

## Zur Ultrastruktur der ACTH-Zellen in der Rattenhypophyse nach Gabe von Adrenostatika und Methylprednisolon\*

W. Saeger und J. Caselitz

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

Eingegangen am 2. Mai 1974

### Ultrastructure of the Corticotrophic Cells of the Pituitary Gland in Rat Following Administration of Steroidogenesis-Inhibitors and Methylprednisolone

*Summary.* The corticotrophic cells of the anterior pituitary glands of male rats were investigated by light and electron microscope after administration of Carbenoxolone-sodium, which acts like mineralocorticoids, after treatment with the steroidogenesis-inhibitors Metyrapone and Amino-glutethimide and after injections of Methylprednisolone. Carbenoxolone was administered by stomach tube for 12 weeks, the others were injected intraperitoneally for 3 weeks. After withdrawal of Carbenoxolone, no structural or numerical changes of the corticotrophs could be observed. Metyrapone and Amino-glutethimide caused identical alterations. The corticotrophs were much more numerous and showed a more distinctive stellate form. The rough endoplasmic reticulum increased and contained more ribosomes. The Golgi complexes were ring-shaped and enlarged. The content of secretory granules remained nearly unchanged. The nuclei showed a moderate pleomorphism. These findings indicate an increased synthesis of ACTH. After Methylprednisolone was administered, a considerable reduction of the number of corticotrophic cells and a moderate decrease of the ergastoplasm in the single cell were observed thus a low level of ACTH-production can be supposed.

From our findings we may infer that the increased secretion of ACTH by a chronically stimulated Corticotropin-releasing factor is based not only on stimulated corticotrophs but even moreso on a hyperplasia of this cell type.

Adrenostatika werden als Hemmsubstanzen der Cortisolsynthese in der Therapie der Nebennierenrindentumoren und in der Diagnostik von adrenocortikalen Überfunktionszuständen angewandt. Zu derartigen Pharmaka zählen die Präparate Aminoglutäthimid (Elipten®) und Metyrapon (Metopiron®). Beide unterscheiden sich pharmakokinetisch im Angriffspunkt an der Steroidhormonsynthese.

Das Aminoglutäthimid hemmt hauptsächlich die 20-22-Desmolase, wodurch die Hormonsynthese im Anfangsschritt bei der Umwandlung des Cholesterins in das Pregnenolon gehemmt wird (Dexter *et al.*, 1967; Kahnt und Neher, 1966). In den Nebennierenrindenzellen der Zona fasciculata und reticularis kommt es zu einer Anreicherung des Cholesterins, die im histologischen Bild einer Lipoidhyperplasie entspricht (Kracht, 1961; Racela, 1969; Marek *et al.*, 1970, 1971; Nüesch und Siebenmann, 1973). Als Folge des Blockes fällt der Plasmaspiegel der 17-Hydroxysteroiden stark ab, so daß der Corticotropin-releasing-factor (im folgenden: CRF) und dadurch auch das ACTH stimuliert werden.

---

\* Mit Unterstützung durch den Sonderforschungsbereich Endokrinologie (SFB 34) der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Das Metyrapon unterbricht die Cortisolsynthese durch Blockade der 11- $\beta$ -Hydroxylase in ihrem letzten Schritt, wodurch es zu einer Vermehrung der Vorstufen Cortexon und Cortexolon kommt (Liddle *et al.*, 1958). Hieraus resultiert eine Stimulation der corticotropen Hypophysenwirkung, die im histologischen Bild der Nebennierenrinde zum Ausdruck kommt (Kracht, 1961), da im Gegensatz zu den Verhältnissen unter Aminoglutäthimid die vermehrten Vorstufen nicht angereichert, sondern ausgeschleust werden. Beide Stoffe wirken somit im Sinne einer pharmakologischen Adrenalectomie mit Abfall des Cortisolplasmaspiegels und sekundärer Aktivierung des CRF-ACTH-Systems.

Wir sind bei unseren tierexperimentellen Untersuchungen am Hypophysenvorderlappen der Frage nachgegangen, ob sich durch diese beiden Pharmaka Veränderungen an den ACTH-Zellen erzeugen lassen, die sich mit den aus der Literatur bekannten ultrastrukturellen Veränderungen nach operativer Adrenalectomie (Farquhar, 1957; Herlant, 1964; Siperstein und Allison, 1965; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970) vergleichen lassen und ob außer einer Stimulation auch eine Hyperplasie der ACTH-Zellen eintritt.

Vergleichsweise haben wir auch Adenohypophysen nach Gabe von Carbenoxolon untersucht. Dieser Stoff besitzt eine mineralocorticoide Wirkung und führt zu einer Atrophie und Inaktivierung der Zona glomerulosa (Saeger und Mitschke, 1973). Eine Auswirkung auf das ACTH-Zellsystem ist daher nicht unbedingt zu erwarten. Zur Erzeugung gegensätzlicher Veränderungen an den ACTH-Zellen, die durch eine verminderte CRF-Produktion entstehen, wurden Rattenhypophysen nach Gabe eines Steroids mit cortisolähnlicher Wirkung untersucht. Dabei interessierte uns die Frage, ob sich die für einen Hypercortisolismus typischen ACTH-Zellveränderungen in der Humanpathologie (Cooke, 1935; Wägermark und Wersäll, 1968; de Cicco *et al.*, 1972; Schochet *et al.*, 1972) tierexperimentell reproduzieren lassen und ob es zu einer Reduktion der ACTH-Zellzahl kommt.

### Material und Methodik

46 männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 120–150 g wurden in Gruppenkäfigen unter Normalbedingungen mit Alttrominfutter und Wasser ad libitum bei wöchentlichen Gewichtskontrollen gehalten.

Von diesen blieben 4 Ratten als Kontrollgruppe ohne Behandlung. 4 weiteren wurde physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal zur Überprüfung unspezifischer Reizreaktionen appliziert. 8 Ratten erhielten 50 mg Carbenoxolon per Schlucksonde über 12 Wochen.

Je 10 Ratten wurden die Pharmaka Aminoglutäthimid, Metyrapon und Methylprednisolon über 3 Wochen intraperitoneal appliziert. Aminoglutäthimid<sup>1</sup> wurde einmal täglich in einer Dosis von 15 mg, Metyrapon<sup>2</sup> in steigenden Dosen von 12,5 mg bis 60 mg pro Tag und Methylprednisolon ebenfalls in steigenden Dosen von 1–2 mg pro Tag und Tier gegeben.

Die Mengen der applizierten Pharmaka wurden hoch über den therapeutisch und diagnostisch angewandten Dosen pro Kilogramm Körpergewicht gehalten.

Die Ratten, die Aminoglutäthimid erhielten, zeigten  $\frac{1}{2}$  bis 1 Std nach der Injektion Zeichen einer zentralnervösen Dämpfung. Die Wirkung des Metyrapon setzte bereits nach 2–5 min ein. Je nach Höhe der Dosis gerieten die Ratten in einen Schock. Von dieser Gruppe starben im Verlauf des Versuchs 3 Tiere.

1 und 2 Wir danken der Firma Ciba-Geigy-AG für die nötigen Versuchsmengen.

Alle Tiere wurden ca. 2 Std nach der letzten Dosis im Ätherrausch getötet. Bei etwa der Hälfte der Versuchstiere wurde in der Narkose eine periaortale Perfusionsfixation mit 37° C warmem, gepuffertem 3% Glutaraldehyd durchgeführt.

Für die histologischen Untersuchungen wurden ein Teil der Hypophysen, die Nebennieren, die Lungen, die Leber, die Nieren, die Milz und das Pankreas in neutralem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Haematoxylin-Eosin gefärbt, die Hypophysen zusätzlich mit PAS und der Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Orange-G-Färbung nach Adams und Swettenham (1958).

Für die elektronenoptischen Untersuchungen wurden die Hypophysen in 3 Teilstücke zerlegt und in cacodylatgepuffertem 3% Glutaraldehyd für 2 Std fixiert. Anschließend wurden sie in s-Collidin-gepuffertem Osmiumtetroxyd nachfixiert. Die Einbettung erfolgte in Epon 812. Von diesem Material wurden Toluidinblau-gefärbte Semidünnschnitte angefertigt und lichtoptisch beurteilt. Die Ultradünnschnitte wurden auf dem Ultramikrotom Reichert geschnitten und mit alkoholischem Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Mikroskopiert wurde mit dem Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9a.

Ultrastrukturelle Hinweise auf Veränderungen der ACTH-Zellzahl waren durch Ermittlung der Anzahl pro Flächeneinheiten im Gitter des Dünnschnitt-Trägernetzes zugewinnen.

Für die Morphometrie wurden ACTH-Zellen mit dem Elektronenmikroskop fotografiert. Die Photographien wurden einheitlich auf die endgültige Vergrößerung von 8060fach bei einem Format von 18 × 18 cm gebracht. Auf diese Photographien wurde ein Raster mit 2 Einteilungen gelegt: einem groben von 1 × 1 cm und einem feineren Netz von 2 × 2 mm. Mit dem groben Raster wurden Kern und Cytoplasma ausgezählt. Das kleinere Raster diente zur Erfassung der cytoplasmatischen Organellen Golgiapparat, endoplasmatisches Retikulum, Prosekretgranula, Granula, Mitochondrien, Lipidtropfen und Lysosomen sowie sonstiger Strukturen (Zentriol, Microbodies). Alle anderen Rasterpunkte wurden der Kategorie „unorganisiertes Cytoplasma“ zugeordnet.

Die Photographien der ACTH-Zellen wurden als Stichproben aus dem gesamten Kollektiv der ACTH-Zellen aufgefaßt. Daß diese Stichproben zweidimensionale Ausschnitte aus dreidimensionalen Wachstumsgegebenheiten darstellen, wurde nicht berücksichtigt, da nur die Kollektive der einzelnen Versuchsgruppen miteinander verglichen werden sollten und Verfälschungen durch Teilanschnitte von ACTH-Zellen sich somit gegeneinander aufheben.

Von den einzelnen Organellen wurde die Summe der Rasterpunkte pro Versuchsgruppe ermittelt und miteinander verglichen. Die Zahlenwerte der Organellen des Hormon-bildenden Apparates wurden statistisch mit Hilfe eines Kleincomputers ausgewertet. Die Signifikanzen wurden mit dem Student-*t*-Test, der in biologischen Statistiken als Standardtest eingeführt ist (Campbell, 1971), nach Prüfung durch den Zeichentest der Documenta Geigy ermittelt.

## Ergebnisse

### *Körper- und Nebennierengewichte*

Die Körpergewichte der behandelten Ratten aller Gruppen waren gegenüber den Kontrolltieren etwas geringer. Die Nebennieren der mit Aminoglutäthimid und Metyrapon behandelten Ratten hatten ein deutlich erhöhtes Gewicht, während die Nebennierengewichte nach Carbenoxolon kaum, aber nach Methylprednisolon deutlich gegenüber den Kontrollen reduziert waren.

### *Histologie der Nebennieren*

Auffällige Befunde waren außer an den Hypophysen nur an den Nebennieren zu erheben.

Nach *Carbenoxolon* nahm die Breite der Zona glomerulosa um mehr als die Hälfte des Normalen ab, wobei auch die Größe der einzelnen Zellen geringer war.

Nach *Metyrapon* fand sich eine Lipidverarmung der Zona fasciculata und reticularis. Die verbliebenen Lipidtropfen waren sehr klein. Die Zellen besaßen vergrößerte Kerne mit prominenten Nucleolen. Die Befunde entsprechen somit denen, die nach Stimulierung durch ACTH zu erheben waren (Kracht, 1961).

Nach *Aminoglutäthimid* zeigte sich eine diffuse Verbreiterung der Zona fasciculata und reticularis zusammen mit einer erheblichen großtropfigen Lipidspeicherung. Nur einzelne Zellen wiesen auch eine kleintropfige multivesikuläre Speicherungsform auf.

Nach *Methylprednisolon* fand sich betont in der äußeren Fasciculata, aber auch in den inneren Schichten eine verstärkte Lipidanreicherung. Die Zona fasciculata und reticularis waren insgesamt gering verschmälert.

### *Histologie der Hypophysen*

*Kontrollen.* In den Paraffin- und Kunststoffschnitten wurden, entsprechend den Untersuchungen von Breustedt (1968), die Zellen der Adenohypophyse als ACTH-Zellen angesehen, die von sternförmiger Gestalt sind, nur einen schmalen peripheren Granulasaum besitzen oder ungranuliert sind und perikapillär liegen. Wir fanden in den Hypophysen der Kontrolltiere viele Zellen, die diese Charakteristica erfüllten (Abb. 1a).

*Carbenoxolon.* Abweichungen vom Normalbefund waren weder hinsichtlich der ACTH-Zellzahl noch der Einzelzellstruktur zu verzeichnen.

*Metyrapon.* Die ACTH-Zellen waren deutlich vermehrt und vergrößert (Abb. 1b). Ihr Cytoplasma war zum Teil feinvacuolär aufgelockert. Der Granulierungsgrad blieb indifferent. Die Kerne erschienen etwas vergrößert.

*Aminoglutäthimid.* Bezüglich ihrer Zahl und ihres Strukturmusters waren die ACTH-Zellen nach Aminoglutäthimid gleichartig verändert wie nach Metyrapon (Abb. 1c).

Darüberhinaus ließen die gonadotropen Zellen wabige, zum Teil großvacuoläre Aufhellungen ihrer verbreiterten Cytoplasmasäume erkennen (sog. Kastrationszellen).

*Methylprednisolon.* Die ACTH-Zellen waren regelrecht groß (Abb. 1d), aber zahlenmäßig deutlich verringert. Sie enthielten zum Teil vermehrt Granula. Ihr Kernchromatin erschien etwas vermindert. Die Cytoplasmasaumläufer waren reduziert, so daß die Zellen eine mehr keulen- bis stäbchenförmige Gestalt annahmen. Zirkuläre Hyalinisierungen, Lipidvacuolen, halbmondförmige Kernformen und periphere Restgranula als Kriterien der sog. Crooke-Zellen (Crooke, 1935) waren nicht nachweisbar.

### *Elektronenmikroskopie der Adenohypophysen*

*Kontrollen.* Als ACTH-Zellen wurden Vorderlappenzellen angesehen, welche die in der Literatur mitgeteilten Identitätscharakteristica aufwiesen. Dazu gehören:

1. Die blutgefäßnahe Lage mit Zellausläufern an die Basalmembran und Auskleidungen von follikelähnlichen Formationen am gegenseitigen Zellpol (Farquhar, 1957; Herlant, 1964; Rennels, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966;

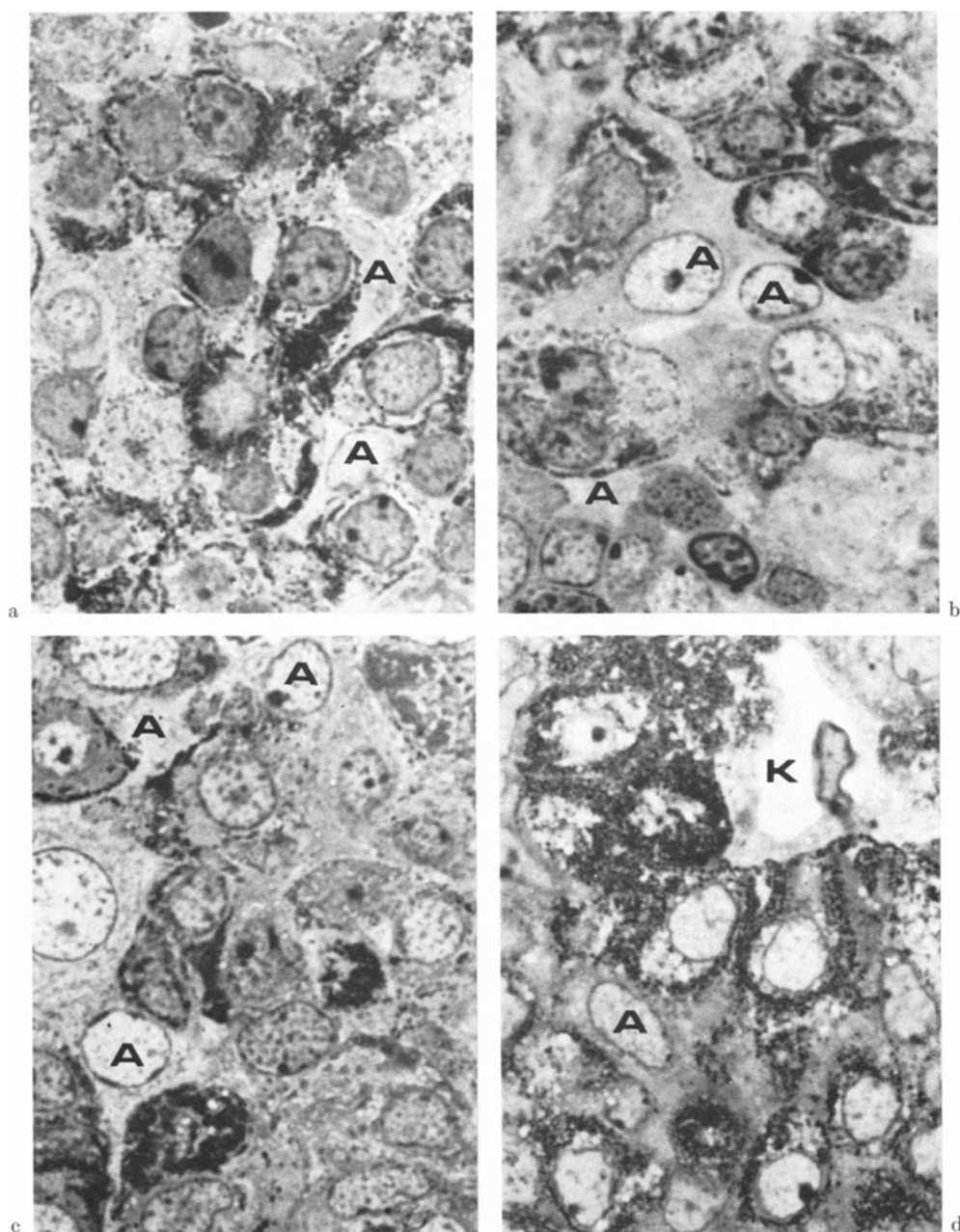


Abb. 1a—d. ACTH-Zellen der Rattenhypophysen (Semidünnschnitte). (a) Unbehandelte Kontrolle: ACTH-Zellen (A) von sternförmiger Gestalt mit sehr spärlichen Granula und chromatinarmen Zellkernen. (b) Nach Metirapon: vergrößerte ACTH-Zellen (A) mit verlängerten Ausläufern, vergrößerten Kernen und deutlichen Nucleolen. (c) Nach Aminoglutathimid: etwas vergrößerte ACTH-Zellen (A) mit langen Ausläufern und sehr spärlicher Granulierung. (d) Nach Methylprednisolon: ACTH-Zelle (A) mit Cytoplasmafortsatz bis an die Kapillare (K) und normal großem Zellkern. Abb. 1a—d: Toluidinblau. Vergr. 1400 ×

Nakayama und Skelton, 1968; Siperstein und Miller, 1970; Pelletier, 1971; Pelletier und Racadot, 1971);

2. die verhältnismäßig lichte Cytoplasmamatrix (Farquhar, 1957; Rennels, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966);

3. bruchstückhaftes rauhes endoplasmatisches Retikulum als Ansammlung von schmalen Vesikeln oder Lamellen mit mittelmäßiger Anzahl von Ribosomen (Siperstein und Allison, 1965; Nakayama und Skelton, 1968; Pelletier und Racadot, 1971);

4. gut ausgebildete, überwiegend ringförmige Golgifelder (Herlant, 1964; Siperstein und Allison, 1965; Pelletier und Racadot, 1971);

5. elektronendichte, membranbegrenzte, überwiegend perlschnurartig an der Zellmembran aufgereihte Granula mit einer durchschnittlichen Größe von 180 m $\mu$ , wobei teilweise zwischen Matrix und Membran ein Spalt als sog. heller Hof ausgebildet ist (Herlant, 1964; Siperstein und Allison, 1965; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Kurosumi und Oota, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Nakayama und Skelton, 1968; Siperstein und Miller, 1970; Pelletier, 1971; Pelletier und Racadot, 1971);

6. nur selten nachweisbare Lipidkörper, multivesikuläre Körper, Lysosomen und Zentriolen (Kurosumi und Oota, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Kurosumi, 1968);

7. ovale bis rutenförmige Mitochondrien mit unterbrochenen Christae (Herlant, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Kurosumi und Oota, 1966; Yamada und Yamashita, 1967);

8. die etwas exzentrische Lage des manchmal leicht gelappten Kerns (Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970).

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien waren viele ACTH-Zellen zu identifizieren. Die Hypophysen der unbehandelten und der mit Kochsalz vorbehandelten Tiere wiesen keine morphologisch faßbaren Unterschiede auf (Abb. 2).

*Carbenoxolon.* Nach Carbenoxolon fanden sich ACTH-Zellen mit einer regelrechten Kontur und gehöriger Organellenausstattung (Abb. 3). Das rauhe endoplasmatische Retikulum erschien stellenweise reduziert, die Golgifelder waren dagegen vereinzelt stärker ausgebildet. Der Granulagehalt blieb unverändert.

*Metyrapon.* Nach Metyrapon fiel wie bereits histologisch eine erhebliche Zunahme der ACTH-Zellzahl auf. Die Einzelzellen (Abb. 4) waren unter Verbreiterung des Cytoplasma deutlich vergrößert und von verstärkt zipfeligem Kontur, wobei Umgreifungsfiguren vorkamen. Das endoplasmatische Retikulum war vermehrt ausgebildet durch Verlängerung der parallelen Membranen und durch dichteren Ribosomenbesatz. Die Golgifelder waren teilweise mehrfach angelegt, auffällig vergrößert und zu Ringbildungen umgestaltet. Dabei fanden sich vermehrt Prosekretgranula. Die Granulagröße war etwas reduziert, der Granulagehalt uneinheitlich. Die Zahl der freien Ribosomen stieg deutlich an. Mitochondrien waren ebenfalls vermehrt vorhanden, zum Teil in Gruppen gelagert und von einer manchmal verzweigten Form. Autophagolysosomale Körper fehlten. Die Kerne waren etwas unregelmäßig konturiert und zeigten teilweise angedeutete Lappungen. Ihr Heterochromatingehalt war mäßig vermehrt.

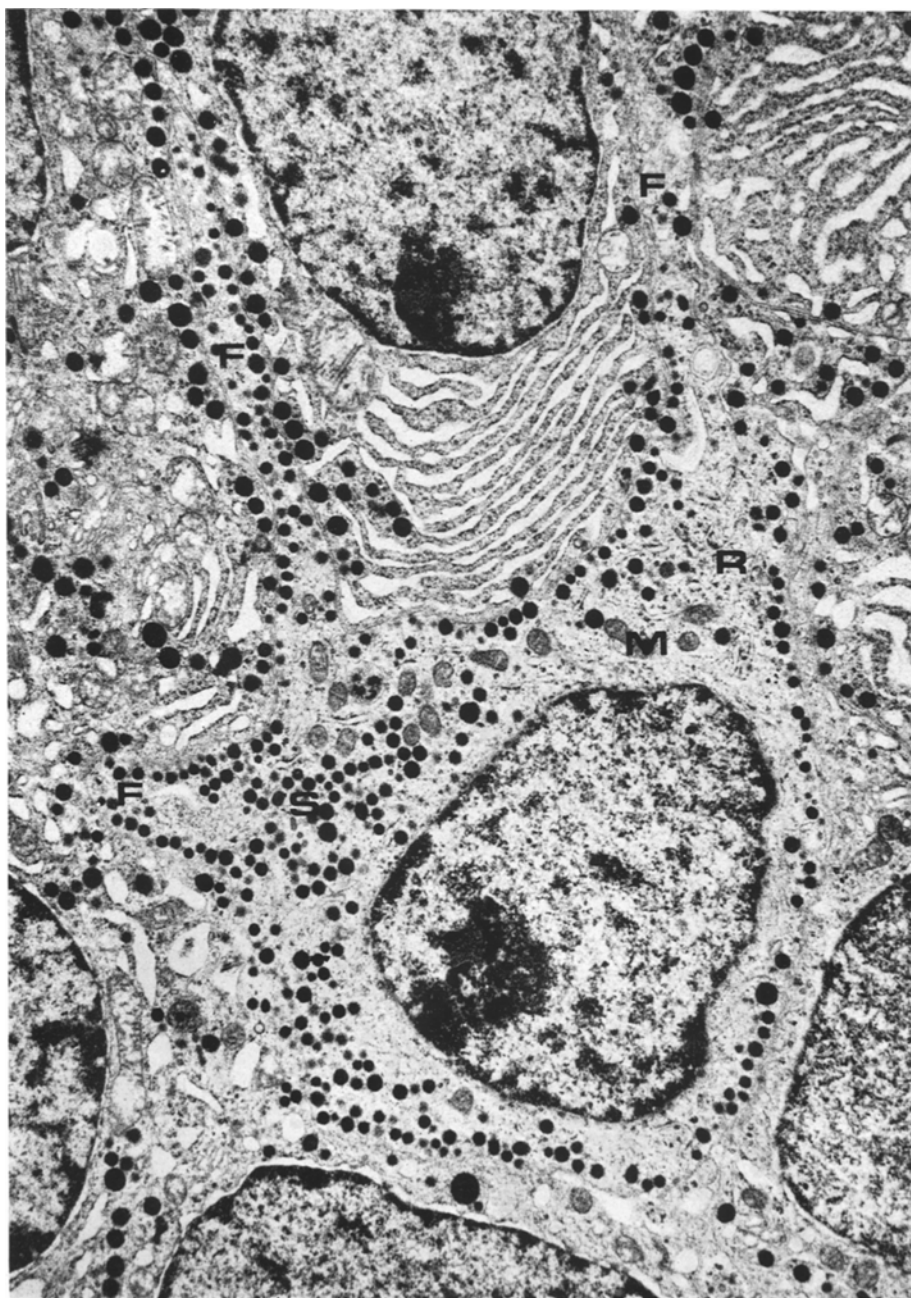


Abb. 2. ACTH-Zelle eines Kontrolltieres mit schmalem Cytoplasma, mehreren Zellausläufern (*F*), kurzen Ergastoplasmamembranen (*R*), hauptsächlich peripher angeordneten, 140 bis 260  $\mu$  großen Sekretgranula (*S*), ovalen bis hantelförmigen Mitochondrien (*M*) und Kern mit deutlichem Nucleolus. Angrenzend acidophile Zellen. Perfusionsfixation. Vergr. 11000  $\times$

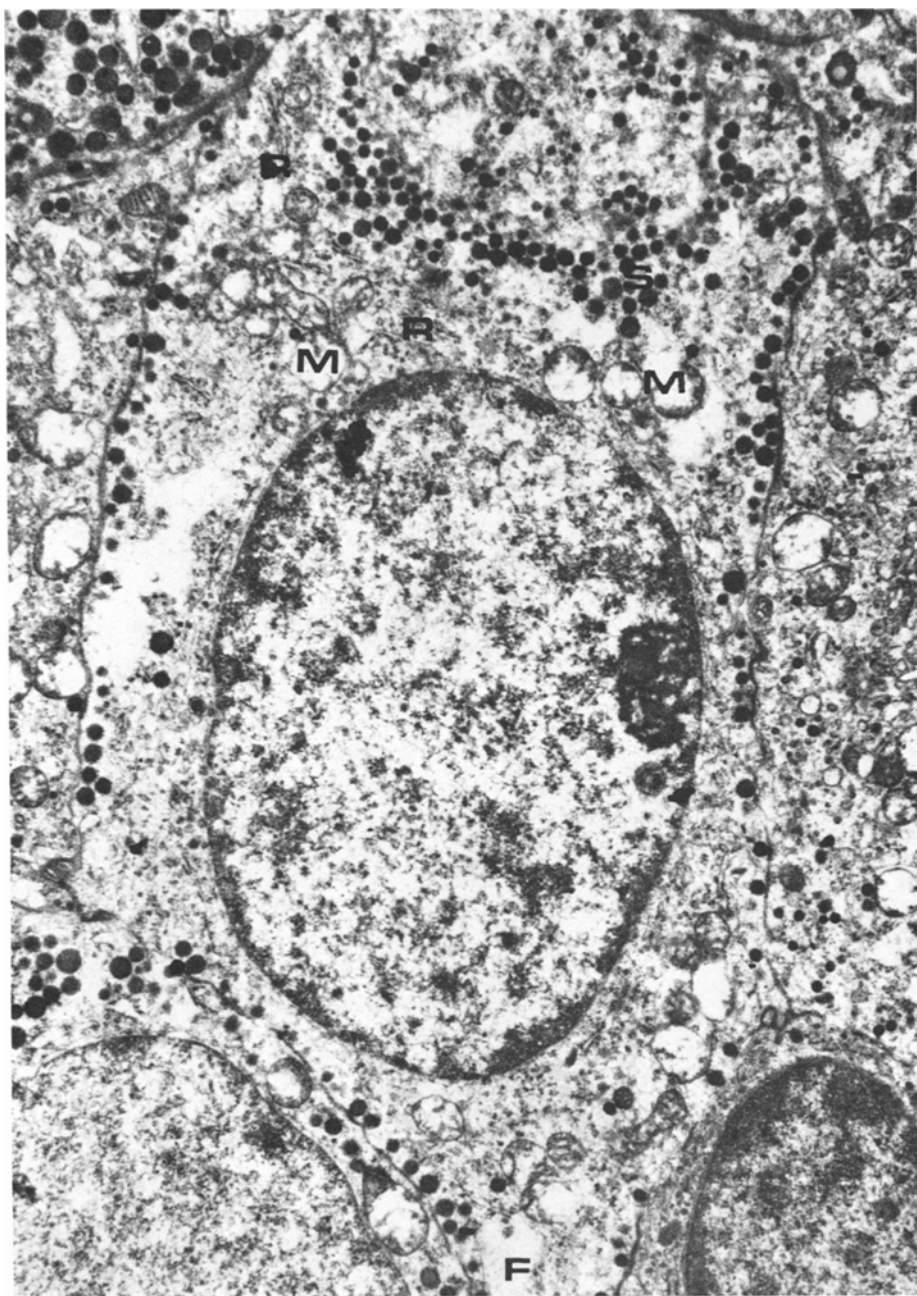


Abb. 3. ACTH-Zelle nach Carbenoxolon mit schmalem Cytoplasma, Zellausläufern (*F*), regelrechtem Ergastoplasma (*E*), peripher lokalisierten, 170–270 m $\mu$  großen Sekretgranula (*S*), geschwollenen (fixationsbedingt!) Mitochondrien (*M*) und ovalem Kern. Diffusionsfixation. Vergr. 11000  $\times$



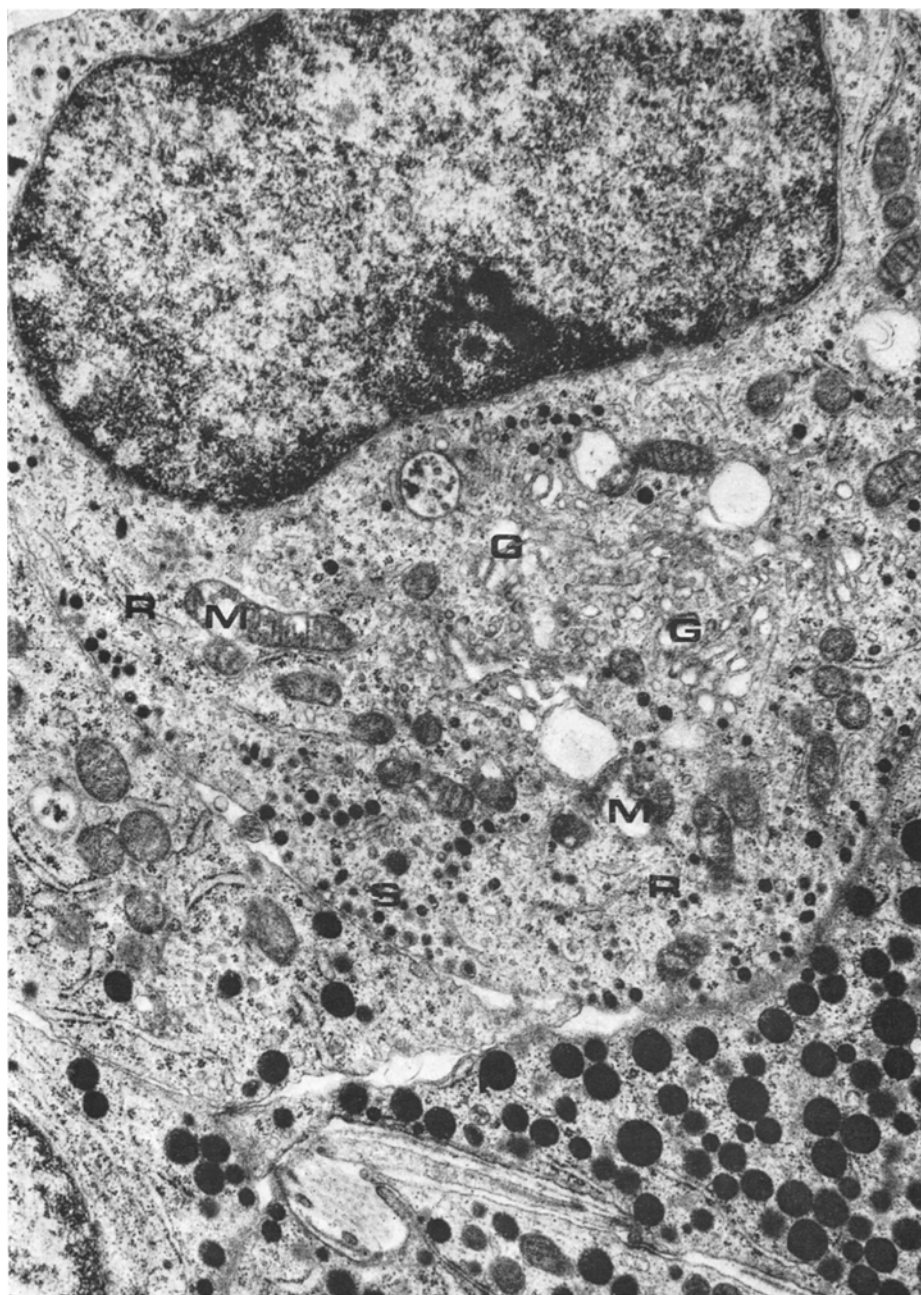


Abb. 4. ACTH-Zellen nach Metirapon mit verbreitertem Cytoplasma, vermehrtem aus verlängerten, sehr ribosomenreichen Membranen aufgebautes Ergastoplasma (*R*), großem, teilweise dilatiertem Golgifeld (*G*), kleinen (100—180 m $\mu$ ) diffus verteilten Sekretgranula (*S*) und ovalen Mitochondrien (*M*). Unten STH-Zelle. Perfusionsfixation. Vergr. 17500  $\times$

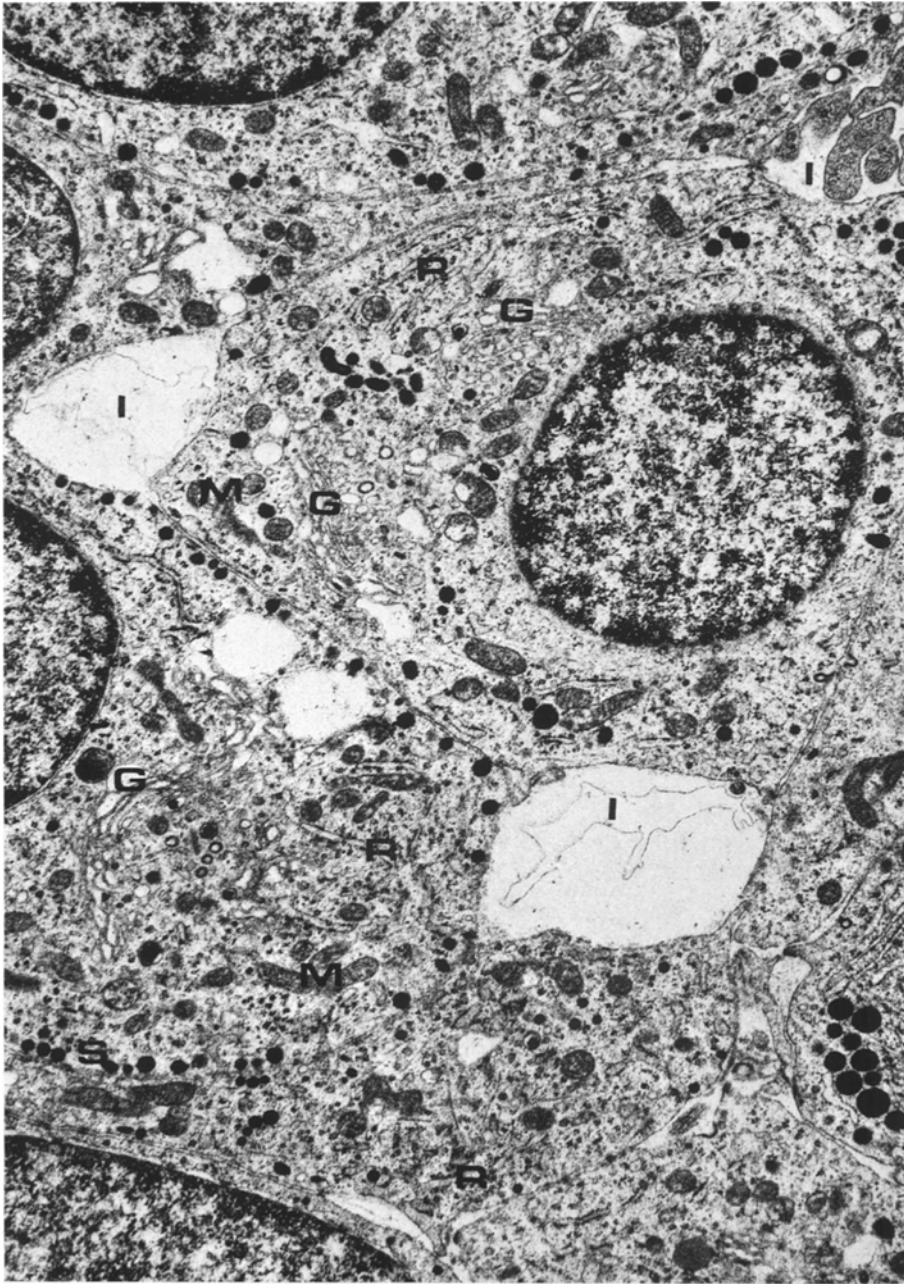


Abb. 5. Dicht gelagerte ACTH-Zellen nach Aminoglutäthimid mit follikelähnlichen Erweiterungen des Interzellularraumes (*I*), vermehrtem ribosomenreichem endoplasmatischem Retikulum (*R*), teilweise ausgedehnten Golgifeldern (*G*), spärlichen peripher gelegenen 120 bis 280 m $\mu$  großen Sekretgranula (*S*), teilweise erheblich elongierten Mitochondrien (*M*) und runden Kernen. Perfusionsfixation. Vergr. 12400  $\times$

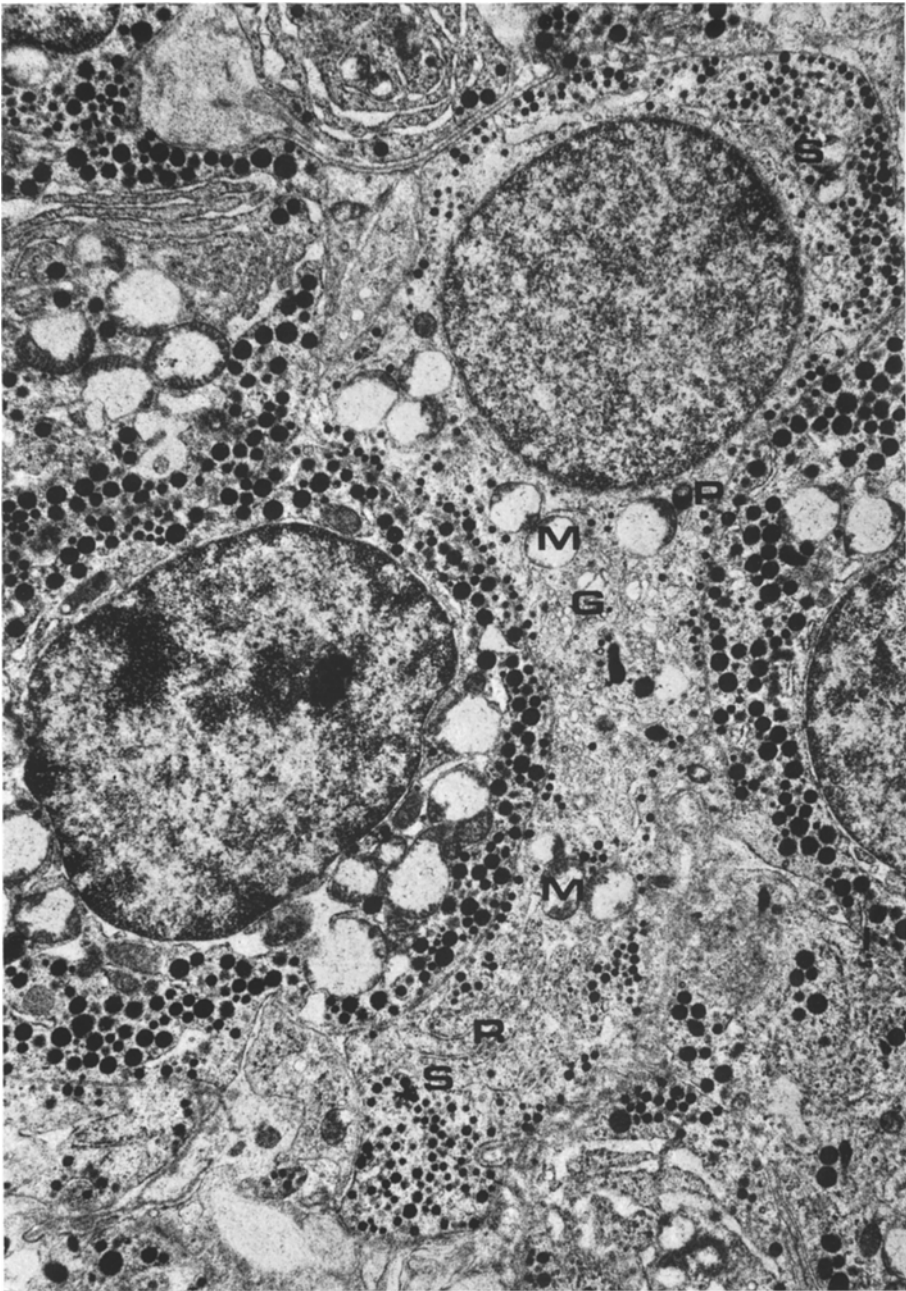


Abb. 6. ACTH-Zelle nach Methylprednisolon mit breitem Ausläufer zur Kapillare, etwas Ergastoplasma (R), kleinem Golgfeld (G), zum Teil dicht gelagerten 150—280 m $\mu$  großen Sekretgranula (S), geschwollenen (fixationsbedingt!) Mitochondrien (M), kleinem Pigmentkomplex (P) und rundem Kern. Diffusionsfixation. Vergr. 9200  $\times$

*Aminoglutäthimid.* Nach Aminoglutäthimid waren generell gleichartige Veränderungen festzustellen wie nach Metyrapon (Abb. 5). So fiel eine ebenso starke Zellvergrößerung mit Zunahme der Zellfortsätze und des Organellengehaltes auf.

Die gonadotropen Zellen ließen Veränderungen erkennen, die auch ultrastrukturell sog. Kastrationszellen entsprachen. Hierüber ist bereits berichtet worden (Saeger, 1974b).

*Methylprednisolon.* Die langfristige Gabe dieses Steroids führte zu einer starken Abnahme der ACTH-Zellzahl. Die Einzelzellen waren überwiegend nur mäßig verändert (Abb. 6). Es fand sich eine mäßige Reduzierung der Zellausläufer. Die Membranen des rauhen endoplasmatischen Retikulum waren rarefiziert und die Golgifelder mäßig verkleinert. Eine Granulaanreicherung fand nur in geringem Maße statt. Einzelne kleine Pigmentkörper waren nachweisbar, aber keine großen lysosomalen Lipid-Pigment-Komplexe oder Cytofilamentanreicherungen. Die Kerne blieben überwiegend rund und mäßig chromatindicht.

#### *Morphometrische und statistische Analyse der Ultrastruktur*

Folgende statistisch signifikante ( $p$  weniger als 0,05) Abweichungen vom Normalbefund waren anhand der ausgezählten Rasterpunkte zu errechnen:

Nach Metyrapon und Aminoglutäthimid nahm der Umfang des hormonbildenden Organellenapparates (rauhes endoplasmatisches Retikulum, Golgifelder und Prosekretgranula) zu, was auch für die Golgifelder allein zutraf.

Methylprednisolon führte zu einer erheblichen Reduktion des für sich allein ausgewerteten rauhen endoplasmatischen Retikulum. Signifikante Veränderungen des Granulagehaltes waren in keiner Versuchsgruppe nachweisbar.

#### **Diskussion**

Unsere Untersuchungen an den ACTH-Zellen nach *Carbenoxolon*, dem Adrenostatikum für die Mineralcorticoide (Conn *et al.*, 1968; Saeger und Mitschke, 1973), ergaben keine Abweichungen von der Normalstruktur. Daher ist eine wesentliche Änderung der ACTH-Syntheseleistung durch dieses Pharmakon nicht zu erwarten. Dies steht mit biochemischen Befunden in Einklang, welche nur eine partielle Beeinflussung der Aldosteronsynthese durch ACTH nachwiesen (Newton und Laragh, 1968).

Die Adrenostatika *Metyrapon* und *Aminoglutäthimid* führten gleichermaßen zu einer erheblichen Zunahme der ACTH-Zellzahl und zu einer Stimulation der Einzelzellen, was sich durch morphometrische Analysen der Ultrastruktur belegen ließ. So konnten wir an den ACTH-Zellen die von Bargmann (1971) angegebenen Kriterien für die Aktivität Proteohormon-produzierender Zellen nachweisen. Als solche gelten die Zunahme des Gesamtzellvolumens und des Zellkerns sowie eine stärkere Ausbildung des Ergastoplasma und des Golgiapparates.

Über entsprechende histologische Ergebnisse einschließlich karyometrischer Analysen berichten Dhom *et al.* (1962), Dhom und Tietze (1962), Dhom und Ross (1963) sowie Dhom und Scherer (1963). Sie fanden unter dem Einfluß einer

Adrenalektomie bzw. chemischer Adrenostase eine Degranulierung und Vacuolisierung der  $\beta$ -Zellen mit Vergrößerung der Zellkerne. Vergleichbare Befunde erhoben Racadot (1963) nach Metyrapon an jungen Katzen sowie Racadot und Herlant (1960) nach einem anderen Adrenostatikum, dem Amphenon B. Kracht u. Mitarb. (1967) stellten unter Einwirkung von Metyrapon histologische Veränderungen an den Acidophilen der Rattenhypophyse fest. Dieser Befund konnte aber durch weitere Untersuchungen von Breustedt (1968) nicht bestätigt werden. Ultrastrukturelle Untersuchungen über die Wirkungen von Metyrapon liegen nur von Kaninchenhypophysen vor. Dabei beschreiben Cameron und Foster (1972) eine Zunahme und Dilatation der rauen endoplasmatischen Retikulum und Schechter (1969) eine Vermehrung der Cytofilamente. Wir haben weder eine Dilatation des Ergastoplasma noch eine Anreicherung von Cytofilamenten nachweisen können, so daß anzunehmen ist, daß es sich bei diesen Befunden um eine spezielle Reaktionsform der Kaninchenhypophyse handelt. Weitgehend identisch mit unseren Ergebnissen sind die nach operativer Adrenalektomie beschriebenen ultrastrukturellen Veränderungen (Siperstein und Allison, 1965; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970). Auch ein Stress kann ähnliche Strukturen hervorrufen (Rennels, 1964; Abel *et al.*, 1971).

Der unterschiedlich ausgeprägte Granulagehalt der ACTH-Zellen muß unabhängig vom Aktivierungsgrad gesehen werden und ist wahrscheinlich nur Ausdruck von verschiedenen Entwicklungsphasen im Zellgenerationszyklus, wie auch von Yoshimura und Harumiya (1965) herausgestellt wird.

*Methylprednisolon* induzierte an den ACTH-Zellen zwar eine deutliche Verminderung der Zellzahl, aber nur diskrete und partielle ultrastrukturelle Veränderungen, die auf eine Suppression bzw. fehlende Stimulation hinweisen. Signifikant war lediglich die Reduktion des Ergastoplasma. Eine Granulaanreicherung, über die Rinne und Näätänen (1958), Siperstein und Miller (1970) sowie Pelletier und Racadot (1971) berichten, lag in unserem Material nur in geringem Maße vor. Möglicherweise spielt für diesen Befund die angewandte Äthernarkose eine Rolle, da es nach Greer und Rockie (1968) zu einer ACTH-Ausschüttung kommt. Veränderungen, die der Ultrastruktur der für einen Hypercortisolismus in der Humanpathologie typischen Crooke-Zelle (Crooke, 1935) vergleichbar sind (Wågermark und Wersäll, 1968; Schochet *et al.*, 1972; de Cicco *et al.*, 1972; Saeger, 1974a), fehlten vollständig und konnten auch von anderen Untersuchern nicht erzeugt werden (Yamada und Yamashita, 1967; Kurosumi, 1968; de Cicco *et al.*, 1972; Pelletier und Racadot, 1971). Zur Klärung der Frage, ob die Crooke'schen Degenerationsformen auch bei Ratten vorkommen können oder eine Eigentümlichkeit der menschlichen Hypophyse darstellen, sind weitere Untersuchungen mit anderen, bei der Ratte physiologischen Glucocorticoiden erforderlich.

Unsere Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß der hypothalamische CRF bei einer Stimulation durch Blockade der Glucocorticoidhormonsynthese nicht nur eine Aktivierung der Hormonproduktion in der Einzelzelle, sondern vor allem eine Hyperplasie der ACTH-Zellen bewirkt. Bei einer Suppression des CRF durch Gabe von Methylprednisolon resultiert hauptsächlich eine Reduktion der ACTH-Zellzahl. Somit ist anzunehmen, daß die erhöhte ACTH-Sekretion bei einem

chronischen Mehrbedarf hauptsächlich auf einer Vermehrung der Zellzahl und weniger auf einer Syntheseleistungssteigerung der Einzelzelle beruht. Die Hyperplasien und Adenombildungen der ACTH-Zellen beim Cushing-Syndrom hypothalamisch-hypophysärer Genese mit gestörter CRF-Regulation fänden dadurch eine Erklärung.

### Literatur

- Abel, J. H., Rhees, R. W., Haack, D. W.: Studies on the presumptive corticotroph cells in the pituitaries of herring gulls. *Cytobiologie* **3**, 299—323 (1971)
- Adams, C. W. M., Swettenham, K. V.: The histochemical identification of two types of basophil cells in the normal human adenohypophysis. *J. Path. Bact.* **75**, 95—103 (1958)
- Bargmann, W.: Die funktionelle Morphologie des inkretorischen Regulationssystems. In: *Handbuch der Allgemeinen Pathologie*, Bd. VIII, Teil 1: Endokrine Regulations- und Korrelationsstörungen, hrsg. von Altmann, H.-W., Büchner, F., Cottier, H., Grundmann, E., Holle, G., Letterer, E., Masshoff, W., Meessen, H., Roulet, F., Seifert, G., Siebert, G., S. 1—105. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971
- Breustedt, H. J.: Zur immunhistologischen ACTH-Lokalisation in der Rattenhypophyse. *Endokrinologie* **53**, 1—19 (1968)
- Cameron, B., Foster, C. L.: Ultrastructural changes in the adenohypophysis of Methyrapone-treated rats. *J. Endocr.* **52**, 343—347 (1972)
- Campbell, R. C.: Statistische Methoden für Biologie und Medizin. Stuttgart: G. Thieme 1971
- Conn, J. W., Rovner, D. R., Cohen, E. L.: Licorice-induced pseudoaldosteronism. Hypertension, hypokaliemia, aldosteronopenia, and suppressed plasma renin activity. *J. Amer. med. Ass.* **205**, 492—496 (1968)
- Crooke, A. C.: A change in the basophil cells of the pituitary gland common to conditions which exhibit the syndrome attributed to basophil adenoma. *J. Path. Bact.* **41**, 339—349 (1935)
- DeCicco, F. A., Dekker, A., Yunis, E. J.: Fine structure of Crooke's hyaline change in the human pituitary gland. *Arch. Path.* **94**, 65—70 (1972)
- Dexter, R. N., Fishman, L. M., Ney, R. L., Liddle, G. W.: Inhibition of adrenal corticosteroid synthesis by aminoglutethimide: studies of the mechanism of action. *J. clin. Endocr.* **27**, 473—480 (1967)
- Dhom, G., Burkert, F., Tietze, H. U.: "Thyroidectomy" cells in the anterior hypophysis of rats after adrenal gland blockade on the problem of the site of formation of ACTH. *Z. Zellforsch.* **57**, 679—691 (1962)
- Dhom, G., Ross, W.: Karyometrische Studien am experimentell beeinflussten Hypophysenvorderlappen der Ratte. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **47**, 295—301 (1963)
- Dhom, G., Scherer, H.-P.: Streß-Reaktionen am Hypophysenvorderlappen der Ratte. *Virchows Arch. Path. Anat.* **336**, 368—382 (1963)
- Dhom, G., Tietze, H. U.: Zur experimentellen Histophysiologie der beta-Zellen der Rattenhypophyse nach Untersuchungen mit der Perameisensäure-Alcianblau-Reaktion. *Endokrinologie* **42**, 284—294 (1962)
- Documenta Geigy. Wissenschaftliche Tabellen. 6. Aufl. Hrsg. J. R. Geigy AG, Pharmazeutische Abteilung. Redaktion: Konrad Diem. Basel, 1960
- Farquhar, M. G.: "Corticotrophs" of the rat adenohypophysis as revealed by electron microscopy. *Anat. Rec.* **127**, 291 (1957)
- Greer, M. A., Rockie, C.: Relation of the mass of heterotopic pituitary tissue to its ability to secrete ACTH and TSH in response to aminoglutethimide. *Endocrinology* **83**, 442—451 (1968)
- Herlant, M.: The cells of adenohypophysis and their functional significance. *Int. Rev. Cytol.* **17**, 299—382 (1964)
- Kahnt, F. W., Neher, R.: Über die adrenale Steroid-Biosynthese in vitro. 3. Selektive Hemmung der Nebennierenrindenfunktion. *Helv. chim. acta* **49**, 725—732 (1966)

- Kracht, J.: Die Nebennierenrinde bei chemischer Adrenostase. *Allergie Asthma* **7**, 264—271 (1961)
- Kracht, J., Hachmeister, U., Breustedt, H.-J.: Vergleichende Immunhistologie der ACTH-Bildungsstätten. *Acta histochem., Suppl.* **7**, 371—377 (1967)
- Kurosomi, K.: Functional classification of cell types of the anterior pituitary gland by electron microscopy. *Arch. histol. Jap.* **29**, 329—362 (1968)
- Kurosomi, K., Kobayashi, Y.: Corticotrophs in the anterior pituitary glands of normal and adrenalectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* **78**, 745—758 (1966)
- Kurosomi, K., Oota, Y.: Corticotrophs of the anterior pituitary glands of gonadectomized and thyroidectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* **79**, 808—814 (1966)
- Liddle, G. W., Island, D., Lance, E. M., Harris, A. P.: Alterations of adrenal steroid patterns in man resulting from treatment with a chemical inhibitor of 11- $\beta$ -hydroxylation. *J. clin. Endocr.* **18**, 906—912 (1958)
- Marek, J., Pfeifer, U., Motlik, K.: Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulum der Nebennierenrindenzellen nach Aminoglutäthimid. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* **8**, 36—41 (1971)
- Marek, J., Thoenes, W., Motlik, K.: Lipoide Transformation der Mitochondrien der Nebennierenrinde durch Aminoglutäthimid. *Naturwissenschaften* **57**, 250—251 (1970)
- Nakayama, I., Skelton, F. R.: Observations on the fine structure of ACTH producing cells in the rat anterior pituitary. *Fed. Proc.* **27**, 548 (1968)
- Newton, M. A., Laragh, J. H.: Effect of corticotrophin on aldosterone excretion and plasma renin in normal subjects, in essential hypertension and in primary aldosteronism. *J. clin. Endocr.* **28**, 1006—1013 (1968)
- Nüesch, H., Siebenmann, R.: Die Wirkung von Aminoglutäthimid auf die Zwischenzellen des Rattenhodens. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **358**, 149—162 (1973)
- Pelletier, G.: Détection des glucoprotéines dans les cellules corticotropes de l'hypophyse du rat. *J. Microscopie* **11**, 327—330 (1971)
- Pelletier, G., Racadot, J.: Identification des cellules hypophysaires sécrétant l'ACTH chez le rat. *Z. Zellforsch.* **116**, 228—239 (1971)
- Racadot, J.: Contribution à l'étude des types cellulaires du lobe antérieur de l'hypophyse chez quelques mammifères. In: *Colloques internationaux du C.N.R.S. 128: Cytologie de l'adènohypophyse*, eds. Benoit, J., DaLage, C., p. 33—48. Paris: C.N.R.S. 1963
- Racadot, J., Herlant, M.: Reaction of amphenone on the hypophysis of the impuberal cat. *Ann. endocr. (Paris)* **21**, 828—836 (1960)
- Rennels, E. G.: Electron microscopic alterations in the rat hypophysis after scalding. *Amer. J. Anat.* **114**, 71—91 (1964)
- Rinne, U. K., Näätänen, E. L.: The effect of nor-androstenolone-phenylpropionate on the atrophy of adrenal cortex and inhibition of growth induced by cortisone acetate. *Acta endocr. (Kbh.)* **27**, 423—431 (1958)
- Saeger, W.: Zur Ultrastruktur der hyperplastischen und adenomatösen ACTH-Zellen beim Cushing-Syndrom hypothalamisch-hypophysärer Genese. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **362**, 73—88 (1974a)
- Saeger, W.: Ultrastruktur der gonadotropen Zellen der Rattenhypophyse nach Gabe anti-androgener Substanzen. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **363**, 47—61 (1974b)
- Saeger, W., Mitschke, H.: Licht- und elektronenoptische Untersuchungen an der Zona glomerulosa der Rattennebenniere nach Carbenoxolon. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **358**, 45—59 (1973)
- Schechter, J.: The ultrastructure of the stellate cell in the rabbit pars distalis. *Amer. J. Anat.* **126**, 477—488 (1969)
- Schochet, S. S., Halmi, N. S., McCormick, W. F.: PAS positive hyaline change in ACTH-MSH cells of man. *Arch. Path.* **93**, 457—463 (1972)
- Siperstein, E. R., Allison, V. F.: Fine structure of the cell responsible for secretion of adrenocorticotrophin in the adrenalectomized rat. *Endocrinology* **76**, 70—79 (1965)

- Siperstein, E. R., Miller, E.: Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* **86**, 451—486 (1970)
- Wägermark, J., Wersäll, J.: Ultrastructural features of Crooke's changes in pituitary basophil cells. *Acta path. microbiol. scand.* **72**, 367—375 (1968)
- Yamada, K., Yamashita, K.: An electron microscopic study on the possible site of production of ACTH in the anterior pituitary of mice. *Z. Zellforsch.* **80**, 29—43 (1967)
- Yoshimura, F., Harumiya, P.: Electron microscopy of the anterior lobe of pituitary in normal and castrated rats. *Endocrin. Jap.* **12**, 119—152 (1965)

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