

Licht- und elektronenoptische Untersuchungen an der Zona glomerulosa der Ratten Nebenniere nach Carbenoxolon

W. Saeger und H. Mitschke

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

Eingegangen am 16. Juni 1972

Light and Electron Microscopic Observations of the Zona Glomerulosa in Rat Adrenals Following Carbenoxolone-Sodium Treatment

Summary. Carbenoxolone-sodium in a dose of 8 to 50 mg each day was administrated by a stomach tube to Wistar rats for 9 to 14 weeks. The zona glomerulosa of the adrenal glands showed a dose-dependent decrease in width and a more distinct delineation from the zona fasciculata. The ultrastructural findings were a reduction of smooth endoplasmic reticulum and mitochondria, a decrease in size of the Golgi complex and a flattening of the cell membranes. After withdrawl of Carbenoxolone we could observe the ultrastructural equivalent of increased hormone production with a tendency for the normal cell structure to be restored. The ultrastructural changes induced by Carbenoxolone are interpreted as an inhibition of aldosterone production. Our findings and the plasma renin and aldosterone activity support the hypothesis that Carbenoxolone directly affects the zona glomerulosa by its mineralocorticoid-like activity.

Zusammenfassung. Wistar-Ratten erhielten unterschiedlich hohe Dosen (8 bzw. 50 mg täglich) von Carbenoxolon (Bernsteinsäureester der Glycyrrhetinsäure) mit der Magenschlucksonde. Histologisch zeigten die Nebennieren eine dosisabhängige Verschmälerung der Zona glomerulosa mit deutlicher Abgrenzung gegen die Zona fasciculata. Elektronenoptisch fand sich eine deutliche Reduzierung des glatten endoplasmatischen Reticulum, eine Abnahme der Mitochondrien, eine Verkleinerung der Golgfelder und eine Abflachung der Zellmembranen. Nach Absetzen des Medikaments entstand das Bild einer Funktionssteigerung mit Annäherung an die normale Struktur der Zona glomerulosa. Die ultrastrukturellen Veränderungen unter dem Einfluß von Carbenoxolon werden als morphologisches Äquivalentbild einer Hemmung der Aldosteronsynthese angesehen, die Restitution nach Wegfall der Carbenoxolonmedikation als komensatorische Steigerung der Sekretionsleistung. Der Carbenoxoloneffekt spricht in Verbindung mit den Plasmarenin- und Aldosteronwerten für eine Beeinflussung der Zona glomerulosa über eine direkte mineralocorticoide Wirkung des Carbenoxolons.

Die seit langem bekannte therapeutische Wirkung von Succus liquiritiae mit dem wirksamen Bestandteil der Glycyrrhizinsäure gewann mit der Einführung des Carbenoxolon-Natrium¹ (Doll *et al.*, 1962), dem Bernsteinsäureester der Glycyrrhetinsäure, erneut an Bedeutung. Nach Verabfolgung von Lakritzensaft waren schon frühzeitig Nebenwirkungen mit Oedemeigung, gesteigerter Natrium- und Chloridretention sowie Kaliumverlusten festgestellt (Molhuysen *et al.*, 1950) und auf eine Desoxycorticosteron-artige Wirkung des Medikamentes zurückgeführt worden. Dieser Effekt wurde z.T. mit Erfolg bei der Behandlung des Morbus Addison eingesetzt (Groen *et al.*, 1951). Über gleichartige Nebenwirkungen

¹ Biogastrone® der Chemiewerke Homburg.

wurde auch nach Einführung des Carbenoxolon-Natrium berichtet (Sullivan, 1968; Parade und Bass, 1970; Werning *et al.*, 1972). Die Nebenwirkungen lassen sich durch Gabe eines Aldosteronantagonisten vermeiden, jedoch wird hierdurch auch der gewünschte Therapieeffekt in der Ulcusheilung abgeschwächt. Als morphologisches Substrat der Ulcus-heilenden Wirkung wurden eine gesteigerte Schleimproduktion (Goodier *et al.*, 1967) und eine ultrastrukturell faßbare Aktivitätssteigerung der Oberflächenepithelien (Johnson, 1968) des Magens beschrieben.

Nach tierexperimentellen Untersuchungen, besonders im Rahmen chronischer Toxicitätsstudien (Chemiewerk Homburg), wurden neben einem Anstieg der Nebennierengewichte bei männlichen Ratten dosis- und geschlechtsabhängige histologische Veränderungen der Zona glomerulosa bei Versuchstieren beschrieben. Ultrastrukturelle Untersuchungen zum Einfluß des Carbenoxolons auf die Nebennierenrinde liegen dagegen bisher nicht vor. Wir sind daher der Frage nachgegangen, ob dieses Medikament eine direkte Wirkung auf die Nebennierenrinde zeigt und ob der morphologische Befund einen Rückschluß auf eine gesteigerte oder gehemmte Hormonproduktion, besonders der Mineralocorticoide, erlaubt, da als Ursache der Nebenwirkungen auch eine Stimulierung der Aldosteronfreisetzung diskutiert wird (Hausmann und Tarnoky, 1968).

Material und Methodik

Von 40 Wistar-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 150 g erhielten 4 Männchen und 4 Weibchen je 8 mg Carbenoxolon — eine, bezogen auf das Körpergewicht, im therapeutischen Bereich liegende Dosis — täglich per Schlucksonde über 9 Wochen, ferner 4 Männchen und 4 Weibchen über 14 Wochen. Weiteren 8 Männchen und 8 Weibchen wurden 50 mg Carbenoxolon täglich über 12 Wochen gegeben. Anschließend blieben je 4 von diesen Ratten 4 Wochen lang ohne weitere Carbenoxolongaben. Um die evtl. Wirkung der Sondierung selbst zu erfassen, erhielten 2 Männchen und 2 Weibchen über 12 bzw. 16 Wochen täglich 1 ml physiologische Kochsalzlösung per Schlucksonde. Weitere 2 Männchen und 2 Weibchen dienten ohne Medikationen als Kontrolltiere.

Alle Tiere wurden in Gruppenkäfigen unter Normalbedingungen mit Altrominfutter und Wasser ad libitum bei wöchentlichen Gewichtskontrollen gehalten.

Nach Tötung im Ätherrausch durch Decapitation wurden die Nebennieren sofort entnommen und gewogen. Jeweils eine wurde für histologische Untersuchungen in neutralem, calcium-carbonatgepuffertem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Außerdem wurden Herz, Lungen, Leber, Nieren, Pankreas und Magen-Duodenum histologisch aufgearbeitet. Die andere Nebenniere wurde für die Elektronenmikroskopie in cacodylatgepuffertem 3%igem Glutaraldehyd 2 Stunden bei einem pH von 7,2—7,4 fixiert. Nachfixation mit s-Collidin-gepuffertem Osmiumtetroxyd und Einbettung in Epon 812. Es wurden toluidinblaugefärbte Semidünnabschnitte angefertigt, nach denen die Auswahl für die Ultradiënschnitte getroffen wurde.

Die Ultradiënschnitte wurden auf dem Ultramikrotom Reichert hergestellt, auf unbefilmte Netze aufgezogen und mit alkoholischem Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Mikroskopiert wurde mit dem Elmiskop I der Firma Siemens (80 kV) und mit dem Zeiss EM 9a.

Ergebnisse

Körper- und Nebennierengewichte

Gegenüber den Kontrollgruppen zeigten die Körpergewichte der behandelten Tiere keine statistisch signifikanten Unterschiede. Die Nebennierengewichte nahmen bei allen behandelten Tieren zu, desgleichen in der mit der physiologischen Kochsalzlösung sondierten Kontrollgruppe. Eine statistisch signifikante Gewichtszunahme der Nebennieren (Signifikanz $2\alpha = 0,05$) ließ sich lediglich bei den männ-

lichen Ratten feststellen, die 12 Wochen lang 50 mg Carbenoxolon erhalten hatten. Nach Absetzen des Medikamentes ließ sich in dieser Gruppe im Vergleich zur physiologischen altersgemäßen eine reduzierte Gewichtszunahme der Nebennieren mit Annäherung an Normalwerte beobachten. Unter der Sondierung von 50 mg Carbenoxolon waren die Nebennieren der männlichen Tiere schwerer als die der weiblichen, hingegen war das Verhältnis nach Absetzen des Medikamentes umgekehrt, wie es auch normalerweise beobachtet wird (Dhom *et al.*, 1971).

Histologie

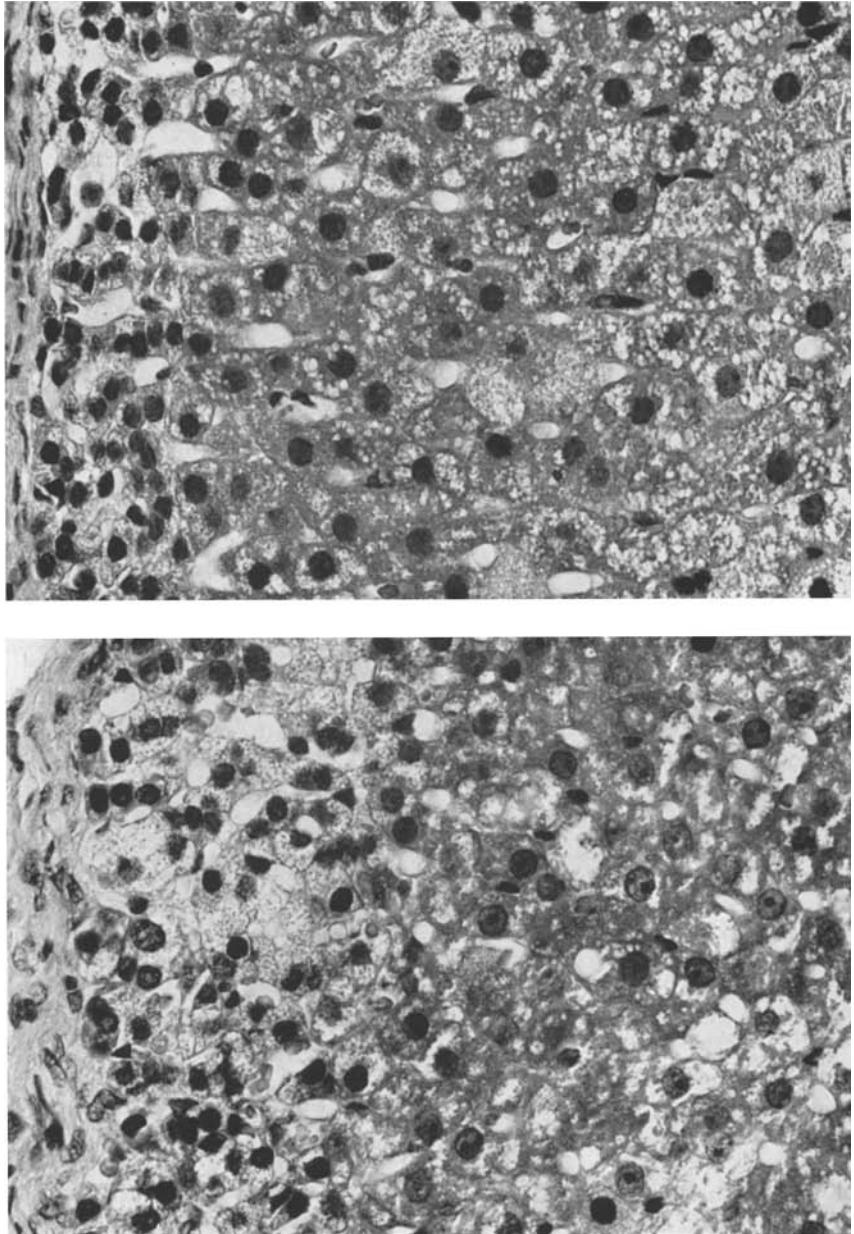
Histologisch zeigten die Normaltiere eine aus etwa 6 Zell-Lagen bestehende *Zona glomerulosa* (Abb. 1 a). Die Zellen sind relativ lipoidreich, die Zona insgesamt deutlich von der *Zona fasciculata* abgegrenzt. Bei den behandelten Tieren (Abb. 1 b und 2 a) erschienen die Zellen kleiner unter Verringerung des Lipidgehaltes sowie Verschiebung der Kern-Cytoplasma-Relation zugunsten der Zellkerne. In beiden Geschlechtsgruppen zeigte die *Zona glomerulosa* eine dosisabhängige Verschmälerung, die nach Sondierung von 50 mg Carbenoxolon bei den männlichen Ratten um mehr als die Hälfte, bei den weiblichen Tieren um etwas die Hälfte reduziert war. Nach 8 mg betrug die Breite der *Zona glomerulosa* etwa $\frac{2}{3}$ der unbehandelten Tiere. Ein geschlechtsabhängiges differentes Verhalten zeigte sich nach Absetzen der hohen Carbenoxolondosis. Während bei den weiblichen Tieren die *Zona glomerulosa* nach 4 Wochen unverändert schmal blieb, war bei den männlichen Tieren eine Verbreiterung auf etwa $\frac{2}{3}$ der Normalwerte zu beobachten (Abb. 2 b), wobei am Übergang zur *Zona fasciculata* kleinere dunklere Zellen der Intermediärschicht deutlich sichtbar wurden.

Die *Zona fasciculata* zeigt in Abhängigkeit von der Dosis und der Versuchsdauer eine Verbreiterung und Lipidschwund. Ferner bestanden geschlechtsdifferente Verteilungsmuster der Lipide in den *Fasciculatazellen*, wie sie von Dhom *et al.* (1971) bei der Rattennebenniere beschrieben wurden. Nach Absetzen des Medikamentes trat eine deutliche Lipidanreicherung in den *Fasciculatazellen* auf, die bei den männlichen Ratten stärker ausgeprägt war (Abb. 2 b).

Elektronenmikroskopie

Elektronenoptisch zeigten die *Glomerulosazellen* der Kontrolltiere (Abb. 3) an den Zelloberflächen einzelne Mikrovilli. Der Zellkern war rund bis oval, chromatinarm und enthielt einen deutlichen Nucleolus. Im Cytoplasma fanden sich zahlreiche Mitochondrien und ein deutlich ausgebildetes glattes endoplasmatisches Reticulum. Die Mitochondrien waren vorwiegend sphärisch konfiguriert mit den für die *Zona glomerulosa* charakteristischen Innenstrukturen. Die Cristae waren vorwiegend lamellär angeordnet und verliefen parallel durch das relativ dichte Mitochondrieninternum. Neben dem agranulären endoplasmatischen Reticulum fanden sich freie Ribosomen. Die Golgifelder waren nicht prominent. Lipidvacuolen waren in unterschiedlicher Anzahl nachweisbar. Einzelne Glomerulosazellen erschien auch weitgehend lipidfrei.

Nach 8wöchiger Verabfolgung von 8 mg Carbenoxolon zeigten sowohl die männlichen, als auch die weiblichen Ratten eine mäßige Reduzierung des glatten endoplasmatischen Reticulum, während die Mitochondrien dichter zusammengelagert



a

b

Abb. 1. a Unbehandelte weibliche Ratte; normale Breite der Zona glomerulosa neben oberen Fasciculataschichten. Hämatoxylin-Eosin. 770 x.
b Weibliche Ratte nach 12wöchiger Gabe von 50 mg Carbenoxolon: deutliche Verschränkung der Zona glomerulosa mit Verkleinerung der Glomerulosazellen. Hämatoxylin-Eosin. 770 x

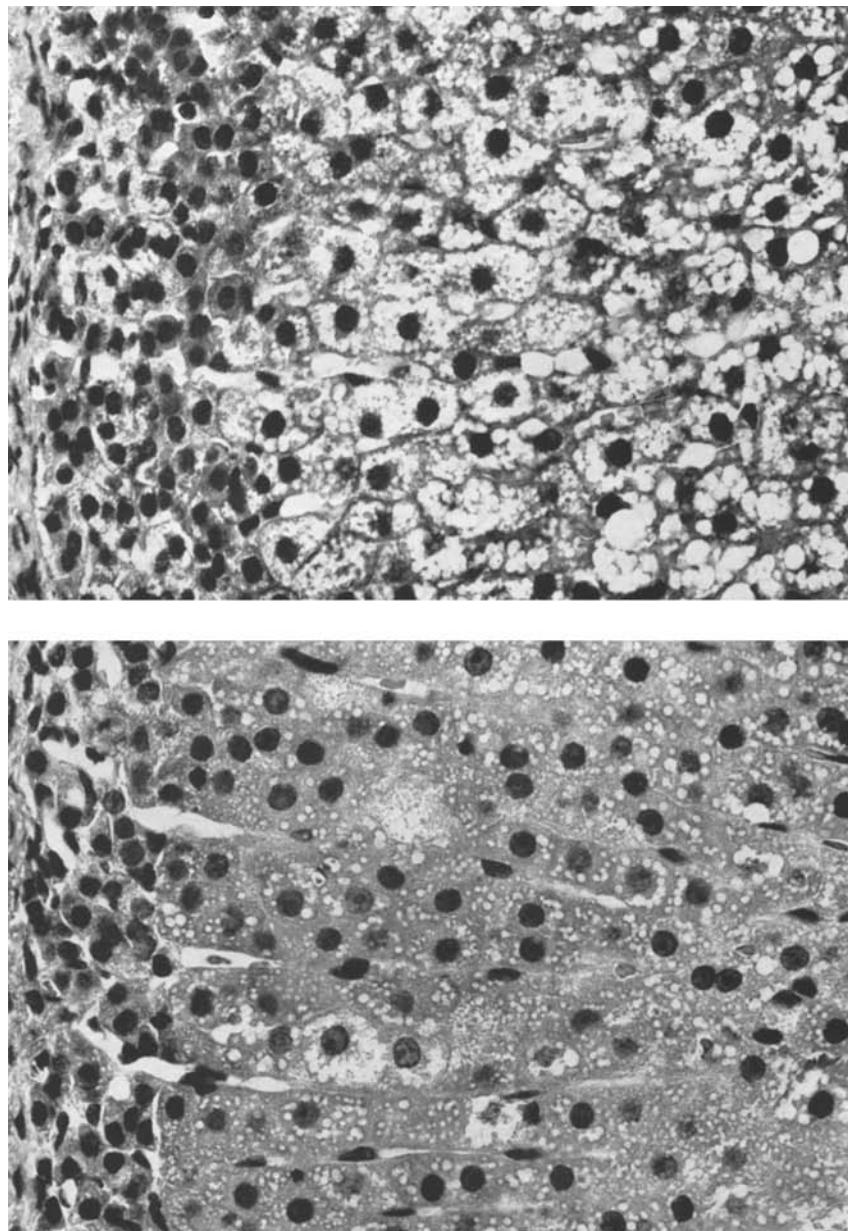


Abb. 2. a Männliche Ratte nach 12wöchiger Sondierung von 50 mg Carbenoxolon: Ausgeprägte Verschmälerung der Zona glomerulosa mit kleinen dunklen Glomerulosazellen. Lipidschwund der Zona fasciculata. Hämatoxylin-Eosin. $770\times$. b Männliche Ratte 4 Wochen nach Absetzen der Sondierung von 50 mg Carbenoxolon: zunehmende Verbreiterung und Zellvergrößerung der Zona glomerulosa. Auftreten einer dunkleren Intendärzellschicht am Übergang zur Zona fasciculata. Deutliche Lipidvermehrung der Fasciculataszellen. Hämatoxylin-Eosin. $770\times$

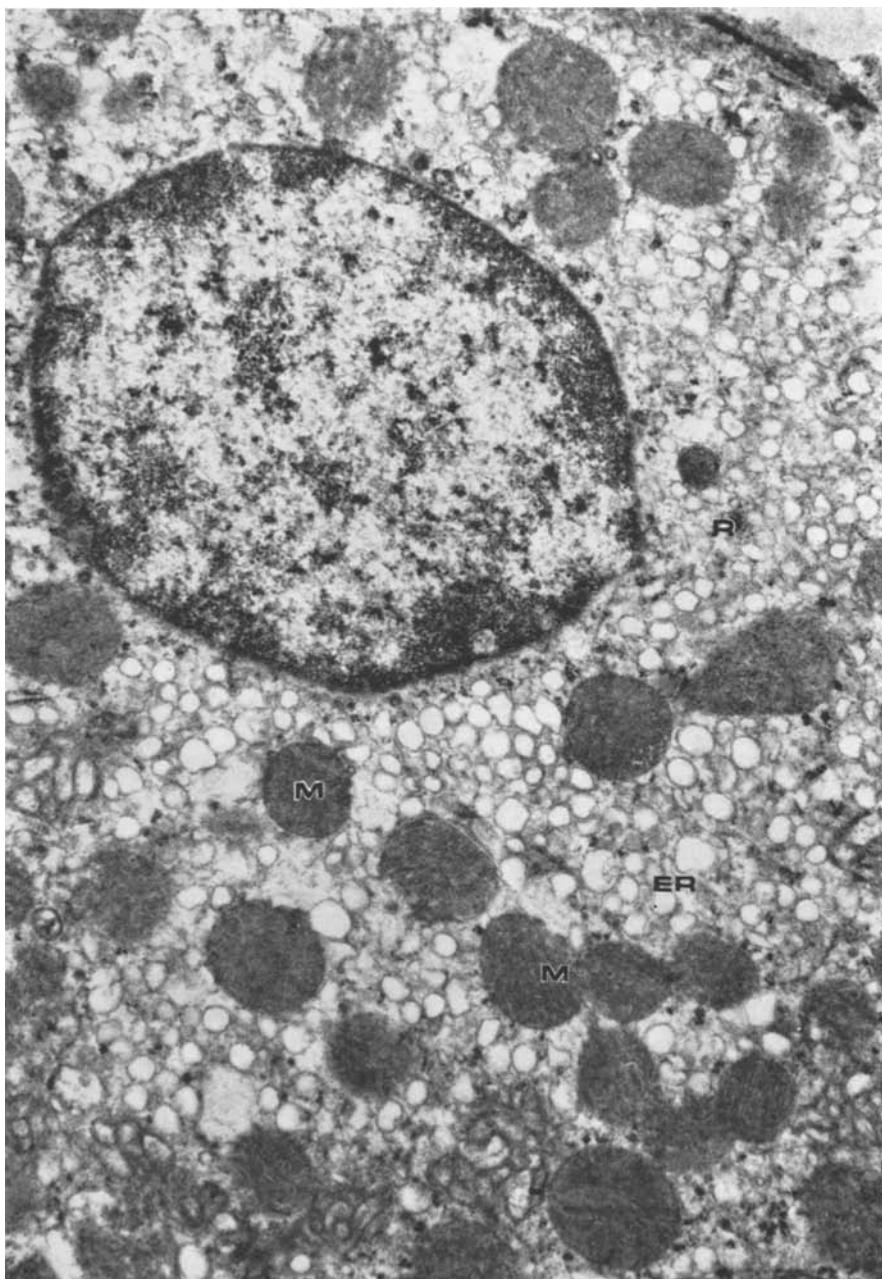


Abb. 3. Unbehandelte weibliche Ratte: Glomerulosazellen mit typischen Mitochondrien (*M*), gut entwickeltem glatten endoplasmatischen Reticulum (*ER*) und freien Ribosomen. $15430\times$

waren. Die mitochondrialen Cristae waren weniger zahlreich und teilweise nur stummelförmig ausgebildet. Vereinzelt trat ein Golgfeld hervor, in dessen Umgebung sog. „coated vesicles“ lagen. Die Kernmembran zeigte einzelne Poren, die Kerne waren chromatindichter, wobei die Nucleolen schlechter abgrenzbar waren.

Stärkere Veränderungen waren bei den männlichen Ratten nach 50 mg Carbenoxolon nachweisbar. Auffallend war eine deutliche Reduzierung des glatten endoplasmatischen Reticulum (Abb. 4). Die rundlich bis ovalen Mitochondrien sowie die Cristae erschienen unverändert, waren aber nicht so zahlreich wie bei den Kontrolltieren. Die Liposomen waren gering größer als die Mitochondrien, herdförmig dichter gelagert, mäßig elektronendicht und teilweise konfluierend. Golgfelder mit einzelnen cystisch erweiterten Golgizisternen und freien Ribosomen waren nachweisbar. Die Zellmembran verlief glattgestreckt unter Reduktion der Mikrovilli.

Nach Absetzen des Medikamentes (Abb. 5) konnte eine Reaktivierung der cytoplasmatischen Organellen beobachtet werden. Diese betraf besonders die Mitochondrien, die zahlreicher wurden und dichter gelagerte Cristae enthielten, vereinzelt auch homogene mitochondriale Einschlüsse. Ihre Form war deutlich variabel. Die Lamellen des endoplasmatischen Reticulum waren zahlreich und verliefen stellenweise in Spiralen und Wirbeln. Die Golgicisternen waren deutlich erweitert. Liposomen waren dagegen nur spärlich nachweisbar. Die Zellmembranen ließen wieder eine zunehmende Verzahnung erkennen. Die weiblichen Ratten zeigten nach 50 mg Carbenoxolon wie auch nach Absetzen des Medikamentes weitgehend gleichartige Befunde. Neben einer deutlichen Reduzierung des endoplasmatischen Retikulum wiesen die Mitochondrien durchlaufende meist parallel verlaufende Cristae sowie ein dichtes Internum auf. Im Vergleich zu den männlichen Ratten waren in beiden weiblichen Versuchsgruppen die Liposomen zahlreicher. Ein Kernmembranspalt war nicht nachweisbar. Die Zellmembran verliefen glatt.

An der *Zona fasciculata* (Abb. 6a und b) fanden sich in allen Versuchgruppen in Abhängigkeit von der Dosierung Veränderungen der Zellorganellen in Form einer deutlichen Zunahme des agranulären endoplasmatischen Reticulum, sowie Hervortreten der Golgfelder mit vacuolärer Erweiterung der Cisternen. Die Liposomen zeigten ein variables Verhalten mit unterschiedlicher Konfiguration und teils osmiophilem Inhalt. Gelegentlich enthielten sie auch zarte lamelläre Membranstrukturen. Vereinzelt fand sich eine Konfluenz der Liposomen. Die Mitochondrien waren dichter gelagert und relativ groß; sie zeigten elektronendichte tubuläre neben typischen vesiculären Innenstrukturen. Die Zellmembranen waren deutlich verzahnt unter Zunahme der Zelloberflächen. Die Kerne erschienen chromatinreicher.

Nach Absetzen des Medikamentes waren die beschriebenen Veränderungen der *Zona fasciculata* teils noch nachweisbar. Bei den männlichen Ratten bestand eine größere Tendenz zur Normalisierung der Ultrastruktur als bei den weiblichen Versuchstieren.

Diskussion

Nach den bisher vorliegenden experimentellen Befunden reagiert die *Zona glomerulosa* als eine eigenständige funktionelle Zone der Nebennierenrinde auf Änderungen des Natrium- und Kaliumstoffwechsels. Eingehende ultrastrukturelle

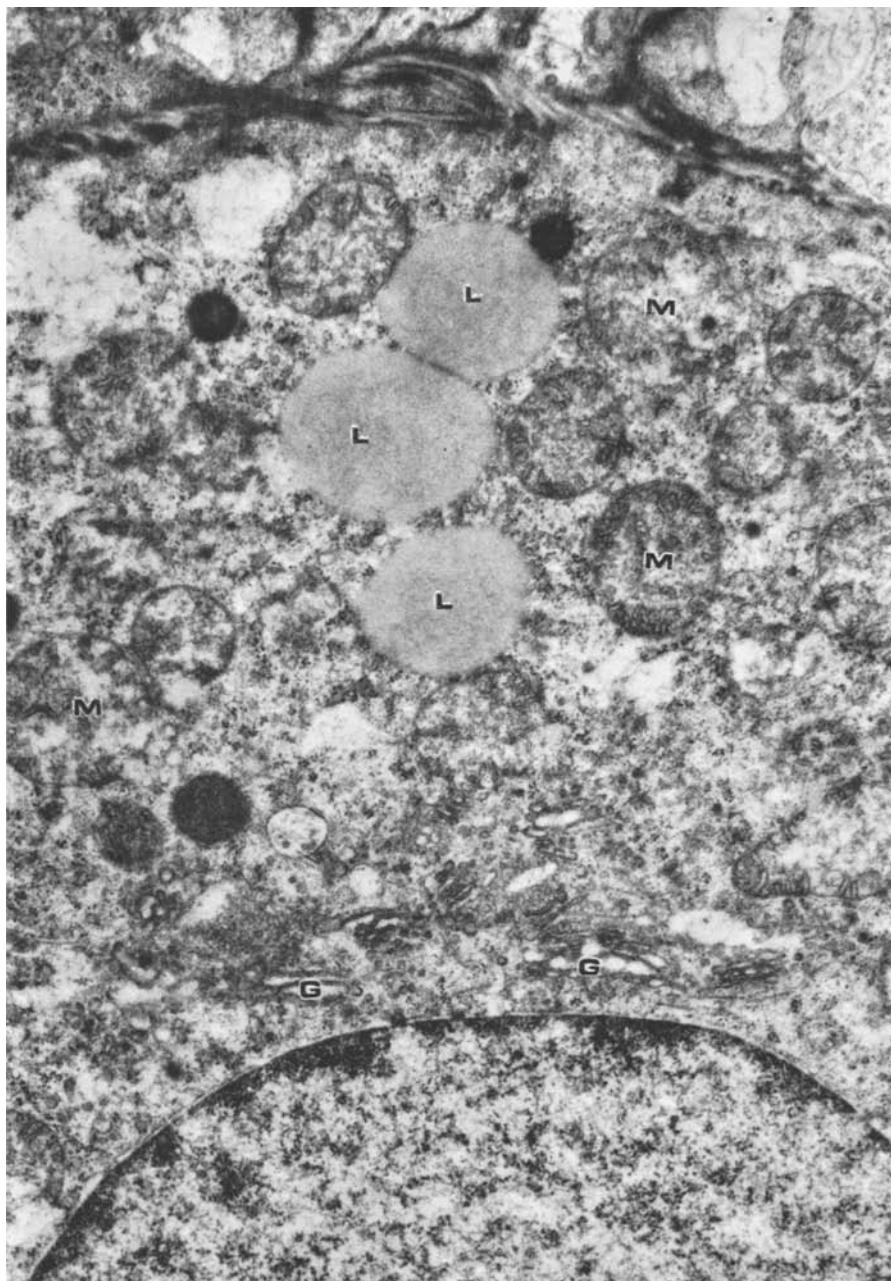


Abb. 4. Männliche Ratte nach 12 wöchiger Sondierung von 50 mg Carbenoxolon: Glomerulosa-zellen mit auffälliger Reduzierung des glatten endoplasmatischen Reticulum. Paranukleäres Golgifeld (G). Geringe Auflockerung des Mitochondrieninternum (M) und einzelne kleine Lipidvakuolen (L). $16480\times$

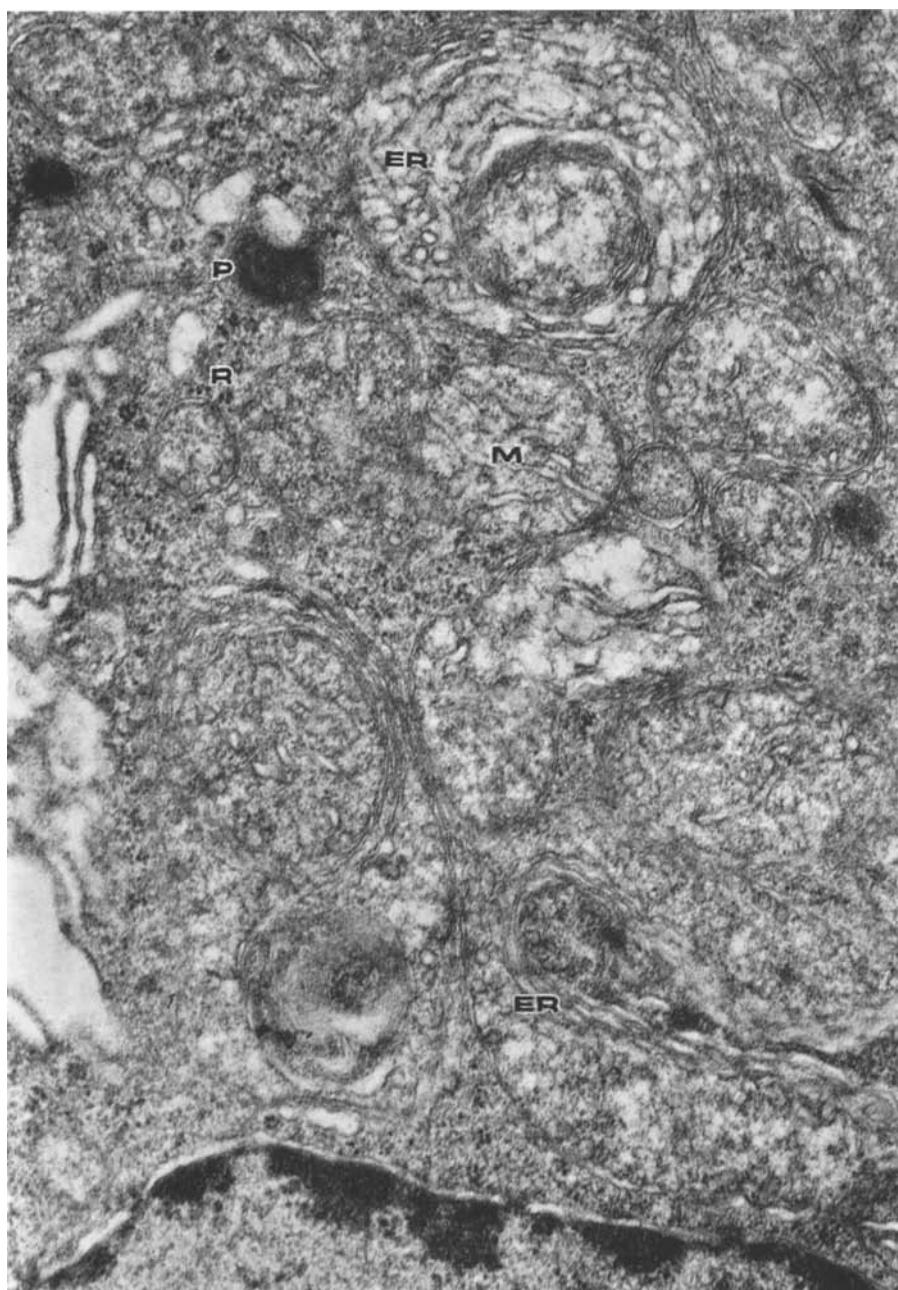


Abb. 5. Männliche Ratte 4 Wochen nach Absetzen der Sondierung von 50 mg Carbenoxolon; zahlreiche Mitochondrien (*M*), vereinzelt mit Einschlüssen. Wirbelartiger Verlauf des glatten endoplasmatischen Reticulum (*ER*). Zahlreiche freie Ribosomen und einzelne lysosomale Pigmentkörper (*P*). $33\,690\times$

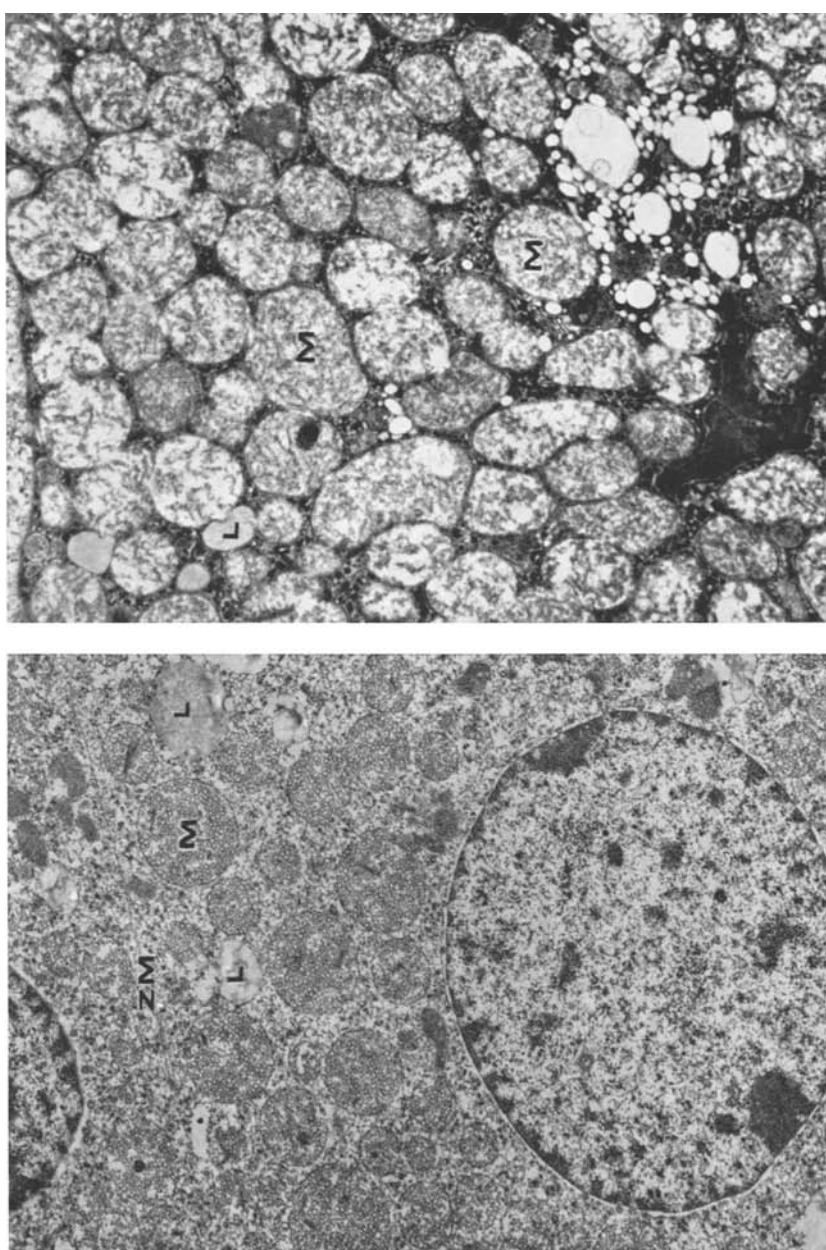


Abb. 6. a Weibliche Kontrollratte: Zona fasciculata. Regelmäßig geformte Mitochondrien (*M*). Lockeres glattes endoplasmatisches Reticulum mit freien Ribosomen; einzelne Liposomen (*L*). Gestreckter Verlauf der Zellmembran (*ZM*). b Weibliche Ratte nach 12 wöchiger Gabe von 50 mg Carbenoxolon: Zona fasciculata. Deutliche Zunahme, Anisomorphe und Auflockerung der Mitochondrien (*M*), reichlich glattes endoplasmatisches Reticulum, sehr kleine Liposomen (*L*). 9840 \times

Untersuchungen der Zona glomerulosa bei der Ratte (Giacomelli *et al.*, 1965; Fisher und Horvat, 1971 b; Shelton und Jones, 1971) und Opossum (Long und Jones, 1970) haben ein weitgehend einheitliches Bild der elektrolytbedingten Veränderungen ergeben.

Bei *Natriummangel* wurde die Zona glomerulosa unter Verlust des Lipidgehaltes breiter (Deane *et al.*, 1948). Ultrastrukturell fand sich abweichend vom Normalbefund (Long und Jones, 1967 a, 1967 b; Rhodin, 1971) eine Hypertrophie und Hyperplasie der Glomerulosazellen (Long und Jones, 1970) mit einer Verringerung der Liposomen, vorübergehender Zunahme des granulären endoplasmatischen Reticulum und des Golgi-Apparates sowie einer deutlichen Zunahme des glatten endoplasmatischen Reticulum, das teils wirbelartige Komplexe um die Mitochondrien bildete. Die Mitochondrien waren vergrößert und zeigten in ihrem Inneren dichte, parallel verlaufende Lamellen. Ferner war in ihnen homogen osmophiles Material abgelagert, das von einzelnen Autoren als Aldosteronvorstufe angesehen wurde (Giacomelli *et al.*, 1965). Elektronendichte intramitochondriale Ablagerungen, die den lichtmikroskopisch sichtbaren Azokarmingranula der Zona glomerulosa entsprechen könnten, wurden beim Schaf allerdings auch ohne Stimulation der Zona glomerulosa nachgewiesen (Luthman, 1971). Die Zona fasciculata zeigte bei Hyponatriämie keine Veränderungen (Long und Jones, 1970).

In noch stärkerem Ausmaß wurden gleichartige histologische und ultrastrukturelle Veränderungen bei einer Natriummangeldiät an schwangeren Ratten beobachtet (Pike *et al.*, 1966; Smicklas *et al.*, 1971). Die Verbreiterung der Zona glomerulosa wurde zu einer gesteigerter Aldosteronsekretion in Beziehung gesetzt. Die hypertrophe Zona glomerulosa war stets aus stärkergradig vacuolisierten Zellen aufgebaut und schlechter von der Zona fasciculata abgrenzbar. Der umgekehrte Effekt trat nach Natriumchloridgebäck ein. Diese Umkehr war jedoch stets vom Ausmaß des vorangegangenen Natriummangels abhängig. Ultrastrukturell wurden in der verbreiterten Zona glomerulosa eine Vermehrung der Lysosomen, cytoplasmatische Vacuolen und das Auftreten autophager Vacuolen beschrieben. Die Veränderungen wurden als maximale Stimulation mit Übergang in einen Erschöpfungszustand interpretiert (Smicklas *et al.*, 1971).

Eine allerdings nicht statistisch signifikante Verbreiterung der Zona glomerulosa beim Hund erzielten Race *et al.* (1957) durch Natriummangel und Dialyse.

Bei *Hypernatriämie* kam es zu einer Ruhigstellung der Zona glomerulosa, kenntlich an der Verschmälerung der Zone und ihrer Zellen (Deane *et al.*, 1948). Ultrastrukturell zeigte sich eine Zunahme und Vergrößerung der Liposomen, Zunahme der Lysosomen, Abnahme der Mikrovilli, Verkleinerung der Golgiefelder und Abnahme der wirbelartigen Komplexe des glatten endoplasmatischen Reticulum. Außerdem enthielten die Zellen Beta-Glykogen. Diese Veränderungen reichen bis hin zu einer Atrophie der Zona glomerulosa (Fisher und Horvat, 1971 b; Shelton und Jones, 1971).

Durch lichtmikroskopische Untersuchungen der Nebennierenrinde konnte der Zusammenhang zwischen dem Natriumspiegel im Serum der Breite der Zona glomerulosa bestätigt werden (Fisher und Klein, 1966). Die Auswirkungen des Natriumspiegels blieben auch nach Hypophysektomie erhalten (Deane *et al.*, 1948; Miller, 1965), was auch durch ultrastrukturelle Untersuchungen bestätigt werden konnte (Lever, 1956).

Ein *Kaliummangel* führte nur zu geringgradiger Verschmälerung der Zona glomerulosa, ohne das deutlichere ultrastrukturelle Veränderungen nachweisbar wurden (Fisher und Horvat, 1971 b).

Nach erhöhtem *Kaliumangebot* konnte eine vorübergehende isolierte Hyperplasie der Zona glomerulosa erzeugt werden, wobei die intracellulären Membranstrukturen deutlicher hervortraten. Ferner wurde eine lipidähnliche Ablagerung in den Mitochondrien bei Vermehrung derselben beschrieben (Lever, 1956; Idelman, 1970).

Eine *Magnesiummangeldiät* erzeugte bei Ratten eine den Veränderungen bei Natriummangel vergleichbare Verbreiterung der Zona glomerulosa, die nach Magnesiumzugaben reversibel war (Cantin, 1970).

Eine exogene *Aldosteronzufluhr* bewirkte eine Verschmälerung der Zona glomerulosa (Fisher und Tamura, 1965). Als ultrastrukturelles Korrelat fand sich eine Abnahme des glatten endoplasmatischen Reticulum als Ausdruck einer Aldosteronsynthesehemmung. Die Mitochondrien waren groß und mit elektronendichtem Internum sowie langen parallelen Cristae ausgestattet (Fisher und Horvat, 1971 b).

Ein interessantes Modell eines *Aldosteronantagonismus* sowohl in der Humanpathologie (Jenis und Hertzog, 1969; Davis und Medline, 1970; Sommers und Terzakis, 1970) wie auch im Tierexperiment (Fisher und Horvat, 1971 a) bietet die Anwendung des am Receptor angreifenden Antagonisten Aldactone (Sharp und Leaf, 1966). Hiernach treten ausschließlich in der Zona glomerulosa laminäre intracytoplasmatische Einschlüsse aus Phospholipid-Protein-Komplexen auf, die ultrastrukturell aus Spiralen des endoplasmatischen Reticulum um einen Lipidkern bestehen. Diese Veränderungen wurden als kompensatorische Hypertrophie des endoplasmatischen Reticulum unter dem trophischen Einfluß des Angiotensin II angesehen. Die Cholesterinsynthese, die direkt vom Angiotensin II stimuliert wird, spielt sich im glatten endoplasmatischen Reticulum der steroidhormonproduzierenden Zellen ab.

Gleichartige Veränderungen wurden jedoch nicht nach dem ebenfalls peripher angreifenden Aldosteronantagonisten Progesteron oder nach direkten Antagonisten wie Aminogluthämid, Heparin oder Glucocorticoiden nachgewiesen (Jenis und Herzog, 1969). Nach Progesteron wurden an der Zona glomerulosa relativ diskrete Veränderungen in Form einer geringen Zunahme des endoplasmatischen Reticulum und einer großen Variabilität der Mitochondrienstrukturen unter Einschluß osmiophiler Ablagerungen im Internum beschrieben (Volk, 1971).

Experimentell wurde nach Kochsalzmangel eine gesteigerte Aldosteronproduktion und in Verbindung damit eine Hypertrophie der Zona glomerulosa nachgewiesen (Eisenstein und Hartroft, 1957; Hartroft und Eisenstein, 1957). Da wir bei unseren Versuchen eine dosisabhängige Verschmälerung der Zona glomerulosa beobachtet haben, ist zu diskutieren, ob hierbei das morphologische Äquivalentbild einer Inaktivierung der Aldosteronsynthese vorliegt. Für die Deutung als Inaktivierung sprechen folgende Befunde: Reduktion des glatten endoplasmatischen Reticulum, Verkleinerung der Golgfelder und Abnahme der Zelloberflächen. Die bei Aldosteronsynthesehemmung an den Cristae mitochondriales beschriebenen Strukturen (Fisher und Horvat, 1971 b) konnten wir allerdings nicht so ausgeprägt beobachten. Insgesamt waren die Veränderungen ebenso reversibel

wie die bei anderer Beeinflussung des Elektrolythaushaltes (Magnesiummangel, Natriummangel) erzeugte Hypertrophie und Hyperplasie der Zona glomerulosa (Cantin, 1970; Smicklas *et al.*, 1971).

Die Verbreiterung der Zona fasciculata, die in den Versuchsgruppen die Gewichtszunahme der Nebennieren bedingte, sowie die ultrastrukturellen Veränderungen der Fasciculatazellen entsprechen weitgehend den Befunden einer Stimulierung durch Stresswirkung oder ACTH-Gaben (Schwartz *et al.*, 1962; Idelman, 1970). Eine deutliche und signifikante Erhöhung der 17-Hydroxycorticoide im Plasma konnte unter einer Carbenoxolontherapie beim Menschen allerdings nicht nachgewiesen werden (Schweikert *et al.*, 1971). Inwieweit sich die Vermehrung der 11-Hydroxycorticoide im Plasma beim Menschen nach Carbenoxolon (Matingly *et al.*, 1970) zu unseren Versuchsergebnissen korrelieren lässt, bleibt vorerst offen.

Unsere morphologischen Befunde an der Zona glomerulosa, die allerdings mit einer oberhalb des therapeutischen Bereichs liegenden Carbenoxolondosis erhoben wurden, stimmen mit den Ergebnissen der Hormonwerte nach Carbenoxolontherapie beim Menschen überein (Werning *et al.*, 1971), wobei ein signifikanter Abfall des Plasmarenin und Aldosteron beobachtet wurde. Bei einem Teil der Patienten traten ferner Nebenwirkungen im Sinne eines Pseudo-Conn-Syndroms auf (Conn *et al.*, 1968). Als Ursachen dieser Nebenwirkungen werden neben einer Stimulierung der Aldosteronsekretion und einer kompetitiven Hemmung der Aldosteroneiweißbindung eine direkte Aldosteronwirkung des Carbenoxolon erörtert (Hausmann und Tarnoky, 1968). Die Hormonwerte (Werning *et al.*, 1971) und unsere morphologischen Befunde an der Rattennebenniere sprechen am ehesten für eine direkte mineralocorticoide Wirkung dieses Medikamentes und stellen somit in Parallel zu den experimentellen Veränderungen der Zona glomerulosa nach Aldosteron (Fisher und Horvat, 1971 b) ein Modell einer dosis-abhängigen und reversiblen Aldosteronhemmung dar.

Literatur

- Cantin, M.: Relationship of the juxtaglomerular apparatus and adrenal cortex to biochemical and extracellular fluid volume changes in magnesium deficiency. *Lab. Invest.* **22**, 558—568 (1970).
- Chemiewerk Homburg: Biogastrone Dossier. Untersuchungen mit Carbenoxolone sodium. Biogastrone. Duogastrone. Frankfurt: Chemiewerk Homburg 1965.
- Conn, J. W., Rovner, D. R., Cohen, E. L.: Licorice-induced pseudoaldosteronism. Hypertension, hypokalemia, aldosteronopenia, and suppressed plasma renin activity. *J. Amer. med. Ass.* **205**, 492—496 (1968).
- Davis, D. A., Medline, N. M.: Spironolactone (Aldactone) bodies: concentric lamellar formations of the adrenal corties of patients treated with spironolactone. *Amer. J. clin. Path.* **54**, 22—32 (1970).
- Deane, H. W., Shaw, J. H., Greep, R. O.: The effect of altered sodium or potassium intake on the width and cytochemistry of the zona glomerulosa of rats adrenal cortex. *Endocrinology* **43**, 133—153 (1948).
- Dhom, G., Seebach, H. B. von, Stephan, G.: Der Geschlechtsdimorphismus der Nebennierenrinde der Ratte. Lichtmikroskopische und histometrische Untersuchungen. *Z. Zellforsch.* **116**, 119—135 (1971).
- Doll, R., Hill, I. D., Hutton, C., Underwood, D. T.: Clinical trial of triterpenoid liquorice compound in gastric and duodenal ulcer. *Lancet* 1962 **II**, 793—796.

- Eisenstein, A. B., Hartroft, P. M.: Alterations in the rat adrenal cortex induced by sodium deficiency: steroid hormone secretion. *Endocrinology* **60**, 634—640 (1957).
- Fischer, E. R., Horvat, B.: Experimental production of socalled spironolactone bodies. *Arch. Path.* **91**, 471—478 (1971a).
- Fischer, E. R., Horvat, B.: Ultrastructural features of aldosterone production. *Arch. Path.* **92**, 172—179 (1971b).
- Fischer, E. R., Klein, H. Z.: Effect of sodium state on reactivity of renal juxtaglomerular cells and adrenal zona glomerulosa. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **121**, 142—146 (1966).
- Fischer, E. R., Tamura, M.: Effect of aldosterone on juxtaglomerular index and zona glomerulosa of normotensive and hypertensive rats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **118**, 402—409 (1965).
- Giacomelli, F., Wiener, J., Spiro, D.: Cytological alterations related to stimulation of the zona glomerulosa of the adrenal glands. *J. Cell Biol.* **26**, 499—521 (1965).
- Goodier, T. E. W., Horwitz, L., Galloway, R. W.: Morphological observations on gastric ulcers treated with carbenoxolone sodium. *Gut* **8**, 544—547 (1967).
- Groen, J., Pelser, M. D., Willebrand, A. F., Kauminga, C. E.: Extract of liquorice for the treatment of Addison's disease. *New Engl. J. Med.* **244**, 471—475 (1951).
- Hartroft, P. M., Eisenstein, A. B.: Alterations in the adrenal cortex of the rat induced by sodium deficiency: correlation of histologic changes with steroid hormone secretion. *Endocrinology* **60**, 641—651 (1957).
- Hausmann, W., Tarnoky, A. L.: Clinical biochemical effects of carbenoxolone. In: *A symposium on carbenoxolone sodium*, ed. by J. M. Robson and F. M. Sullivan, p. 159—183. London: Butterworths 1968.
- Idelman, S.: Ultrastructure of mammalian adrenal cortex. *Int. Rev. Cytol.* **27**, 181—281 (1970).
- Jenis, E. M., Hertzog, R. W.: Effect of spironolactone on the zona glomerulosa of the adrenal gland. *Arch. Path.* **88**, 530—539 (1969).
- Johnson, F. R.: The cytological approach of the evaluation of drug action on gastric mucosa. In: *A symposium on carbenoxolone sodium*, ed. by J. M. Robson and F. M. Sullivan, p. 93—109. London: Butterworths 1968.
- Lever, J. D.: Cytological studies on the hypophysectomized rat adrenal cortex: the alterations of its fine structure following ACTH administration and on lowering the Na/K ratio. *Endocrinology* **58**, 163—180 (1956).
- Long, J. A., Jones, A. L.: The fine structure of the zona glomerulosa and the zona fasciculata of the opossum. *Amer. J. Anat.* **120**, 463—488 (1967a).
- Long, J. A., Jones, A. L.: Observations on the fine structure of the adrenal cortex of man. *Lab. Invest.* **17**, 355—370 (1967b).
- Long, J. A., Jones, A. L.: Alterations in the fine structure of the opossum adrenal cortex following sodium deprivation. *Anat. Rec.* **166**, 1—26 (1970).
- Luthman, M.: Intramitochondrial bodies in sheep adrenal zona glomerulosa cells. *Z. Zellforsch.* **121**, 244—248 (1971).
- Mattingly, D., Tyler, Ch., Bilton, E.: Plasma 11-Hydroxycorticoid levels after carbenoxolone sodium. *Brit. med. J.* **1970 III**, 498—500.
- Miller, R. A.: Effect of hypophysectomy and a low sodium diet on the volumes of the glomerular zone, fascicular and reticular zones and medulla of rats. *Acta endocr. (Kbh.)* **50**, 486—492 (1965).
- Molhuysen, J. A., Gerbrandy, J., Vries, L. A. de, Jong, J. C. de, Lenstra, J. B., Turner, K. P., Borst, J. G. G.: A liquorice extract with desoxycortone-like action. *Lancet* **1950 II**, 381—386.
- Parade, D., Baas, E. U.: Schwere Hypokaliämie nach Carbenoxolon. *Therapiewoche* **20**, 3384—3386 (1970).
- Pike, R. L., Miles, J. E., Wardlaw, J. M.: Juxtaglomerular degranulation and zona glomerulosa exhaustion in pregnant rats induced by low sodium intakes and reversed by sodium load. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **95**, 604—614 (1966).
- Race, G. J., Nickey, W. M., Wolf, P. S., Jordan, E. J.: Studies of the functional zonation of the adrenal cortex. *Arch. Path.* **64**, 312—323 (1957).

- Rhodin, J. A. G.: The ultrastructure of the adrenal cortex of the rat under normal and experimental conditions. *J. Ultrastruct. Res.* **34**, 23—71 (1971).
- Schwartz, W., Merker, H. J., Suchowsky, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Wirkungen von ACTH und Streß auf die Nebennierenrinde der Ratte. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 165—179 (1962).
- Schweikert, H. U., Miederer, S. E., Werning, C., Vetter, W., Stadelmann, O., Siegenthaler, W.: Vergleich der Cortisolwerte im Plasma (17-OHCS) mit der basalen und stimulierten Magensaftsekretion bei Patieenten mit Ulcus ventriculi oder Ulcus duodeni. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **77**, 492—495 (1971).
- Sharp, G. W. G., Leaf, A.: Mechanism of action of aldosterone. *Physiol. Rev.* **46**, 593—633 (1966).
- Shelton, J. H., Jones, A. L.: The fine structure of the mouse adrenal cortex and the ultrastructural changes in the zona glomerulosa with low and high sodium diets. *Anat. Rec.* **170**, 147—182 (1971).
- Smicklas, H. A., Pike, R. L., Schraer, H.: Ultrastructure of adrenal glands in sodium-deficient pregnant rats. *J. Nutr.* **101**, 1045—1056 (1971).
- Sommers, Sh. C., Terzakis, J. A.: Ultrastructural studies of aldosterone-secreting cells of the adrenal cortex. *Amer. J. clin. Path.* **54**, 303—310 (1970).
- Sullivan, F. M.: Review on past work on carbenoxolone sodium. In: *Carbenoxolone sodium*, ed. by J. H. Baron and F. M. Sullivan, p. 1—9. London: Butterworths 1968.
- Volk, T. L.: Alterations of the adrenal cortex of rats treated with progesterone. *Virchows Arch. Abt. B* **9**, 206—217 (1971).
- Werning, C., Bayer, J. M., Fischer, N., Schweikert, H. U., Siegenthaler, W.: Die Wirkung von Carbenoxolon-Natrium auf den Blutdruck, die Plasma-Renin-Aktivität und die Serum-elektrolyte bei adrenalektomierten Patienten. *Dtsch. med. Wschr.* **97**, 91—92 (1972).
- Werning, C., Stadelmann, O., Miederer, S. E., Vetter, W., Schweikert, H. U., Stiel, D., Siegenthaler, W.: Der Einfluß einer Carbenoxolon-Therapie auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. *Klin. Wschr.* **49**, 1285—1289 (1971).

Dr. med. Wolfgang Saeger
Dr. med. Hartmut Mitschke
Pathologisches Institut der
Universität Hamburg
D-2000 Hamburg 20
Martinistraße 52
Bundesrepublik Deutschland