellen.

### Erörterung der Ergebnisse

Unter den gewählten Versuchsbedingungen ist es — wie zu erwarten war — zu einer erheblichen Stimulierung der Nebennierenrinde gekommen. Muskeltätigkeit — und speziell Schwimmen — stellt einen bereits vielfach bewährten Stressfaktor dar (SELYE). Die Leistungsfähigkeit der bis zum Versuch im Stall lebenden, untrainierten Ratte wird durch die erreichten Schwimmzeiten eindrücklich dokumentiert, wobei der Versuch jeweils vor der vollständigen Erschöpfung abgebrochen wurde. Eine erhebliche Leistungsfähigkeit zeigt auch die adrenostatisch vorbehandelte oder zusätzlich einseitig adrenaletomierte Ratte. Die zahlreichen hiermit verknüpften Probleme des „Rindenhormonbedarfes“ und „Rinden hormonverbrauches“ können wir hier nicht diskutieren. Die Nebennierenrinde zeigt morphologisch einen nicht so sehr von der Art der Vorbehandlung, als

vielmehr von der Versuchsdauer abhängigen Lipoidverlust, der schließlich die gesamte Fasciculata betrifft. Adrenostatische Behandlung mit Metopiron führt unter Ruhebedingungen nur zu mäßigen Lipoidverlusten in der Rattennebenniere (KRACHT).

Die Befunde an den Nebennieren können als Indiz dafür gelten, daß der erwünschte Effekt einer akuten ACTH-Mehrsekretion aus dem HVL eingetreten ist. Gleichzeitig ist es offenbar — mit Ausnahme der oben einzeln angegebenen

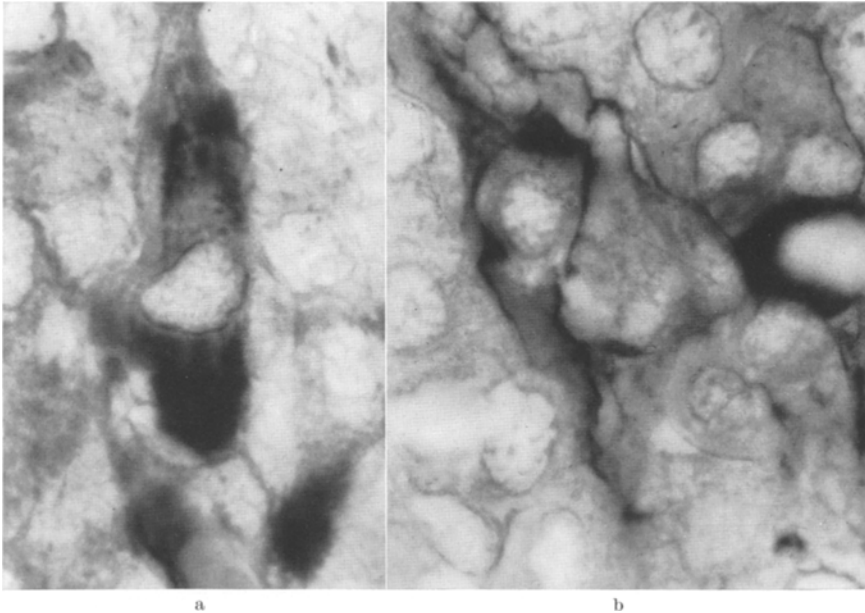


Abb. 2a u. b. Thyreotrope Zellen der Rattenhypophyse. Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Reaktion. Vergr. 1900fach. a Kontrolle. Regelhaft granulierte, stabförmige Zelle. b Zwei degranulierte thyreotrope Zellen. Im Zentrum birnenförmige Zelle ohne angeschnittenen Kern, kleinen Vacuolen und alcianblauem Randsaum. Metopironblockade und Schwimmen, Tier Nr. 18

Fälle — zu keiner erhöhten Abgabe von TSH gekommen, da Ruheschilddrüsen vorliegen. Diese Beobachtung entspricht dem „thyreocorticotropen Phasenwechsel“ von TONUTTI sowie KRACHT und SPAETHE. Er wird offenbar nur in Ausnahmefällen durchbrochen.

Die am HVL erhobenen Befunde stimmen qualitativ mit den früher mitgeteilten Ergebnissen nach langfristiger Nebennierenblockade überein. Die zu beobachtenden signifikanten Einzelphänomene sind auf das System der „thyreotropen“ Zellen der Rattenhypophyse beschränkt. Es handelt sich um einen Verlust spezifisch färbbaren granulären Materials, um eine Homogenisierung des Cytoplasmas mit Auftreten größerer, flüssigkeitsgefüllter Vacuolen und — ohne Homogenisierung — um eine wabige Umwandlung der entleerten Zellen. Wir haben in den vorangegangenen Mitteilungen bereits darauf hingewiesen, daß die homogenisierte Zelle in allen Einzelheiten — einschließlich des Auftretens von sog. Thyreidektomiegranula (PURVES und GRIESBACH) — der Thyreidektomie-zelle entspricht.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen lehren, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen die Degranulierung und Homogenisierung bereits nach 7stündiger Gesamtversuchsdauer in ausgeprägter Form vorhanden sein kann. Nebennierenblockade am ruhenden Tier zeigt demgegenüber im gleichen Zeitraum noch keinen Effekt. In geringerem Umfang findet man neben der Homogenisierung den Typ der Vacuolisierung bis zur wabigen Umwandlung. Diese Zellformen treten häufiger erst nach längerer Versuchsdauer auf, ganz besonders die großen

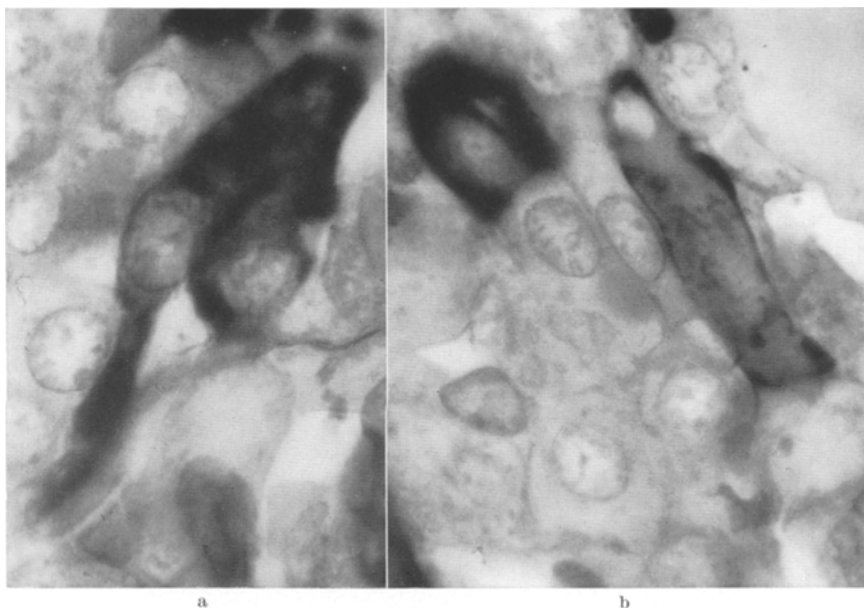


Abb. 3a u. b. Metopronblockade und Schwimmen. Thyreotrope Zellen. Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Reaktion, Vergr. 1900fach, Tier Nr. 16. a Kompakt granuliert Zelle. b Teildegranulierte und homogenisierte Zelle mit kleiner Vacuole

Wabenzellen. Zwischenformen zwischen Homogenisierung und wabiger Umwandlung sind uns nicht eindeutig begegnet, so daß wir nicht erkennen können, ob die geschilderten Veränderungen Glieder eines Cyclus sind oder verschiedene morphologisch faßbare Reaktionsformen der Zelle bei erhöhter Funktion. Abhängig von der Versuchsdauer wechselt der Bestand spezifisch färbbaren granulären Materials. Ausgeprägte Verluste finden wir nur bei den Versuchsanordnungen, die 12—24 Std Zeit in Anspruch nehmen. Bei längerer Gesamtverlaufszeit tritt in allen Fällen wieder reichliches granuläres Material im System der „thyreotropen“ Zellen auf, so daß ein buntes Spektrum vacuolisierter, homogenisierter und granulareicher Elemente resultiert. Diese Befunde zeigen uns auch, daß die Bestimmung des relativen Anteils granulähaltiger „Thyreotroper“ an der Zellmasse des HVL durch Zählungen nach der Methode von RASMUSSEN unter diesen Bedingungen wenig Aussagekraft gewinnen kann. Die entscheidenden Veränderungen spielen sich innerhalb des betroffenen Zellsystems ab. An den „gonadotropen“ Zellen und an den  $\alpha$ -Zellen lassen sich keine vergleichbaren Formwandlungen feststellen.



Tabelle 2. Granulabestand und morphokinetische Reaktionen im „Hydrotropen“-System des HVL der Ratte unter verschiedenen experimentellen Bedingungen

Versuchs- dauer	Thyreoidektomie	Irrumil	Adrenalektomie	Metopiron	Stress
Bis 12 Std	—	—	Abnahme des granulären Materials, vakuolisierte und degranulierte Zellen	Noch keine sichere Abnahme granulären Materials. Teilweise Vacuolen	Abnahme des granulären Materials. Zahlreiche homogenisierte Zellen
12 bis 48 Std	Starke Degranulierung. Einzelne homogenisierte „T-Zellen“	—	Wieder vermehrtes, z. T. grobscholliges Material. Vakuolisierte und einzelne homogenisierte Formen	—	Nach zunächst starkem Schwund rasch Wiederauffüllung. Homogenisierte und vakuolisierte Formen
48 Std bis 7 Tage	Vollständiger Schwund granulären Materials. Zahlreiche homogenisierte „T-Zellen“	Starke Degranulierung, Auftreten von homogenisierten Zellen	Weitere Vermehrung speziell granulären Materials. Kleinere Zahl homogenisierter Zellen	Teilweise Verminderung des granulären Materials. Zahlreiche vakuolisierte und einzelne homogenisierte Zellen	—
8 bis 14 Tage	Vollständiger Schwund granulären Materials, zahlreiche homogenisierte „T-Zellen“	Fast vollständiger Schwund granulären Materials. Deutliche Hyperplasie homogenisierter „T-Zellen“	Gesamtmenge des granulären Materials nicht verringert, vielfach grobschollige, zahlreiche homogenisierte Zellen	Deutlicher Schwund granulären Materials, Zunahme der homogenisierten Zellen	—
15 bis 28 Tage	Vollständiger Schwund granulären Materials, sofern kein Schilddrüsenrest! Zunehmende Hyperplasie der „T-Zellen“	Wieder mehr granuläres Material, starke Hyperplasie der homogenisierten „T-Zellen“	—	Zunahme z. T. grobschollig positiven Materials. Hyperplasie zahlreicher homogenisierter Zellen	—

Die auffälligste — und neben der einfachen Degranulierung am häufigsten zu findende Veränderung ist die Homogenisierung des granulafreien Cytoplasmas, die auch als „Hyalinisierung“ bezeichnet wird. Elektronenmikroskopisch (M. G. FARQUHAR und J. RINEHART) besteht das lichtmikroskopisch homogene Plasma der Thyreoidektomiezele aus Vesikeln sehr unterschiedlicher Größe. Funktionell stellen die „Thyreoidektomiezellen“ offenbar einen aktiv sezernierenden Typ dar, in dem es zu keiner Speicherung granulären Materials kommt. Teilhomogenisierte Zellen mit noch granulähaltigem Material sind nach inkompletter Schilddrüsenblockade durch Itrumil (PURVES und GRIESBACH, eigene Befunde) und besonders deutlich in den hier angestellten Experimenten zu finden. Sie zeigen, daß die granulafreien Thyreoidektomiezellen aus den thyreotropen Elementen hervorgehen. SCHARF u. Mitarb. nehmen dagegen eine vorzügliche Entwicklung aus  $\gamma$ -Zellen an, billigen aber darüber hinaus auch den „Thyreotropen“ diese Fähigkeit zu. Lichtmikroskopisch gesehen, ziehen wir den Begriff „Homogenisierung“ für die hier zu beobachtende Zellwandlung vor, da mit der Bezeichnung „Hyalinisierung“ zu sehr der Gedanke an eine regressive Metamorphose verbunden sein könnte, von der aber wenigstens in den frühen Phasen der Zellumwandlung keine Rede sein kann. Eine genaue Funktionsanalyse der „Thyreoidektomiezele“, beispielsweise durch Messung ihres Eiweißumsatzes im Autoradiogramm, steht bis heute noch aus.

Dagegen weiß man, daß nach Aufhebung des Thyroxin-Mangelzustandes die homogenisierte Zelle sich in kurzer Frist wieder mit granulärem Material belädt und in eine regelhafte „Thyreotrope“ zurückverwandelt wird. Dies tritt an der 28 Tage mit Propylthiouracil behandelten Ratte innerhalb von 12 Std ein, wenn zusätzlich Trijodothyronin gegeben wird (PETERS und HALMI), oder 6—7 Tage nach Absetzen von Propylthiouracil (D'ANGELO). Es kommt dann zu einem eindrucksvollen Reboundphänomen mit 5fachem TSH-Gehalt in der Hypophyse gegenüber den Kontrollwerten.

Da die homogenisierte „Thyreoidektomiezele“ von uns auch bei fehlender TSH-Stimulierung, aber erhöhter ACTH-Abgabe gefunden wird, ist diese Zellwandlung offenbar nicht spezifisch und der Begriff „Thyreoidektomiezele“ zu eng. Wir haben schon aus unseren Beobachtungen nach langfristiger Nebennierenblockade geschlossen, daß das „thyreotrope“ System der Rattenhypophyse für die TSH- und ACTH-Abgabe verantwortlich sein muß. Die Beobachtung eines „thyreocorticotropen Phasenwechsels“ (TONUTTI, KRACHT und SPÄTHER), wonach im allgemeinen erhöhte ACTH-Abgabe mit verminderter TSH-Produktion und umgekehrt einhergeht, erscheint durch die gemeinsame Produktion der beiden tropen Hormone im gleichen Zellsystem gut erklärt und findet sich in den eigenen Befunden an Schilddrüse und Nebennieren wieder bestätigt. HALMI, TUCHMANN-DUPLESSIS und KIEF haben nach Adrenalektomie und Stress wie wir die wesentlichen Veränderungen in den „aldehydfuchsinpositiven“ Zellen der Rattenhypophyse gefunden, ähnliche Bilder sahen REESE et al. in einem Teil der „Basophilen“, noch bevor die funktionelle Gliederung in „gonadotrope“ und „thyreotrope“ Elemente durch die Arbeiten von PURVES und GRIESBACH entdeckt war.

Lokalisiert man die TSH- und ACTH-Bildung im gleichen Zellsystem, muß man sich aber darüber klar sein, daß der Sekretionsmechanismus des HVL für

beide trope Hormone offenbar different ist. Bei Thyroxin-Mangel durch Propylthiouracil sinkt der TSH-Gehalt der Hypophyse auf etwa 5% der Norm ab, während der TSH-Gehalt im Serum um das Mehrfache erhöht ist (D'ANGELO). Entsprechend dem morphologischen HVL-Bild, das während der gesamten Behandlungszeit von granulafreien Thyreoidektomiezellen beherrscht wird, ist die Sekretionsrate von TSH also erhöht, während eine Stapelung nicht stattfinden kann.

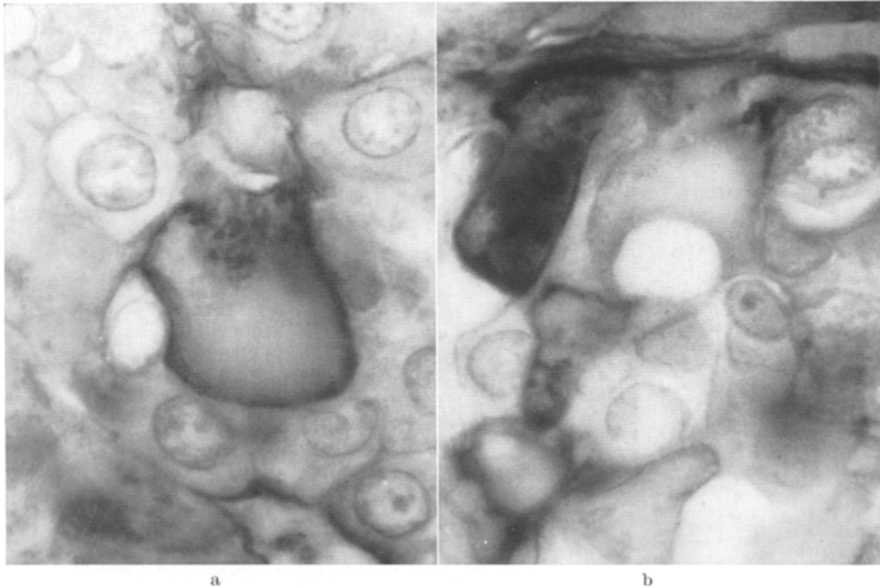


Abb. 4a u. b. Metopironblockade und Schwimmen. Thyreotrope Zellen bei Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Reaktion, Vergr. 1900fach, Tier Nr. 17. a Teildegranulierte und homogenisierte Zelle. b Neben einer regelhaft granulierten, kastenförmigen Zelle homogene Zelle mit großer Vacuole

Die ACTH-Bildung und Abgabe im Stress zeigt dagegen einen andersartigen Regulationsmechanismus. Gemessen am Ascorbinsäuretest steigt die ACTH-Aktivität im Blut des Versuchstieres  $2\frac{1}{2}$  min nach Anaesthesie und Adrenalektomie von 0 auf Werte an, die etwa 20 MU ACTH/100 ml Serum entsprechen. Innerhalb von 20 min fällt der ACTH-Spiegel wieder auf nicht meßbare Werte ab. Auch 5 Tage nach Adrenalektomie ist im Blut kein ACTH feststellbar, erst eine zusätzliche Stress-Situation führt wieder zu einem steilen Anstieg. Vom 10. Tag ab zeigt auch die nicht zusätzlich „gestresste“ adrenalektomierte Ratte meßbare ACTH-Werte im Blut, die ihr Maximum 3 Wochen nach Adrenalektomie erreichen (HODGES und J. VERNIKOS-DANELIS).

Gleichzeitig steigt aber auch — und hierin liegt der bemerkenswerte Unterschied gegenüber der TSH-Sekretion — der Gehalt der Hypophyse an ACTH stark an. Nach den Befunden von GEMZELL et al. sinkt er zunächst in den ersten 12 Std nach Adrenalektomie stark ab, um dann rasch wieder anzusteigen. 30 Tage nach Adrenalektomie hat er etwa das  $2\frac{1}{2}$ fache der Ruhe-Hypophyse erreicht (HODGES und J. VERNIKOS-DANELIS). Erhöhte ACTH-Sekretion geht also immer auch mit erhöhter Produktion und Bereitstellung im HVL einher. Mit diesem differenten Verhalten des TSH- und ACTH-Sekretionsmechanismus unter

erhöhter Stimulierung findet das differente Verhalten des granulären Materials im System der „thyreotropen“ Zellen, dem man eine Baustoff- oder Speicherfunktion zusprechen darf, unter den verschiedenen Bedingungen eine gute Erklärung. Wir haben gesehen, daß bei einer Versuchsdauer von 12—24 Std ein starker Schwund alcianblauen granulären Materials vorliegt, daß aber bei dem über 24 Std fortgesetzten Experiment rasch wieder eine Auffüllung granulären Materials eintritt, zu einem Zeitpunkt, in dem die Nebennieren eine vollständige

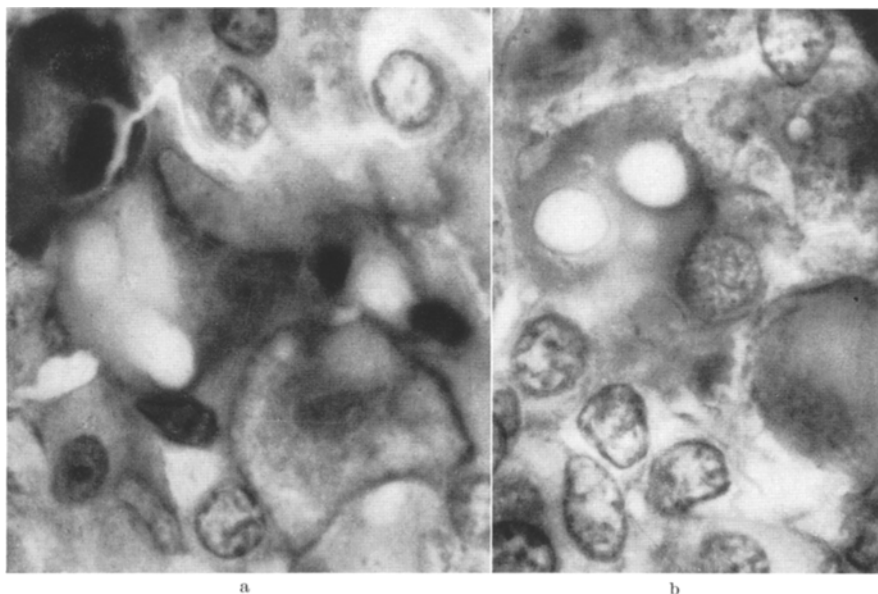


Abb. 5a u. b. Verschiedene Typen homogenisierter und vacuolisierter thyreotroper Zellen nach Nebennierenblockade und Schwimmen. Trichromfärbung nach PEARSE. Vergr. 1900fach

Entspeicherung der Zona fasciculata zeigen. Das granuläre Material kann dabei — wie wir das schon früher nach einfacher Adrenalectomie gesehen hatten (DHOM und TIETZE), besonders kompakt bis grobschollig sein. Bemerkenswert erscheint uns die Schnelligkeit, mit der die morphologischen Zellwandlungen unter den angestellten — zweifellos erheblichen — Belastungen eintreten. Eindrucksvolle „Homogenisierungen“ liegen bereits nach 7stündiger Gesamtversuchszeit vor. Beim unbelasteten Tier treten die morphokinetischen Reaktionen offenbar mit einer längeren Latenzzeit auf (Tabelle 2). Dies gilt besonders für die Umwandlung in „Thyreoidektomiezellen“ und für die Wiederauffüllung mit granulärem Material. In einzelnen Exemplaren treten die „Thyreoidektomiezellen“ nach 7tägiger Itrumil- oder 5tägiger Metopiron-Blockade auf. Bei akutem Stress und Nebennierenblockade sehen wir sie schon nach 7 Std entwickelt. Der Verlust granulären Materials ist 48 Std nach Thyreoidektomie deutlich, nach 6 Tagen komplett. Nach unvollständiger Schilddrüsenblockade durch Itrumil ist er erst nach 14 Tagen fast total. Zur gleichen Zeit ist der Granulabestand nach Adrenalectomie wieder normalisiert! Nach Metopiron-Blockade hält der Schwund granulären Materials bis zum 10. Tage an und erst von da an steigt das granuläre

Material wieder deutlich, oft unter Bildung grobscholliger Granula. Im Stress finden wir die Vermehrung granulären Materials schon nach 24 Std wieder, so daß der „Normbestand“ als erreicht gelten kann.

Aus dieser kurzen Übersicht läßt sich ablesen, daß Umfang und Geschwindigkeit des Granulaverlustes sowie des Auftretens der „Thyreoidektomiezellen“ von der Größe der Belastung abhängig sind, die dem Hypophysen-Schilddrüsensystem bzw. dem Hypophysen-Nebennierenrindensystem zugemutet werden. Der dabei im biologischen Test zu erkennende unterschiedliche Sekretionsmechanismus von TSH und ACTH spiegelt sich im Verhalten des granulären Materials im „thyreotropen“ Zellsystem der Rattenhypophyse wider. Der Granulagehalt kann daher als Maßstab für den Hormongehalt der Hypophyse gelten, nichts aber über die Sekretionsrate eines bestimmten Hormons aussagen. Die Frage nach den — speziell hypothalamischen — Steuerungsprinzipien der Sekretbildung und Abgabe aus dem HVL soll hier nicht berührt werden.

### Zusammenfassung

Männliche Ratten werden akuten Belastungen durch Schwimmen unterworfen, nachdem vorher das Adrenostaticum Metopiron gegeben oder zusätzlich einseitig adrenaletomiert worden war. In der Nebennierenrinde kommt es zu ausgeprägten Lipoidverlusten, während an den Schilddrüsen überwiegend Inaktivierung zu beobachten ist. Der HVL zeigt ausgeprägte Formwandlungen nur im „thyreotropen“ System, schon nach 7stündiger Gesamtversuchszeit sind Homogenisierungen vom Typ der „Thyreoidektomiezelle“ zu beobachten. Aus den Versuchen wird geschlossen, daß TSH und ACTH im „thyreotropen“ System der Rattenhypophyse gebildet werden. Beide Wirkstoffe zeigen aber einen differenten Sekretionsmechanismus: Während TSH im Thyroxin-Mangelzustand zwar erhöht sezerniert, aber im HVL nicht gespeichert wird, wird ACTH unter Stressbedingungen gleichzeitig erhöht gebildet, gespeichert und sezerniert, was sich im unterschiedlichen Granulagehalt des thyreotropen Systems widerspiegelt.

### Stress Reactions in the Anterior Lobe of the Rat Pituitary

#### Summary

Male rats were subjected to acute stress by making them swim, prior to which *Metopiron* (adrenostatic) was given, or unilateral adrenalectomy in addition had been done. A pronounced loss of lipoid occurred in the adrenal cortex, whereas the thyroid showed chiefly inactivation. The anterior lobe of the pituitary disclosed marked change only in the “thyrotropic” system; after only seven hours of total experimentation there were homogenizations of the type “thyroidectomy cells”. From the studies it was concluded, that TSH and ACTH were formed in the “thyrotropic system” of the rat pituitary. Both substances, however, showed a different mechanism of secretion: whereas TSH was secreted in increased amounts in thyroxin deficiency, it was not stored in the anterior lobe. On the

other hand, ACTH under conditions of stress was formed in increased amounts, stored and secreted. This was reflected in the variable content of granules in the thyrotropic system.

### Literatur

- ADAMS, C. W. M., and A. G. E. PEARSE: Classification of the mucoid (basophil) cells in the normal and pathological human adenohypophysis. *J. Endocr.* **18**, 147—153 (1959).
- , and K. V. SWETTENHAM: The histochemical identification of two types of basophil cells in the normal human adenohypophysis. *J. Path. Bact.* **75**, 95—102 (1958).
- D'ANGELO, S. A.: TSH-Rebound-Phenomenon in the rat adenohypophysis. *Endocrinology* **69**, 834—843 (1961).
- DHOM, G., F. BURKERT u. H. U. TIETZE: „Thyreoidektomiezellen“ im Hypophysenvorderlappen der Ratte nach Nebennierenblockade. *Z. Zellforsch.* **57**, 679—691 (1962).
- , u. H. U. TIETZE: Zur experimentellen Histophysiologie der  $\beta$ -Zellen der Rattenhypophyse nach Untersuchungen mit der Perameisensäure-Alcian-Reaktion. *Endokrinologie* **42**, 284—294 (1962).
- FARQUHAR, M. G., and J. F. RINEHART: Cytologic alterations in the anterior pituitary gland following thyroidectomy: an electron microscopic study. *Endocrinology* **55**, 587 (1954).
- FINERTY, J. C., M. HESS and R. BINHAMMER: Pituitary cytological manifestations of heightened adrenocorticotrophic activity. *Anat. Rec.* **114**, 115—126 (1952).
- GEMZELL, C. A., D. C. VAN DYKE, C. A. TOBIAS and H. M. EVANS: Increase in the formation and secretion of ACTH following adrenalectomy. *Endocrinology* **49**, 325—336 (1951).
- HALMI, N. S.: Two types of basophils in the anterior pituitary of the rat and their respective cytophysiological significance. *Endocrinology* **47**, 289—299 (1950).
- Two types of basophils in the rat pituitary: “Thyrotrophs” and “Gonadotrophs”, v.s.  $\beta$ - and  $\gamma$ -cells. *Endocrinology* **50**, 140 (1952).
- , and S. B. BARKER: Histophysiological effects of cortisone on rat pituitary and thyroid. *Endocrinology* **51**, 127—134 (1952).
- HODGES, J. R., and J. VERNIKOS-DANELIS: Pituitary and blood corticotrophin changes in adrenalectomized rats maintained on physiological doses of corticosteroids. *Acta endocr. (Kbh.)* **39**, 79—86 (1962).
- KIEF, H.: Experimentelle Untersuchungen über die zelluläre Bildungsstätte des ACTH. *Beitr. path. Anat.* **116**, 541—573 (1956).
- KRACHT, J.: Die Nebennierenrinde bei chemischer Adrenostase. *Allergie u. Asthma* **7**, 264—271 (1961).
- , u. M. SPAETHE: Über Wechselbeziehungen zwischen Schilddrüse und Nebennierenrinde. *Virchows Arch. path. Anat.* **323**, 174, 629 (1953).
- PEARSE, A. G. E.: Differential stain for the human and animal anterior hypophysis. *Stain Technol.* **25**, 95 (1950).
- PETERS, B. H., and N. S. HALMI: Changes in the thyroidectomy cells of the rat pituitary under the influence of large doses of triiodothyronine. *Endocrinology* **68**, 844 (1961).
- PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH: Changes in the basophil cells of the rat pituitary after thyroidectomy. *J. Endocr.* **13**, 365—375 (1956).
- RASMUSSEN, A. T.: The proportions of the various subdivisions of the normal adult human hypophysis cerebri and the relative member of the different types of cells in pars distalis. *Ass. Res. nerv. Diss. Proc.* **17**, 118—150 (1938).
- REESE, J. D., A. A. KONEFF and M. B. AKIMOTO: Anterior pituitary changes following adrenalectomy in the rat. *Anat. Rec.* **75**, 373—403 (1939).
- SCHARF, J. H., u. W. FÖRSTER: Das Zellbild der Rattenhypophyse nach kombinierter Verabreichung einiger Thyreostatica zusammen mit SH-gruppenhaltigen Verbindungen unter besonderer Berücksichtigung der Zytogenese der Thyreoidektomiezele. *Z. Zellforsch.* **40**, 117—138 (1954).
- SELYE, H.: Stress. Montreal, Canada Acta Inc.: 1950.

- TONUTTI, E.: Die Umbauvorgänge in den Transformationsfeldern der Nebennierenrinde als Grundlage der Beurteilung der Nebennierenrindenarbeit. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **52**, 32—86 (1942).
- Über die Sekretionsbiologie des Hypophysenvorderlappens, betrachtet an den Wechselbeziehungen von Schilddrüse und Nebennierenrinde. *Vitam. u. Horm.* **5**, 108—123 (1944).
- Zur Analyse der pathophysiologischen Reaktionsmöglichkeiten des Organismus. *Klin. Wschr.* **27**, 569—570 (1949).
- Wirkung nachträglicher Hypophysektomie auf den Eintritt der Nebennierenrindenschäden bei Diphtherietoxinvergiftung. *Klin. Wschr.* **28**, 137 (1950).
- TUCHMANN-DUPLESSIS, H.: Modifications anté hypophysaires en rapport avec la sécrétion corticotrope. *Ann. Endocr. (Paris)* **12**, 742—751 (1951).

Dr. G. DHOM, Pathologisches Institut der Universität,  
87 Würzburg, Luitpoldkrankenhaus