

Zur Ultrastruktur der Rattenepithelkörperchen bei Normo-, Hyper- und Hypocalcämie*

Applikation von Parathormon, Thyreocalcitonin, Dihydrotachysterin,
Glycerophosphat und verschiedener Diät

EBERHARD ALTENÄHR

Pathologisches Institut der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. G. Seifert)

Eingegangen am 10. Juli 1970

Ultrastructure of Rat Parathyroid Glands in Normo-, Hyper-, and Hypocalcemia

Administration of Parathyroid Hormone, Thyreocalcitonin, Dihydrotachysterol,
Ferric-Glycerophosphate, and Various Diets

Summary. The functionally mediated ultrastructural changes of the parathyroid glands were studied in normocalcemic, hypercalcemic, and hypocalcemic rats. Hypercalcemia was induced by administration of parathyroid hormone or dihydrotachysterol. Hypocalcemia resulted from calcium deficient diet, calcium and phosphate deficient diet, ferric-glycerophosphate injections, and administration of thyreocalcitonin.

Suppression of parathyroid gland activity by hypercalcemia is correlated with a relative increase of clear chief cells and straight cell membranes. There is a decrease of ribosomes in general and the ergastoplasmic tubules also lose their attached ribosomes. The endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus are reduced in size. Parathyroid glands stimulated by hypocalcemia are morphologically characterized by a predominance of dark chief cells with increased cytoplasmic indentations. There is also an increase of ribosomes, granular endoplasmic reticulum and Golgi apparatus.

Inclusion bodies, measuring 150 to 300 m μ in diameter and containing loose granular material, are considered to be prosecretory granules. Inclusion bodies measuring about 600 m μ in diameter, limited by a membrane and containing dense fine granular material, are believed to be hormonal storage granules. It is suggested that the fine granular material of these hormonal storage granules is degraded by lytic enzymes after incorporation of small cytoplasmic vesicles. Based on the analysis of the reported morphological findings and biochemical data from the literature, it is thought that the storage of hormone plays only an unimportant role in parathyroid function. A close functional relationship seems to exist between actual hormonal requirement, hormone synthesis, and cellular hormone secretion without a significant latency period.

Stimulation or inactivation of parathyroid glands is regulated merely by the degree of hypocalcemia or hypercalcemia and is unrelated to the different experimental conditions. Apparently there is only an indirect interdependence between the parathyroid gland and the C-cells of the thyroid gland by way of the plasma calcium level. Specific changes in the parathyroid cells after administration of thyreocalcitonin were not observed.

Als wesentlicher regulierender Faktor für die Hormonproduktion der Epithelkörperchen wird der Serumcalciumspiegel angesehen (Aurbach und Potts, 1969; Fourman u. Mitarb., 1968). Jedoch sind andere Möglichkeiten einer Steuerung nicht ausgeschlossen. So hat die Entdeckung des Calcitonin und seiner Wirkungen

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

auf den Calciumstoffwechsel die Frage aufgeworfen, ob eine direkte gegenseitige Beeinflussung zwischen den Calcitonin-produzierenden C-Zellen und den Epithelkörperchen stattfindet. Es konnten jedoch für eine derartige direkte hormonale Koppelung bisher keine Beweise erbracht werden (Hirsch und Munson, 1969; Gittes u. Mitarb., 1968). Ferner ist seit langem die Stimulierung der Epithelkörperchen durch exogene Phosphatzufuhr bekannt (Sandritter u. Mitarb., 1955; Eger, 1956; Eder, 1961). Bei der diätetischen Beeinflussung der Epithelkörperchenaktivität wird von Clark (1968) die Bedeutung des Verhältnisses von Calcium zu Phosphat und nicht der absolute Calciumgehalt der Nahrung betont. Ferner bewirken sowohl exogen zugeführtes Parathormon als auch Dihydrotachysterin eine Hypercalcämie, die auf einer Calciumfreisetzung aus dem Knochen beruht. Da jedoch beide Substanzen chemisch völlig verschieden sind, ist eine andersartige Rückwirkung auf die Epithelkörperchen denkbar.

Aus diesen Gründen erschien es sinnvoll, die ultrastrukturellen Veränderungen der Epithelkörperchen unter verschiedenen Versuchsbedingungen parallel zu untersuchen und die Strukturveränderungen einerseits im Hinblick auf den Serumcalciumspiegel und andererseits im Hinblick auf die jeweils unterschiedlichen Versuchsbedingungen zu vergleichen. Dabei soll neben der Strukturanalyse bei verschiedenen Funktionszuständen auch geprüft werden, ob außer dem Serumcalciumspiegel andere Faktoren einen spezifischen Einfluß auf die Ultrastruktur der Epithelkörperchen ausüben.

Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an 59 weiblichen Wistar-Ratten mit einem Ausgangsgewicht von 60—120 g durchgeführt. Die Versuchsanordnung ist in der Tabelle dargestellt.

Gruppe 1. 10 Tiere wurden als Kontrolltiere unbehandelt untersucht.

Gruppe 2. Der Einfluß von Parathormon (Lilly) wurde bei 5 Tieren 6 Std nach einmaliger subcutaner Injektion von 50 USP-Einheiten (Gruppe 2a, akut) und bei 5 Tieren nach 8 Versuchstagen bei täglich 2maliger subcutaner Gabe von 20 USP-Einheiten (Gruppe 2b, chronisch) untersucht.

Gruppe 3. Bei 5 Tieren wurde durch Gabe von 1 mg Dihydrotachysterin in 1 ml ölgiger Lösung¹ mit der Schlundsonde exogen eine Hypercalcämie erzeugt. Die Tiere wurden nach 48 Std getötet.

Gruppe 4. Mit einer calcium- und phosphorarmen Diät wurden 11 Tiere 2 (Gruppe 4a) bzw. 4 Wochen lang (Gruppe 4b) gefüttert. Die Diät wurde mit 71,5% Maismehl, 22,5% Casein, 4% Hefe und 2% NaCl sowie Aqua dest. angesetzt. Eine Analyse dieser Diät ergab einen Gehalt von 0,07% Calcium (= 7% des Bedarfs) und 0,10% Phosphor (= 15% des Bedarfs) in der Trockensubstanz².

Gruppe 5. Eine calciumarme Diät mit ausreichendem Phosphorgehalt (Altromin-Diät C 1710; 0,08% Calcium und 0,6% Phosphor) erhielten 3 Tiere 4 Wochen lang.

Gruppe 6. Die Wirkung von Eisen^{III}-Glycerophosphat, täglich einmal 30 mg in 10%iger Lösung wurde bei 5 Tieren nach 4wöchiger Versuchsdauer untersucht.

¹ 1 Dihydrotachysterin (AT 10®) wurde von den Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

² Die Calcium- und Phosphorbestimmungen der Sonderdiäten wurden im Institut für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Drepper) durchgeführt.

Tabelle. Übersicht über die Versuchsanordnung

Gruppe	Versuchsbedingungen	Versuchs- dauer	Tier- zahl	Serum-Ca (mg-%)
1	Kontrolltiere unbehandelt, 4—8 Wochen alt	—	10	$10,9 \pm 0,4$
2a	Parathormon akut 1mal 50 USP-E s. c.	6 Std	5	$12,2 \pm 0,5$
2b	Parathormon chronisch 2mal tgl. 20 USP-E s. c.	8 Tage	5	$13,5 \pm 0,6$
3	Dihydrotachysterin 1mal 1 mg p. o.	48 Std	5	$15,6 \pm 2,3$
4a	Ca- und P-arme Diät 0,07% Ca; 0,10% P	2 Wochen	8	$9,6 \pm 0,4$
4b	Ca- und P-arme Diät 0,07% Ca; 0,10% P	4 Wochen	3	$9,1 \pm 1,4$
5	Ca-arme Diät 0,08% Ca; 0,6% P	4 Wochen	3	$10,6 \pm 0,5$
6	Fe ⁺⁺⁺ Glycerophosphat 1mal tgl. 30 mg s. c.	4 Wochen	5	$9,8 \pm 0,3$
7	Thyreocalcitonin 6mal tgl. 0,3 MRC-E s. c.	2 Wochen	10	$8,5 \pm 0,6$

Gruppe 7. Thyreocalcitonin³ wurde 10 Tieren 2 Wochen lang 6mal täglich in einer Dosis von je 0,3 MRC-Einheiten subcutan injiziert. 1 MRC-Einheit war in 1 ml Acetatpuffer mit 5% Gelatine und Zusatz von Ameisensäure gelöst.

Die mit Sonderdiät ernährten Tiere der Gruppen 4 und 5 erhielten als Trinkwasser Aqua dest. ad libitum, die Tiere der übrigen Gruppen eine Standard-Diät (Altromin®) mit 1,37% Calcium und 0,95% anorganischem Phosphor sowie Aqua font. ad libitum. Der Serumcalciumspiegel der Tiere wurde unmittelbar vor Versuchsbeginn, mehrmals während der Versuche und zum Zeitpunkt der Tötung (Wert der Tabelle) flammenphotometrisch bestimmt.

Die Epithelkörperchen wurden in Äthernarkose präpariert, in Glutaraldehyd mit Kakyolatpuffer fixiert, in Daltonscher Osmiumsäure-Lösung nachfixiert und in Epon eingebettet. Die Ultradünnschnitte wurden mit Bleicitrat und Uranylacetat kontrastiert und am Philips EM 300 mikroskopiert.

Ebenfalls wurde die Schilddrüse präpariert und ein Lappen zur elektronenmikroskopischen Untersuchung der C-Zellen fixiert und eingebettet (Altenähr und Lietz, 1970; Lietz, 1970). Einem Teil der Tiere aus diesen Versuchsgruppen wurde 1 Std vor Versuchsende 3 µCi ³H-Thymidin pro g Körpergewicht injiziert und die Epithelkörperchen und Schilddrüsenlappen der einen Seite autoradiographisch untersucht (Lietz und Altenähr, 1970). Ferner wurden Herz, Nieren, Lungen und Femur zur lichtmikroskopischen Untersuchung entnommen.

Befunde

Gruppe 1 (Kontrolltiere)

Die Epithelkörperchen unbehandelter Ratten mit normalem Serumcalciumspiegel bestehen aus solid oder trabeculär angeordneten Parenchymzellen. Hierbei handelt es sich um Hauptzellen mit unterschiedlicher Elektronendichte (Abb. 1).

³ Als Calcitonin-Präparat wurde extrahiertes Schweine-Thyreocalcitonin verwandt, das die Firma Ciba AG, Basel, freundlicherweise bereitstellte.

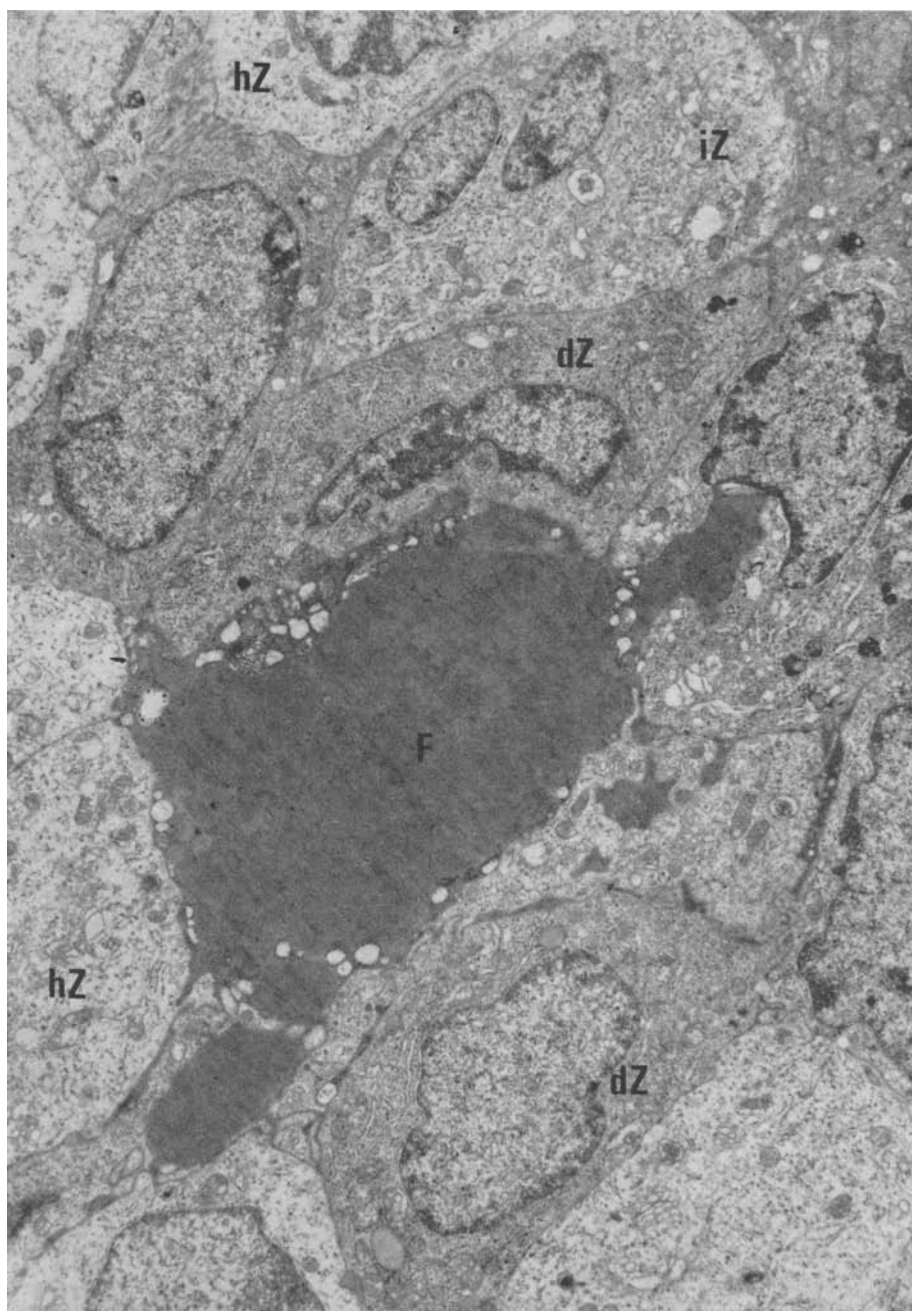


Abb. 1. Gruppe 1, Kontrolltiere: Hauptzellen von unterschiedlicher Elektronendichte; *hZ* helle Hauptzelle, *dZ* dunkle Hauptzelle, *iZ* intermediäre Zellform. Im Zentrum eine follikelartige Erweiterung des Intercellularraumes (*F*). Vergr. 7500fach

Infolgedessen kann man unterscheiden zwischen dunklen Hauptzellen, hellen Hauptzellen und Zwischenformen. Die zahlenmäßige Verteilung dieser Zellformen kann regional etwas wechseln. Zu einer Beurteilung des Gesamtzellbildes müssen daher größere Anteile einer Drüse untersucht werden. Bei normalen Kontrolltieren sind die Zwischenformen am häufigsten vertreten.

Die dunklen Hauptzellen (Abb. 2) besitzen reichlich endoplasmatisches Reticulum mit membrangebundenen Ribosomen und daneben zahlreiche freie Ribosomen, die meist als Polyribosomen angeordnet sind. Daneben haben diese Zellen gut entwickelte Golgi-Felder und ein dunkles Hyaloplasma. Die hellen Hauptzellen (Abb. 2) besitzen die genannten Zellbestandteile in geringerer Dichte. Insbesondere enthalten sie weniger freie Ribosomen, und die Zisternen des endoplasmatischen Reticulum sind häufig nicht von Ribosomen besetzt. Auch Mitochondrien sind in hellen Hauptzellen seltener als im Cytoplasma der dunklen Zellen.

Weiterhin finden sich im Cytoplasma, meist in der Nähe der Golgi-Felder, 150—300 m μ große Bläschen, die im Inneren ein feingranuläres Material enthalten und als Prosekretgranula bezeichnet werden (Abb. 3, 7). Aus diesen können sich offenbar größere, etwa 500—700 m μ durchmessende Körper entwickeln, welche ebenfalls einen granulären Inhalt und eine umgebende Membran besitzen (Abb. 3). Diese großen Körper entsprechen offenbar reifen hormonspeichernden Sekretgranula. Gelegentlich ist die Aufnahme von kleinen Bläschen durch solche Körper zu beobachten und gleichzeitig eine Auflösung des feinkörnigen Inhalts, so daß sie einen hellen Hof erhalten und auf diese Art in multivesiculäre Körper umgewandelt werden können. Die als Hormonspeichergranula angesehenen Körper sind in den Epithelkörperchenzellen der Ratte nur in geringer Zahl vorhanden. — Häufiger sieht man im Cytoplasma einen weiteren Typ elektronendichter Körper, die eine unregelmäßige Außenkontur und eine grobe Innenstruktur aufweisen (Abb. 4a). Hierbei handelt es sich möglicherweise um lysosomale Körper. Schließlich enthalten die Zellen noch Lipoidgranula unterschiedlicher Größe (Abb. 4a). Sie liegen meist an dem Zellpol, der einem erweiterten Intercellularraum oder dem perivascularären Interstitium zugekehrt ist und sind häufig Mitochondrien dicht benachbart.

Die epithelial angeordneten Epithelkörperchenzellen werden meist durch einen nur 200 Å breiten Intercellularspalt getrennt. Gelegentlich sind Desmosomen vorhanden (Abb. 2, 3). Die Zellmembranen verlaufen mäßig geschlängelt (Abb. 2, 4), und es entstehen hierdurch schmale Zellfortsätze und Zellverzahnungen. Andererseits ist stellenweise der Intercellularspalt verbreitert. Diese intercellulären Kanäle besitzen meist einen homogenen mäßig elektronendichten Inhalt (Abb. 4a), seltener enthalten sie ein feingranuläres Material (Abb. 4b). Die Kanäle münden in die perivascularären Räume ein. Lacunäre Erweiterungen solcher Intercellularräume lassen mitunter das Bild kleiner Follikel entstehen (Abb. 1). Gegen das gefäßführende Interstitium werden die Epithelkörperchenzellen von einer sehr dünnen Basalmembran überkleidet. Auch die Arteriolen, Venolen und Capillaren besitzen eine Basalmembran. Ferner liegen im Interstitium einzelne Fibrocyten, Kollagenfasern und vereinzelte marklose vegetative Axonbündel.

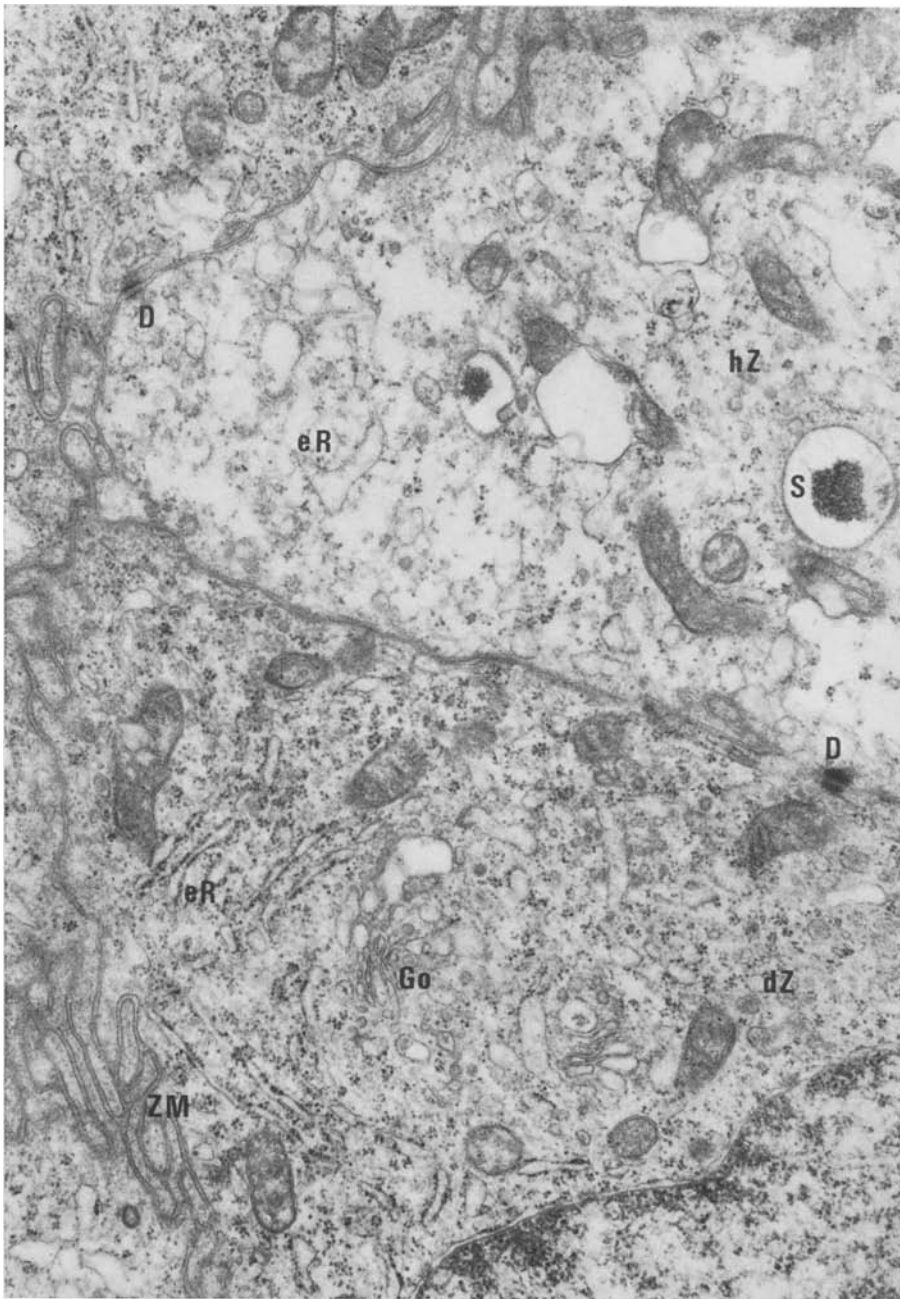


Abb. 2. Gruppe 1, Kontrolltiere: Ausschnitt aus einer dunklen Hauptzelle (*dZ*) und einer hellen Hauptzelle (*hZ*). In der dunklen Zelle reichlich raues endoplasmatisches Reticulum (*eR*), Golgi-Apparat (*Go*) und freie Ribosomen. In der hellen Zelle lockere Anordnung der Organellen und agranuläre Schläuche des endoplasmatischen Reticulum (*eR*). *S* geschwollene sekretorische Granula, *ZM* Zellmembran, *D* Desmosomen. Vergr. 25 000fach

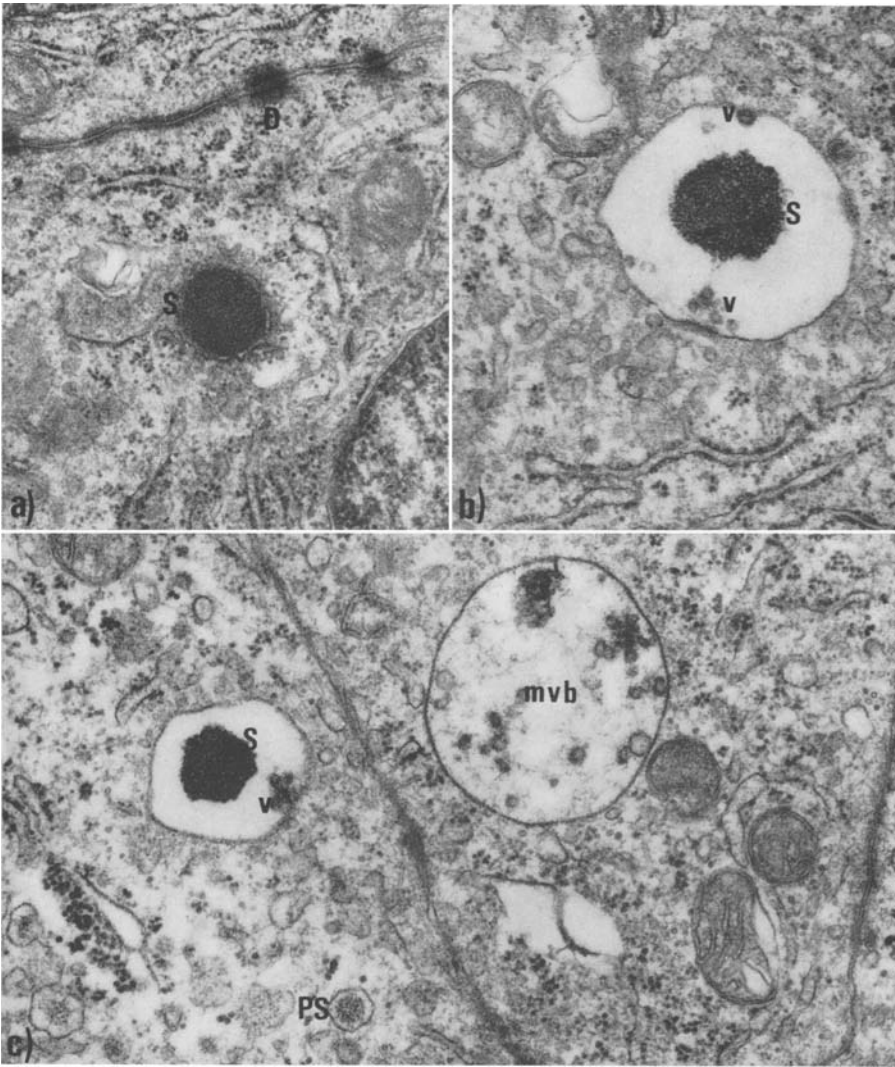


Abb. 3a—c. Gruppe 1, Kontrolltiere: Anschnitte größerer Granula von 500—1000 m μ Durchmesser mit dichtem feinkörnigem Inhalt und umgebender Membran. a „Sekretgranulum“ (S). b und c Aufnahme kleiner Bläschen (v) durch Sekretgranula (S) und Schwellung der Zone zwischen dem feinkörnigen Inhalt und der Membran. Möglicherweise Umwandlung in multivesikuläre Körper (mvb). D Desmosom. PS Prosekretgranulum. Vergr. 32000fach

Abb. 4a u. b. Gruppe 1, Kontrolltiere: Anschnitte mehrerer Hauptzellen mit mäßig geschlängelten Zellgrenzen und Zellverzahnungen. Im Cytoplasma mehrere elektronendichte Körper (db) mit unregelmäßiger Außen- und Innenstruktur. Interzellularraum (I) stellenweise erweitert und mit einem teils homogenem (a), teils feinkörnigem Material (b) angefüllt.

ZM Zellmembran. L Lipoidkörper. Vergr. a 16000fach, b 25000fach

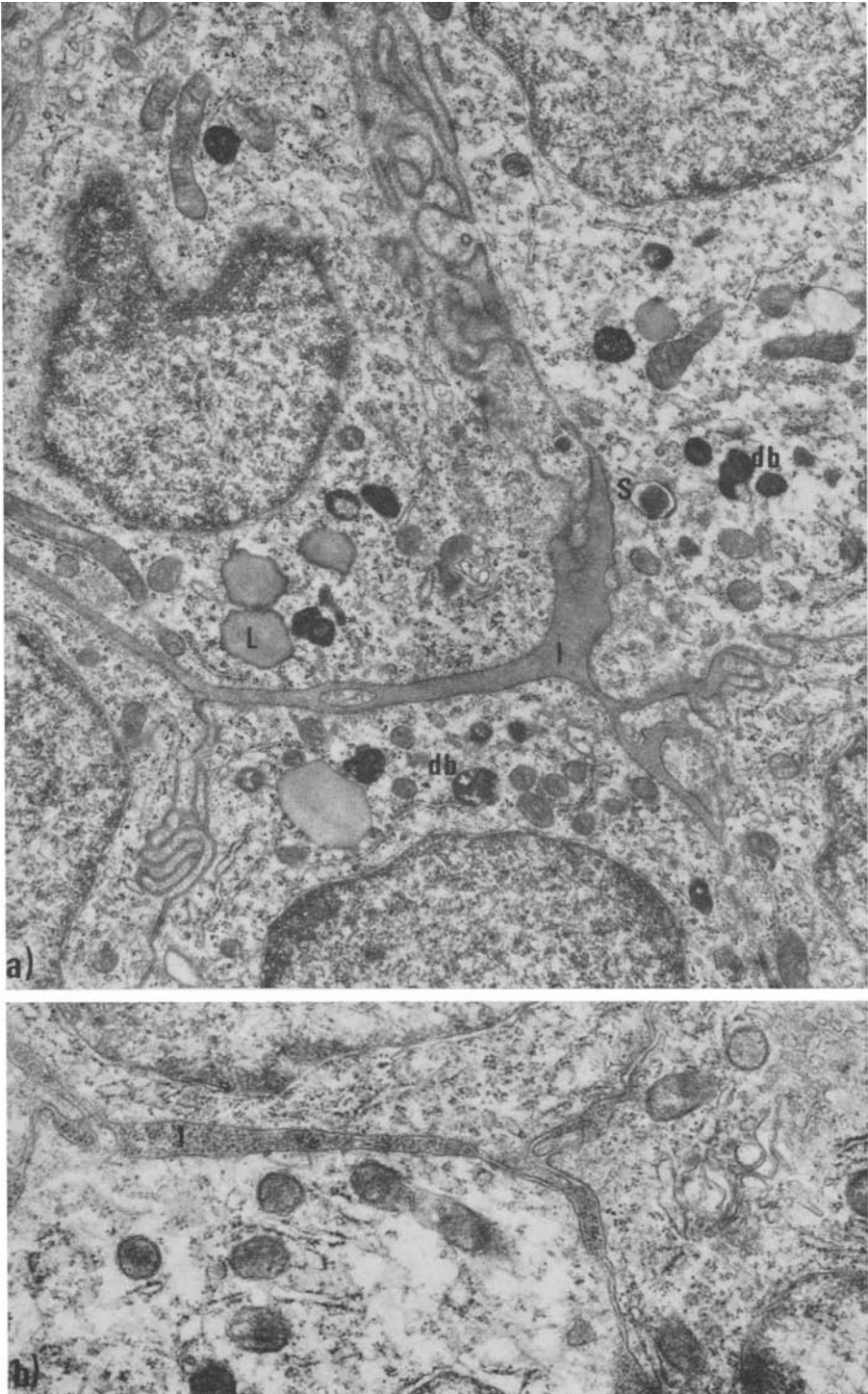


Abb. 4a u. b

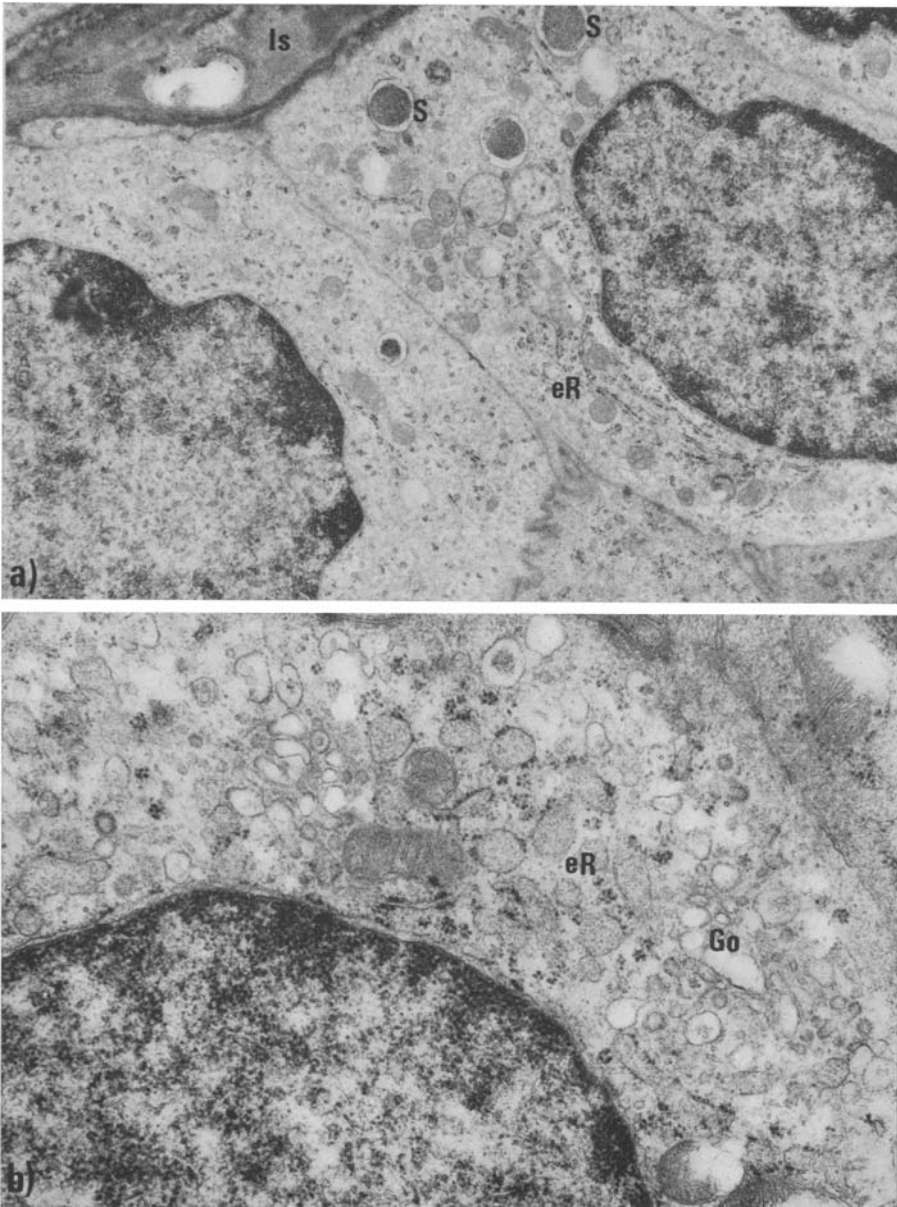


Abb. 5a u. b. Gruppe 2, Parathormon: Helle Hauptzellen mit gerade verlaufenden Zellgrenzen. Wenige Ribosomen, gering entwickeltes und teilweise degranuliertes endoplasmatisches Reticulum (*eR*), kleine Golgi-Felder (*Go*), *Is* Interstitium, *S* Sekretgranula.
Vergr.: a 12000fach, b 28000fach

Gruppe 2 (Parathormon)

Bereits 6 Std nach einmaliger Injektion von 50 USP-Einheiten Parathormon (Gruppe 2a) ließen sich ultrastrukturelle Veränderungen der Epithelkörperchen erkennen, die grundsätzlich gleichartig wie nach 8tägiger Parathormongabe waren (Gruppe 2b). Jedoch waren die Befunde bei Gruppe 2a verhältnismäßig geringgradig gegenüber denen bei Gruppe 2b. Nach 8tägiger Injektion von 2mal täglich 20 USP-Einheiten Parathormon fanden sich lichtmikroskopisch am Knochen eine Fibroosteoklasie und eine Osteosklerose und außerdem extraossäre Verkalkungen im Herzen und in den Nieren.

Die Epithelkörperchen bestehen überwiegend aus hellen Zellen, bedingt durch eine Verminderung der Ribosomen und des granulären endoplasmatischen Reticulum sowie eine Verkleinerung der Golgi-Felder (Abb. 5). Insbesondere sieht man vesiculär umgewandelte Anteile des endoplasmatischen Reticulum mit nur einzelnen Ribosomen, was auf eine Degranulierung des endoplasmatischen Reticulum hinweist (Abb. 5b). Die Abgrenzung degranulierter Ergastoplasmavesikel von Golgi-Vesikeln ist nicht überall möglich. Stellenweise findet sich eine Ansammlung von unterschiedlich elektronendichten Körpern am interstitiellen Pol der Epithelkörperchenzellen. Auch die Sekretspeichergranula liegen bevorzugt am interstitiellen Pol der Zellen (Abb. 5a). Die Zahl derartiger Sekretgranula erscheint geringgradig vermehrt. Viele von ihnen haben kleine Bläschen aufgenommen und zeigen gleichzeitig eine Verminderung ihres feinkörnigen Inhalts. Als auffälligen Befund zeigen die Zellmembranen im Vergleich zu Kontrolltieren eine nur geringe Schlängelung (Abb. 5a).

Gruppe 3 (Dihydrotachysterin)

48 Std nach Gabe von 1 mg Dihydrotachysterin ist der Serumcalciumspiegel der Tiere stark erhöht und hat seinen Maximalwert erreicht. Gleichzeitig findet sich am Knochen bereits eine Osteoklasie, und Herz, Niere und Lunge zeigen eine beginnende Calcinose.

Die Epithelkörperchen entwickeln unter dem Einfluß von Dihydrotachysterin grundsätzlich die gleichen strukturellen Veränderungen wie nach Parathormon. Auch hier handelt es sich um ein Überwiegen heller Zellen mit geraden und gestreckt verlaufenden Zellgrenzen und nur wenigen Zellverzahnungen (Abb. 6). Dunkle Hauptzellen und Zwischenformen treten an Zahl zurück. Die Ribosomen sind vermindert, ebenso das granuläre endoplasmatische Reticulum und der Golgi-Apparat. Infolge Degranulierung von Ergastoplasmaschläuchen wird stellenweise ein agranuläres Reticulum sichtbar. Sämtliche beobachteten Hormonspeichergranula enthalten einen hellen Hof zwischen ihrer äußeren Membran und ihrem feinkörnigen Inhalt. In dieser hellen Zone liegen immer einige Bläschen, häufig in Kontakt mit der Granulamembran.

Gruppe 4 (calcium- und phosphorarme Diät)

Nach Verfütterung einer calcium- und phosphorarmen Diät sanken die Serumcalciumwerte der meisten Tiere deutlich ab. Die Epithelkörperchen der hypocalcämischen Tiere zeigten gegenüber Kontrolltieren deutliche Veränderungen im Hinblick auf die Zellverteilung und das Bild der Einzelzelle. Die Epithel-

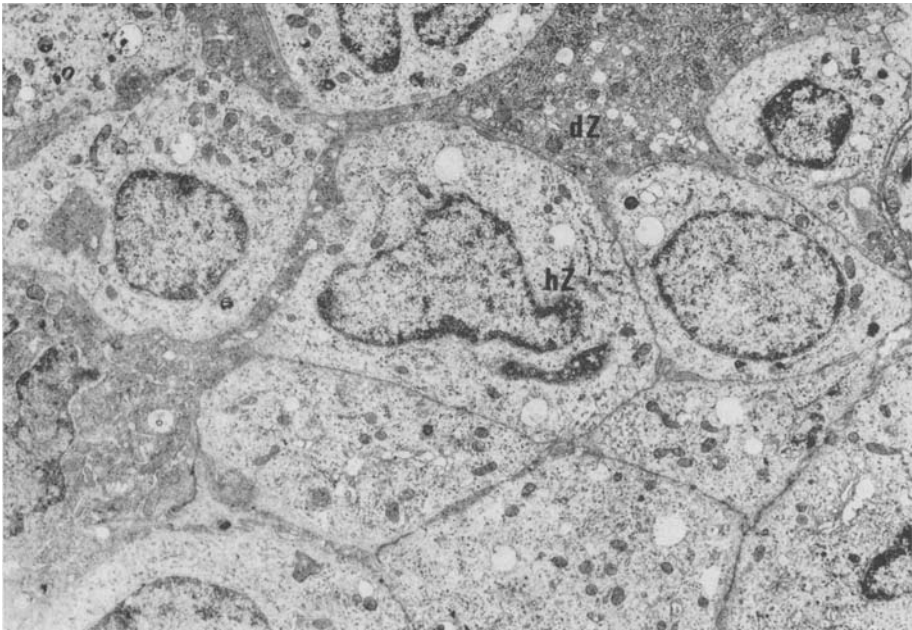


Abb. 6. Gruppe 3, Dihydratachysterin: Aufbau des Epithelkörperchenparenchyms vorwiegend aus Hauptzellen mit hellem Cytoplasma und geradem gestrecktem Verlauf der Zellgrenzen.
hZ helle Hauptzellen, *dZ* dunkle Hauptzellen. Vergr. 5500fach

körperchen sind vorwiegend aus dunklen Hauptzellen mit dicht strukturiertem Cytoplasma aufgebaut (Abb. 7). Die Zellmembranen benachbarter Zellen sind — parallel verlaufend — gegenüber Kontrolltieren erheblich stärker geschlängelt, so daß ein Labyrinth mit multiplen Zellverzahnungen entsteht, bei denen die Zugehörigkeit der einzelnen Zellfortsätze am Dünnschnitt nicht mehr bestimmt werden kann. Diese Zellfortsätze sind meist sehr schmal und enthalten außer dem Grundplasma keine Organellen.

Der übrige Cytoplasmaleib ist dicht von Organellen und Korpuskeln durchsetzt. Hierbei ist zunächst der Reichtum an granulärem endoplasmatischem Reticulum zu erwähnen. Die Schläuche des endoplasmatischen Reticulum liegen entweder unregelmäßig verteilt zwischen vermehrten Mitochondrien (Abb. 7a) oder sind in Form paralleler Ergastoplasma Komplexe angeordnet (Abb. 7b). Die freien Ribosomen sind gleichfalls vermehrt. Ebenso sind die Golgi-Felder und der Golgi-apparat als Ganzes vergrößert. In unmittelbarer Nähe der Golgi-Felder sind Prosekretgranula entwickelt. Während sich in einigen Zellen die Ausdehnung von Golgi-Feldern und endoplasmatischem Reticulum die Waage hält, ist in anderen Zellen ein jeweils umgekehrtes Verhältnis der Ausdehnung von Golgi-Feldern und endoplasmatischem Reticulum zu finden. Reife Sekretgranula sind selten. An dem Zellpol, welcher zum Interstitium hin gelegen ist, sind häufig vermehrt Lipoidtropfen angesammelt. Der ultrastrukturell erkennbare Grad der Veränderungen des Zell- und Gewebsbildes der Epithelkörperchen bei den einzelnen Tieren geht etwa parallel dem Grad der Hypocalcämie.

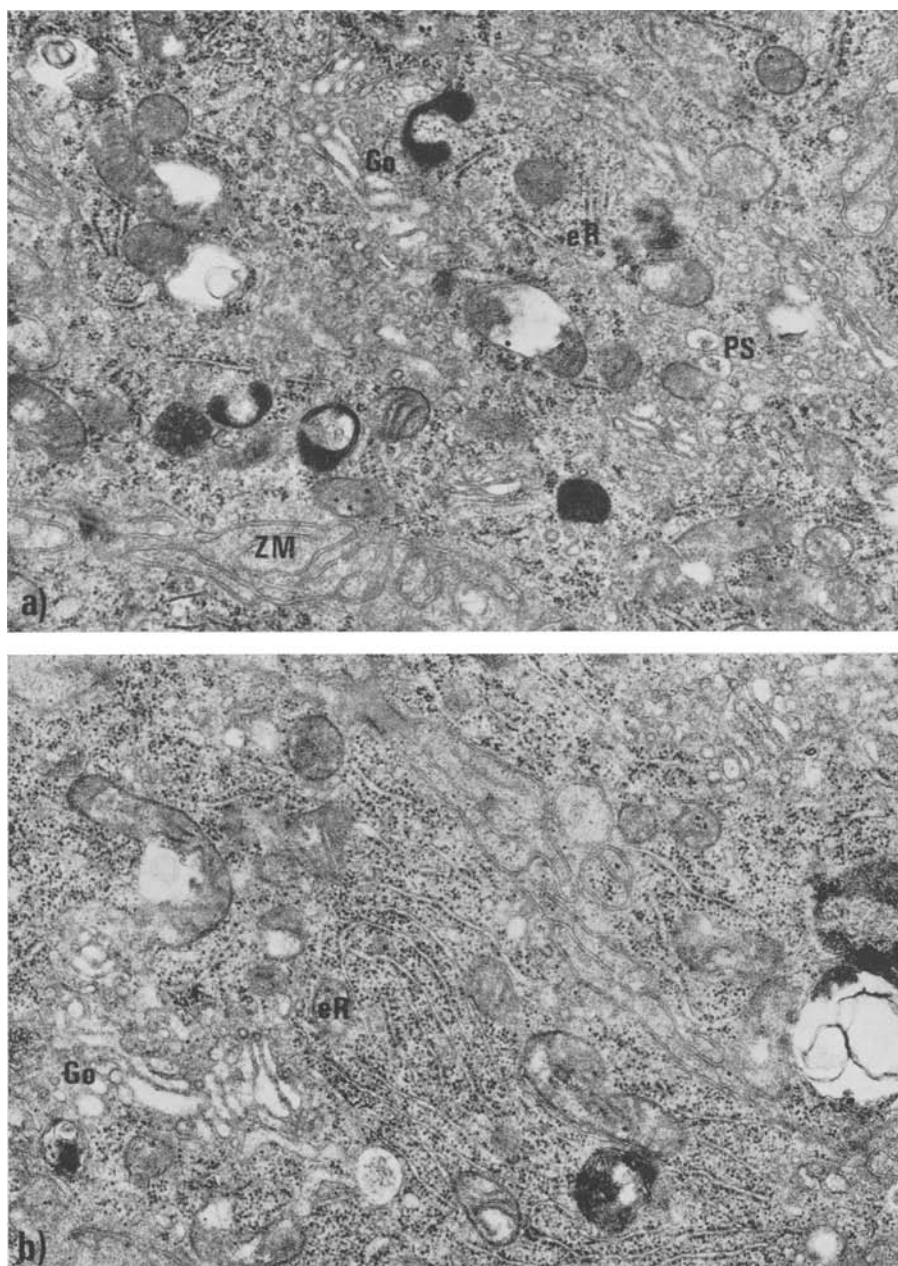


Abb. 7a u. b. Gruppe 4, calcium- und phosphorarme Diät: Cytoplasmaanschnitte dunkler stimulierter Hauptzellen. Ausgedehnter Golgi-Apparat (*Go*), zahlreiche Ribosomen. Endoplasmatisches Reticulum teils diffus verteilt (a), teils in Form paralleler Ergastoplasma-komplexe angeordnet (b). *PS* Prosekretgranula. Vergr. 23000fach

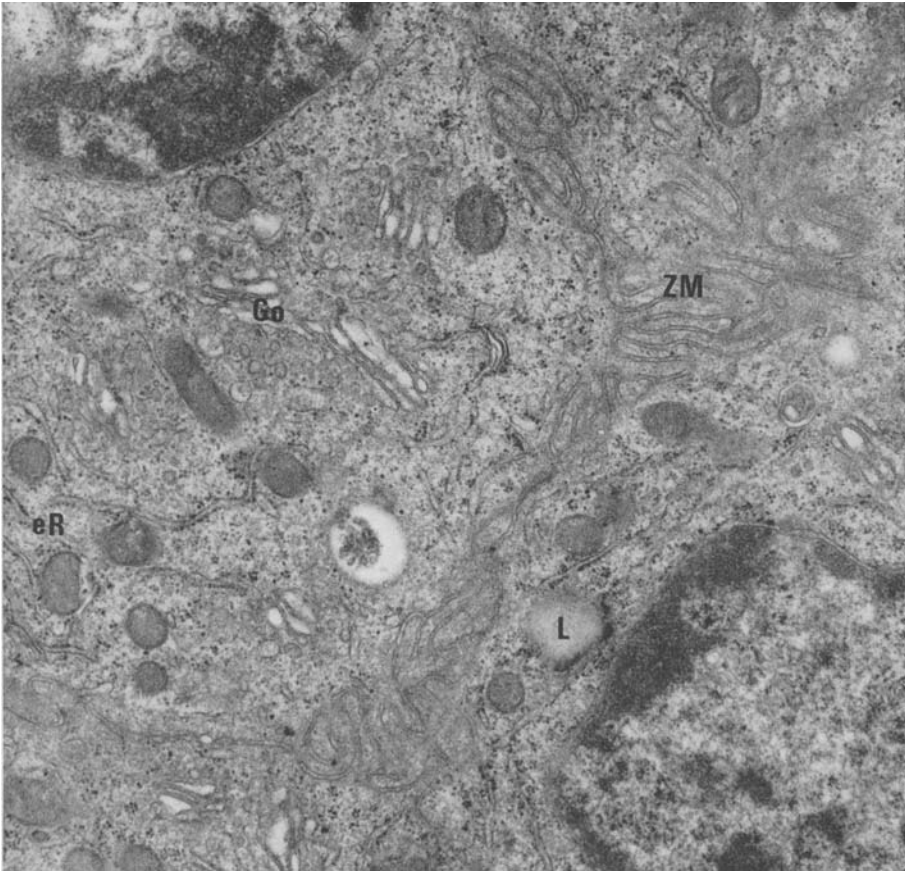


Abb. 8. Gruppe 6, Fe^{+++} -Glycerophosphat: Ausschnitte dunkler stimulierter Hauptzellen mit vermehrter Zellverzahnung, ausgedehntem Golgi-Apparat (*Go*) und gut entwickeltem endoplasmatischem Reticulum. *ZM* Zellmembranen, *L* Lipoidkörper. Vergr. 23000fach

Gruppe 5 (calciumarme Diät)

Nach 2wöchiger Fütterung einer lediglich calciumarmen Diät mit normalem Phosphorgehalt lagen die Serumcalciumwerte an der unteren Grenze der Norm. Die Epithelkörperchen dieser Tiere zeigten gleichartige strukturelle Veränderungen wie in Gruppe 4. Sie waren jedoch nicht ganz so stark ausgeprägt.

Gruppe 6 (Eisen^{III}-Glycerophosphat)

Nach 4wöchiger Gabe von Eisen^{III}-Glycerophosphat war der Serumcalciumspiegel der Tiere deutlich erniedrigt. Leber, Milz, Pankreas und Nieren — nicht jedoch die Epithelkörperchen — wiesen lichtmikroskopisch eine Siderose auf.

Ähnlich wie bei der durch Calciummangel-Ernährung bedingten Hypocalcämie wird auch in dieser Versuchsgruppe das Epithelkörperchenparenchym nahezu ausschließlich aus Hauptzellen mit dunklem dichten Cytoplasma gebildet (Abb. 8). Die Zellgrenzen sind vermehrt geschlängelt und die Zellen verzahnt.

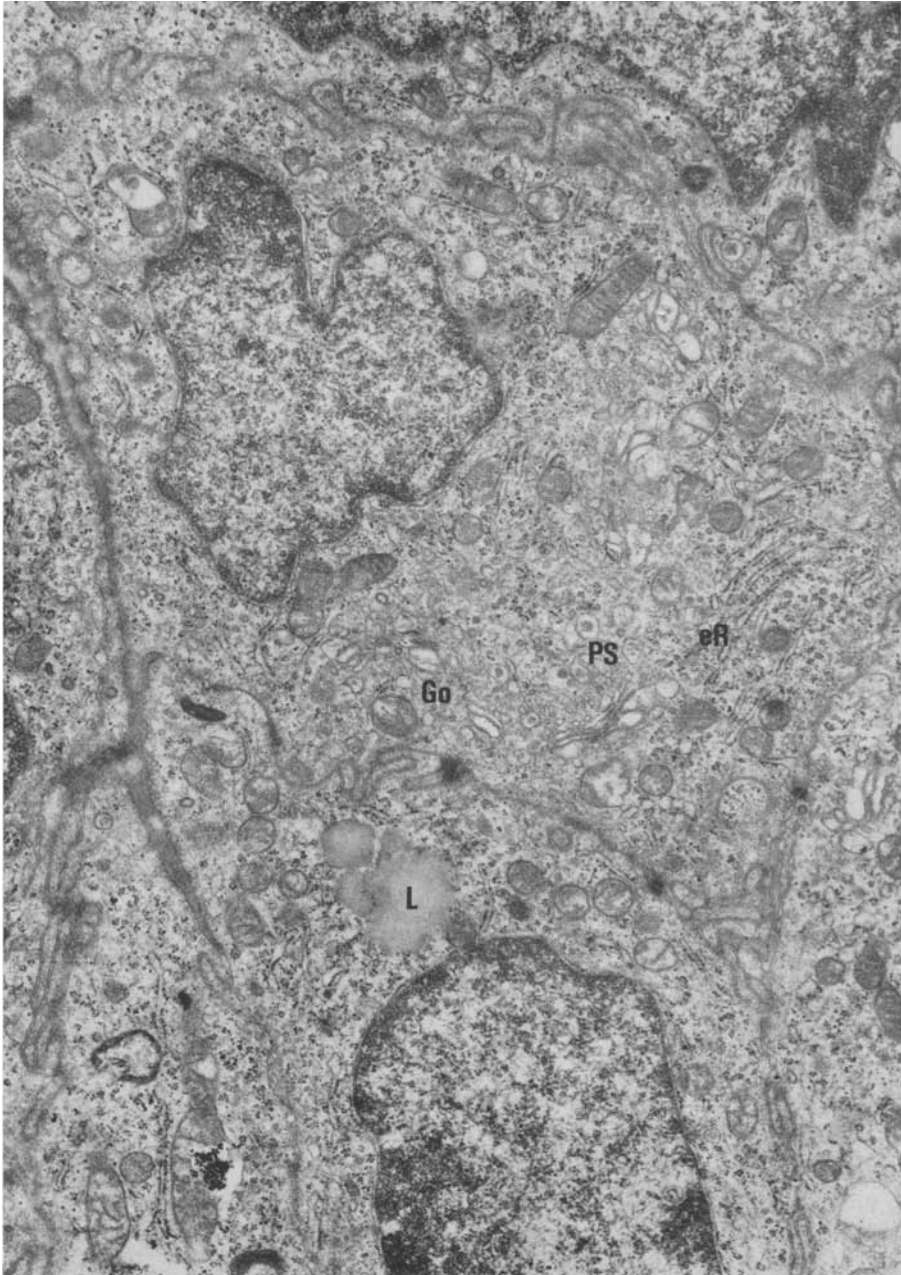


Abb. 9. Gruppe 7, Thyreocalcitonin: Mehrere stimulierte dunkle Hauptzellen mit organellenreichem Cytoplasma. *PS* Prosekretgranula, *Go* Golgi-Apparat, *ER* endoplasmatisches Reticulum; *L* Lipoidkörper. Vergr. 16000fach

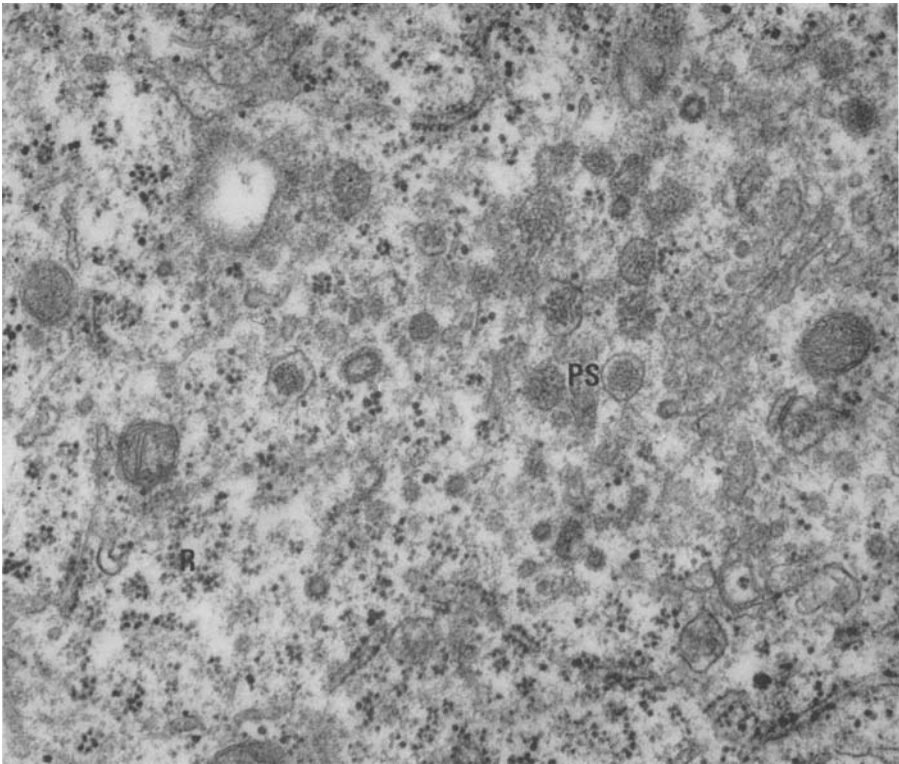


Abb. 10. Gruppe 7, Thyreocalcitonin: Cytoplasmaausschnitt aus einer stimulierten dunklen Hauptzelle mit zahlreichen gruppierten Ribosomen (*R*) und Prosekretgranula (*PS*). Vergr. 38 000fach

Ferner sind das granuläre endoplasmatische Reticulum und der Golgi-Apparat weiter ausgedehnt als bei Kontrolltieren. Mitochondrien sind zahlreich. Zwischen diesen Organellen ist das Cytoplasma von zahlreichen freien Ribosomen durchsetzt. Vereinzelt sieht man herdförmig auch dicht gepackte Aggregate feiner elektronendichter Granula, die ihrer Größe nach Ribosomen entsprechen. Wie bei Calciummangel-Kost sind am interstitiellen Pol der Zellen häufig vermehrt Lipidtropfen angesammelt.

Gruppe 7 (Thyreocalcitonin)

Die Gabe von Calcitonin führte zu einer deutlichen Hypocalcämie. Die Injektionen wurden alle 4 Std vorgenommen. 1 Std nach jeder Injektion war das Serumcalcium auf seinen Minimalwert abgesunken, während es 4 Std danach — also unmittelbar vor der nachfolgenden Injektion — wieder bis auf subnormale Werte angestiegen war. Die Tötung der Tiere erfolgte 1 Std nach der letzten vorausgegangenen Injektion.

Die Epithelkörperchen-Veränderungen sind gleichartig wie bei den zuvor beschriebenen hypocalcämischen Versuchsgruppen. Die dunklen Hauptzellen mit dunklem organellenreichem Cytoplasma und zahlreichen Ribosomen über-

wiegen (Abb. 9). Es sind zahlreiche Schläuche des rauhen endoplasmatischen Reticulum zu sehen, ferner vergrößerte Golgi-Felder und zahlreiche Prosekretgranula (Abb. 10). Die Zellmembranen sind gegenüber Kontrolltieren vermehrt geschlängelt, jedoch weniger als bei den Gruppen 4 und 6. Spezifische Veränderungen im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen mit Hypocalcämie konnten nicht nachgewiesen werden.

Diskussion

Bei Stimulierung der Epithelkörperchen *in vivo* und *in vitro* wurde ein vermehrter Einbau von Aminosäuren in Epithelkörperchengewebe festgestellt (Raisz und O'Brien, 1963; Hamilton und Cohn, 1969). Dabei wurden die Aminosäuren in größerem Maße in das Hormon als in die Strukturproteine des Gewebes eingebaut (Hamilton und Cohn, 1969). Die Beteiligung der freien Ribosomen, des granulierten endoplasmatischen Reticulum und des Golgi-Apparates bei der Bildung, Packung und gegebenenfalls Speicherung proteinhaltiger Zellsekrete ist gesichert (Farquhar und Wellings, 1957; Farquhar, 1961; Beams und Kessel, 1968). Die Zunahme dieser Organellen bei den hypocalcämischen Tieren der Gruppen 4—7 kann daher als Zeichen einer gesteigerten endokrinen Funktion gelten. Diese Kriterien entsprechen den Befunden von Lever (1958), Davis und Enders (1961), Roth und Raisz (1964, 1966), Stoeckel und Porte (1966) und Melson (1968). Die Beobachtung, daß dabei in aktivierten Drüsen teils Zellen mit ausgedehntem endoplasmatischem Reticulum und kleinem Golgi-Apparat, andererseits umgekehrt Zellen mit ausgedehntem Golgi-Apparat und nur gering ausgebreitetem endoplasmatischem Reticulum vorkommen, weist auf einen phasenhaften sekretorischen Cyclus hin, wie er von Roth und Raisz (1966) *in vitro* beschrieben wurde. Die Verlängerung der Zellmembranen bei Stimulierung der Epithelkörperchen führt zu einer verstärkten Zellverzahnung und entspricht offenbar dem vermehrten Einbau von Glucosaminen in Epithelkörperchengewebe bei calciumarmem Kulturmedium *in vitro* (Licata und Raisz, zit. nach Raisz, 1969). Die Bedeutung dieser Oberflächenvergrößerung der Zellen ist noch nicht hinreichend geklärt; möglicherweise dient sie einer Verbesserung des Stoffaustausches. Im Gegensatz zu den genannten Kriterien der Epithelkörperchen-Stimulierung deuten eine Verminderung von Ribosomen, rauhem endoplasmatischem Reticulum und Golgi-Apparat sowie ein weitgehend gerader, gestreckter Verlauf der Zellmembranen bei Hypercalcämie (Gruppen 2 und 3) auf eine eingeschränkte endokrine Zellfunktion hin.

Die beschriebenen Strukturänderungen der Epithelkörperchen bei den einzelnen Tieren der Versuchsgruppen gehen in ihrem Ausmaß dem Grad der Hypocalcämie (Stimulierung, Gruppen 4—7) bzw. der Hypercalcämie (Hemmung, Gruppen 2 und 3) parallel, so daß eine grobe quantitative Schätzung der Epithelkörperchen-Aktivität möglich ist. Da jedoch auch in normaktiven Epithelkörperchen von Kontrolltieren Zellen und Zellgruppen unterschiedlicher Aktivität vorkommen, ist es besonders bei weniger extremen Funktionszuständen erforderlich, sich an mehreren großflächigen Schnitten einen Eindruck über das morphologische Gesamtbild zu verschaffen. Der Befund, daß die Höhe des Serumcalciumspiegels in einem umgekehrten Verhältnis zur morphologisch erkennbaren Epithelkörperchenaktivität steht, entspricht der gleichfalls umgekehrt linearen Beziehung von

Serumcalciumspiegel und Parathormonkonzentration im Plasma (Potts u. Mitarb., 1968; Sherwood u. Mitarb., 1968; Aurbach und Poots, 1969).

Endokrine Drüsen, welche Proteohormone bilden, enthalten meist sekretorische Granula als Speicherform (Lacy u. Mitarb., 1957; Munger, 1958; Farquhar, 1961; Lietz, 1970). Bei den Epithelkörperchen werden jedoch von den verschiedenen Autoren und bei den einzelnen Species unterschiedliche Körper als sekretorische Granula bezeichnet, deren Durchmesser zwischen 200 und 750 m μ schwankt (Davis und Enders, 1961; Roth und Raisz, 1964; Capen u. Mitarb., 1965; Stoeckel und Porte, 1966a, b; Nakagami, 1967; Hara und Nagatsu, 1968). Bei den Epithelkörperchenzellen der Ratte ist die Situation dadurch gekennzeichnet, daß normalerweise bereits wenige Körper vorkommen, die als reife hormonspeichernde Sekretgranula in Betracht kommen. Da die in den Epithelkörperchenzellen der Ratte vorhandenen elektronendichten Körper außerdem recht vielgestaltig sind, ist ihre jeweilige Zuordnung zu Sekretgranula oder Lysosomen weiter erschwert. In dieser Arbeit werden als Prosekretgranula kleine Bläschen von 150—300 m μ Durchmesser bezeichnet, die vorwiegend in der Nähe des Golgi-Apparates liegen und offenbar dort gebildet werden. Sie besitzen einen feinkörnigen, relativ lockeren Inhalt. Als reife hormonspeichernde Sekretgranula werden etwa 600 m μ große Körper bezeichnet, ebenfalls mit einer Membran, jedoch mit einem stärker verdichteten feinkörnigen Inhalt. Der Abbau dieser Hormonspeichergranula erfolgt offenbar nach Aufnahme kleiner Vesikel aus dem Cytoplasma in Form einer Auflösung des granulären Inhalts. Hierbei liegt die Deutung nahe, daß die aufgenommenen Vesikel lytische Enzyme enthalten. Im weiteren Verlauf können sich hierdurch multivesiculäre Körper entwickeln, die dann zur Gruppe der Lysosomen zu rechnen sind. Ein solcher Abbau von Hormonspeichergranula wird vermehrt bei Hypercalcämien nach Parathormon und Dihydratysterin beobachtet. Versuche, ähnlich wie bei anderen endokrinen Organen (Smith und Farquhar, 1966) auch bei den Epithelkörperchen eine morphologische und funktionelle Beziehung zwischen Sekretgranula und Lysosomen nachzuweisen, wurden bereits von Hara und Nagatsu (1967) und von Rohr und Krässig (1968) unternommen. Die von den genannten Autoren aufgestellten Hypothesen weichen jedoch von der in dieser Arbeit gegebenen Deutung der Befunde etwas ab.

Die hier als Prosekretgranula bezeichneten kleinen Bläschen mit dunklem Inhalt sind insgesamt zahlreicher als die großen Speichergranula. Auch sind sie bei Hypocalcämien gleichzeitig mit der Vergrößerung der Golgi-Apparate vermehrt. Offenbar enthalten diese Prosekretgranula das für die Sekretion vorgesehene hormonale Produkt der Zelle. Eine Weiterentwicklung zu den großen Hormonspeichergranula scheint — zumindest in Rattenepithelkörperchen — eher die Ausnahme darzustellen.

Die untergeordnete Bedeutung der Hormonspeicherung für die Funktion der Epithelkörperchen steht auch in Übereinstimmung mit Berechnungen, wonach eine nennenswerte Hormonspeicherung in den Epithelkörperchen nicht stattfindet. Selbst bei Rindern, deren Epithelkörperchenzellen relativ viele Körper vom Typus sekretorischer Granula besitzen, beträgt der stündliche Hormonbedarf die 3—15fache Menge des gesamten Hormongehalts der Epithelkörperchen (Potts u. Mitarb., 1968; Sherwood u. Mitarb., 1968). Der Parathormon-Turnover in den Rinderepithelkörperchen dauert 3 min (Potts u. Mitarb., 1968), die biologi-

sche Halbwertszeit im Blut 10—25 min (Melick u. Mitarb., 1965; Potts u. Mitarb. 1968). Die Latenz zwischen Zugabe von ^{14}C -Leucin und Freisetzung ^{14}C -Leucinmarkierter Aminosäuren in stimulierten Rattenepithelkörperchen *in vitro* beträgt 90 min (Raisz, 1969). Insbesondere kann auch die über längere Zeit gesteigerte Hormonkonzentration im Blut bei Epithelkörperchenstimulierung nicht aus den geringen Hormonreserven geliefert werden. Der schnelle Hormonstoffwechsel deutet darauf hin, daß der wesentliche Faktor bei einer erhöhten oder erniedrigten Hormonsekretion die gesteigerte oder eingeschränkte aktuelle Hormonsynthese ist und nicht eine Ausschüttung gespeicherten Hormons. Der schnelle Turnover des Hormons macht außerdem einen intracellulären Abbau gespeicherten Hormons als wesentliches Prinzip der Hormonsekretion unwahrscheinlich. Vielmehr scheint eine enge Koppelung zwischen Hormonbedarf, cellullärer Hormonsynthese und cellullärer Hormonfreisetzung vorzuliegen. Diese Interpretation würde am besten den geringen Gehalt der Rattenepithelkörperchen an Hormonspeichergranula erklären.

Ein besonderes Augenmerk wurde bei den vorliegenden Untersuchungen auf den Vergleich verschiedener Formen der Epithelkörperchenhemmung (Parathormon, Dihydrotachysterin) und -stimulierung (Ca- und P-arme Diät, Ca-arme Diät, Glycerophosphat, Thyreocalcitonin) gerichtet. Dabei zeigte sich, daß die Strukturveränderungen bei den verschiedenen Versuchsmodellen qualitativ gleichartig und offenbar lediglich vom Serumcalciumspiegel (Hypercalcämie bzw. Hypocalcämie) abhängig waren.

Auch die Stimulierung der Epithelkörperchen nach Gabe von Glycerophosphat läßt sich auf die Erniedrigung des Serumcalciumspiegels zurückführen (Tabelle). Dies war bereits von Stoeckel und Porte (1966b) vermutet worden. Ebenso fanden Aurbach und Potts (1969) nach Phosphatgabe einen Anstieg des Parathormon-Spiegels im Plasma nur bei solchen Kühen, die unter dieser Behandlung eine Hypocalcämie entwickelten. Änderungen des Blutphosphorspiegels selbst haben keine direkte Wirkung auf die Hormonproduktion der Epithelkörperchen (Potts u. Mitarb., 1968; Sherwood u. Mitarb., 1968).

Bei 14tägiger Gabe von Thyreocalcitonin wurden keine andersartigen oder spezifischen Strukturveränderungen der Epithelkörperchen beobachtet, die von den stimulierten Epithelkörperchen der Gruppen 4—6 abwichen. Eine spezifische Beeinflussung der Epithelkörperchen durch Calcitonin konnte somit auch morphologisch nicht nachgewiesen werden. Vielmehr deuten die Befunde darauf hin, daß die Aktivitätssteigerung der Epithelkörperchen nach Calcitonin allein über den erniedrigten Serumcalciumspiegel erfolgt. Die gleichzeitig elektronenmikroskopisch untersuchten C-Zellen der Schilddrüse ließen umgekehrt keine gesetzmäßige Korrelation zum Funktionszustand der Epithelkörperchen erkennen (Altenähr und Lietz, 1970; Lietz, 1970). Lediglich der Granulagehalt der C-Zellen war in diesen Versuchen vom Serumcalciumspiegel abhängig, nicht jedoch die übrigen Kriterien der Zellaktivität. Insbesondere war auch eine direkte Stimulierung der C-Zellen durch Parathormon nicht nachweisbar. Sowohl die Befunde an den Epithelkörperchen nach Calcitonin-Gabe als auch an den C-Zellen nach Parathormon-Applikation lassen somit lediglich eine mittelbare gegenseitige Beeinflussung über den Serumcalciumspiegel erkennen, dagegen keine spezifische Wechselbeziehung.

Literatur

- Altenähr, E., Lietz, H.: Vergleichende experimentelle Untersuchungen zur Ultrastruktur von Epithelkörperchen und C-Zellen der Schilddrüse bei verschiedenen Funktionszuständen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **54**, 360—367 (1970).
- Aurbach, G. D., Potts, J. T., Jr.: Radioimmunoassay of parathyroid hormone. *Arch. intern. Med.* **124**, 413—416 (1969).
- Beams, H. W., Kessel, R. G.: The Golgi apparatus: structure and function. *Int. Rev. Cytol.* **23**, 209—276 (1968).
- Capen, C. C., Koestner, A., Cole, C. R.: The ultrastructure and histochemistry of normal parathyroid gland of pregnant and nonpregnant cows. *Lab. Invest.* **14**, 1673—1690 (1965).
- Clark, J.: Dietary regulation of parathyroid activity. In: Talmage, R. V., and Belanger, L. F. (eds.), *Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (Calcitonin)*, p. 428—436. *Excerpta Med. Found.* 1968.
- Davis, R., Enders, A. C.: Light and electron microscopic studies of the parathyroid gland. In: Greep, R. O., and Talmage, R. V., *The parathyroids*, p. 76—92. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1961.
- Eder, M.: Experimentelle und histochemische Untersuchungen über herdförmige Hyperplasien im Epithelkörperchen. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 324—336 (1961).
- Eger, W.: Der experimentelle Hyperparathyreoidismus. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **62**, 403—423 (1956).
- Farquhar, M. G.: Origin and fate of secretory granules in cells of the anterior pituitary gland. *Trans. N. Y. Acad. Sci.* **23**, 346—351 (1961).
- Wellings, S. R.: Electron microscopic evidence suggesting secretory granule formation within the Golgi apparatus. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 319—322 (1957).
- Fourman, P., Levell, M. J., Morgan, D. B.: Hormonal regulation and pathophysiology of calcium and phosphorus metabolism, S. 1—6. 14. *Symp. Dtsch. Ges. Endocrin* (1968).
- Gittes, R. F., Toverud, S. U., Cooper, C. W.: Effects of hypercalcemia and hypocalcemia on the thyrocalcitonin content of rat thyroid glands. *Endocrinology* **82**, 83—90 (1968).
- Hamilton, J. W., Cohn, D. V.: Studies on the biosynthesis in vitro of parathyroid hormone. *J. biol. Chem.* **244**, 5421—5429 (1969).
- Hara, J., Nagatsu, I.: Ultrastructural changes in the parathyroid glands by the injection of parathormone in rats. *Okajimas Folia anat. jap.* **44**, 99—133 (1968).
- Hirsch, P. F., Munson, P. L.: Thyrocalcitonin. *Physiol. Rev.* **49**, 548—622 (1969).
- Lacy, P. E.: Electron microscopy of the normal islets of Langerhans. *Studies in the dog, rabbit, guinea pig and rat.* *Diabetes* **6**, 498—507 (1957).
- Cardeza, A. F., Wilson, W. D.: Electron microscopy of the rat pancreas. *Diabetes* **8**, 36—44 (1959).
- Lever, J. D.: Cytological appearance in the normal and activated parathyroid of the rat. A combined study by electron and light microscopy with certain quantitative assessments. *J. Endocr.* **17**, 210—217 (1958).
- Licata, A., Raisz, L. G.: *Zit. nach Raisz* (1969).
- Lietz, H.: Zur Ultrastruktur der C-Zellen in der Rattenschilddrüse bei gestörtem Calciumstoffwechsel. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **350**, 136—149 (1970).
- Altenähr, E.: Experimentelle Befunde zur Funktion der C-Zellen bei gestörtem Calciumstoffwechsel. *Symp. Dtsch. Ges. Endocrin.* **16** (im Druck, 1970).
- Melick, R. A., Aurbach, G. D., Potts, J. T., Jr.: Distribution and half-life of ¹³¹I-labelled parathyroid hormone in the rat. *Endocrinology* **77**, 198—202 (1965).
- Melson, G. L.: Ferric-glycerophosphate induced hyperplasia of the rabbit parathyroid gland. An ultrastructural study. *Lab. Invest.* **15**, 818—835 (1966).
- Munger, B. L.: A light and electron microscopic study of cellular differentiation in the pancreatic islets of the mouse. *Amer. J. Anat.* **103**, 275—312 (1958).
- Nakagami, K.: Comparative electron microscopic study on the parathyroid glands. II. Fine structure of the parathyroid gland of the normal and the calcium chloride treated mouse. *Arch. histol. jap.* **28**, 185—205 (1967).

- Potts, J. T., Jr., Buckle, R. M., Sherwood, C. M., Ramberg, C. F., Jr., Mayer, C. P., Kronfeld, D. S., Deftos, L. J., Care, A. D., Aurbach, G. D.: Control of secretion of parathyroid hormone. In: Talmage, R. V., and Belanger, L. F. (eds.), Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (calcitonin), p. 407—416. Excerpta Med. Found. 1968.
- Raisz, L. G.: Parathyroid gland metabolism. Arch. intern. Med. **124**, 389—396 (1969).
- O'Brien, J. E.: Effect of calcium on uptake of alpha-aminoisobutyric acid by parathyroid glands. Amer. J. Physiol. **205**, 816—820 (1963).
- Rohr, H. P., Krässig, B.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Sekretionsmodus des Parathormons. Beitrag zu einer lysosomalen Mitbeteiligung bei Sekretionsvorgängen in endokrinen Drüsen. Z. Zellforsch. **85**, 271—290 (1968).
- Roth, S. I., Raisz, L. G.: Effect of calcium concentration on the ultrastructure of rat parathyroid in organ culture. Lab. Invest. **13**, 331—345 (1964).
- — The course and reversibility of calcium effect on the ultrastructure of the rat parathyroid gland in organ culture. Lab. Invest. **15**, 1187—1211 (1966).
- Sandritter, W., Federlin, K., Geratz, D.: Zur Morphologie und Funktion der Epithelkörperchenzelle. I. Quantitative und qualitative histochemische Untersuchungen an Epithelkörperchen der Ratte. Z. Path. **66**, 290—318 (1955).
- Sherwood, L. M., Mayer, G. P., Ramberg, C. F., Kronfeld, D. S., Aurbach, G. D., Potts, J. T., Jr.: Regulation of parathyroid secretion: Proportional control by calcium, lack of effect of phosphate. Endocrinology **83**, 1043—1051 (1969).
- Smith, R. E., Farquhar, M. G.: Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. J. Cell Biol. **31**, 319—347 (1966).
- Stoeckel, M. E., Porte, A.: Observations ultrastructurales sur la parathyroïde des souris. I. Etude chez la souris normale. Z. Zellforsch. **73**, 488—502 (1966a).
- — Observations ultrastructurales sur la parathyroïde des souris. II. Etude expérimentale. Z. Zellforsch. **73**, 503—520 (1966b).

Dr. Eberhard Altenähr
Pathologisches Institut der Universität
D-2000 Hamburg 20
Martinistr. 52