

DER ZEITLICHE ABLAUF VON VERÄNDERUNGEN DES KERNVOLUMENS IN DER NEBENNIERENRINDE

B. HALÁSZ

(Eingegangen am 19. September 1957)

Einleitung

Veränderungen des Kernvolumens können in der Nebennierenrinde im allgemeinen als Indikator der funktionellen Tätigkeit gewertet werden. Eine Erhöhung des Kernvolumens tritt vor allem auf Verabreichung von ACTH, verschiedene stressorische Einflüsse auf und ist auch für Schwangerschaft bezeichnend, zeigt also eigentlich eine erhöhte Tätigkeit der Rindenzellen an. Hingegen verursachen Verabreichung von Cortison, DOCA oder Hypophysektomie eine Volumenverminderung, welche also mit einer Einschränkung der Zelltätigkeit einherzugehen scheint.

Die Verhältnisse liegen jedoch keineswegs so einfach. Den Antrieb zu vorliegenden Untersuchungen gaben paradoxe Erscheinungen, in dem auf ACTH-Verabreichung, oder damit gleichwertigen Versuchsbedingungen das Kernvolumen der Zona fasciculata nicht anstieg, sondern im Gegenteil herabsank. Dieses scheinbar paradoxe Verhalten des Kernvolumens ist höchstwahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass das Kernvolumen während der Versuchsperiode phasischen Schwankungen unterliegt und deshalb je nach dem Zeitpunkt in dem die Versuchstiere aufgearbeitet werden, entgegengesetzte Befunde zu erhalten sind. Wir setzten es deshalb in dieser Arbeit zu unserem Ziele, die Veränderungen des Kernvolumens der Nebennierenrinde auf Verabreichung von DOCA und ACTH in ihrer zeitlichen Dynamik zu untersuchen.

Untersuchungsmethoden

Zu den Versuchen wurden 4 Monate alte männliche Wistar Albinoratten von 120—130 g Körpergewicht verwendet.

Eine Gruppe der Tiere erhielt täglich je 0,5 mg DOCA (Emulsion Organon) intramuskulär. Vom 1. bis zum 8. Tage nach der Injektion wurden je 3 Tiere täglich, bis zum 14. Tage alle zwei Tage je 3 Tiere und endlich am 20. Tage die letzten 3 getötet.

Eine zweite Gruppe erhielt täglich je 0,1 mg ACTH (Cortrophin Organon) subkutan. Von den Tieren wurden je vier, 12, 24, 48, 72 Stunden bzw. 5, 10, 20, Tage nach der ersten Injektion getötet.

Die unbehandelten Kontrollen wurden unter genau gleichen Umweltsbedingungen gehalten und gleichzeitig mit den Behandelten in Gruppen getötet und aufgearbeitet.

Nach Dekapitation wurde das Gewicht der Hypophyse und der Nebennieren mittels einer Torsionswaage bestimmt, eine Nebenniere in 10% Formollösung, die andere in Wiesels Kaliumbichromatgemisch fixiert. Die in Formol fixierte Nebenniere wurde mittels Gefrier-

mikrotoms zerlegt und die Schnitte mit Sudanschwarz gefärbt, oder in polarisiertem Licht untersucht. Die in Wiesels Gemisch fixierte Nebenniere wurde in Zelloidin-Paraffin eingebettet und Schnitte von 6μ mit Hämatoxylin Eosin gefärbt. Die Durchmesser der Kerne der Zona glomerulosa und fasciculata wurden bei 2000facher Vergrößerung nach der Methode von JACOBJ [6] variationsstatistisch aufgenommen. Auf Grund vieljähriger Erfahrung mit der Kerngröße innersekretorischer Organe kamen wir zur Erkenntnis, dass es hier keinen Zweck hat die neueren und zweifellos ein wesentlich besseres Bild über die Volumenverhältnisse gebenden Verfahren von HINTZSCHE [4] und BUCHER [2] usw. anzuwenden, da die funktionellen Kernveränderungen innersekretorischer Drüsen nichts mit dem sogenannten rhythmischen Wachstum zu tun haben. Deshalb hatte es auch keine Bedeutung das tatsächliche Verhalten der Volummaxima aufzufindig zu machen. Für diese Zwecke ist es vollständig genügend einfach empirische Kurven der Kerndurchmesser aufzunehmen. Da bei den in Rede stehenden funktionellen Reaktionen der Nebennierenrinde die empirischen Variationskurven der Kerndurchmesser sich meist nur einfach nach rechts oder links mit sich selbst parallel verschieben, genügt es sogar in vielen Fällen als charakteristische Ziffer den Mittelwert der Kerndurchmesser in Betracht zu ziehen. — Die vorgelegten Befunde gründen sich auf einfache empirische Variationskurven der Kerndurchmesser — auf Grund der Messung von 200 Kernen je Tier und Rindengebiet, d. h. von 18 unbehandelten Kontrolltieren, 36 mit DOCA und 28 mit ACTH behandelten Versuchstieren insgesamt gemessenen 32 800 Kernen.

Zur übersichtlichen Darstellung der Verhältnisse erachten wir es jedoch als vollkommen genügend, die Veränderungen der Mittelwerts-Durchschnitte und ihre Streuungen in Abb. 1 und 2 anzugeben.¹

Untersuchungsergebnisse

Die Kernverhältnisse der unbehandelten Kontrollen waren für beide Serien, obwohl in verschiedenen Zeitpunkten ausgeführt, bemerkenswert konstant. In der DOCA-Serie hatten die Kontrolltiere einen mittleren Kerndurchmesser in der Zona glomerulosa von $4,72 \pm 0,18 \mu$ und der Zona fasciculata von $5,08 \pm 0,10 \mu$; in der ACTH-Serie in der Zona glomerulosa $4,70 \pm 0,13 \mu$ und der Zona fasciculata $5,21 \pm 0,14 \mu$.

Die auf DOCA-Behandlung eintretenden Kernveränderungen zeigt Abb. 1. Eine nennenswerte Abweichung zeigt lediglich die Zona glomerulosa, wogegen die Schwankungen der Kerngröße in der Zona fasciculata in den Spielraum der Kontrollen fielen. Die nach unseren bisherigen Kenntnissen zu erwartende Schrumpfung der Kerne entwickelt sich bei der von uns angewendeten Dosis im Laufe von etwa 2 Wochen. Dieser Veränderung geht jedoch zuerst eine initiale Kernschrumpfung und nachher eine Kernvergrößerung vorher. Die Schrumpfung der Kerne zeigt sich schon am Ende des ersten Tages nach der ersten Injektion. Sie klingt bis zum Ende des 4. Tages ab und geht in die bisher unbekannt entgegengesetzte Phase der Kernvergrößerung über, die ihren Höhepunkt am 5. Tage erreicht und gegen den 8. Tage abklingt um in die endgültige Schrumpfungsphase überzugehen. — Die Versuche mit DOCA wurden in zwei zeitlich gesonderten Serien ausgeführt, sie konnten jedoch ohne weiteres in eine Serie zusammengefügt werden, da sich die Kerndurchmesser in beiden Serien ganz gleich verhielten.

¹ Interessierten stellen wir auf briefliche Anforderung die Einzelkurven gerne zur Verfügung.

Die auf Verabreichung von ACTH eintretenden Kernveränderungen veranschaulicht Abb. 2. — Der Effekt verläuft für die beiden Zonen ziemlich parallel, mit dem Unterschied, dass besonders im Endeffekt die Abweichung in der Zona glomerulosa von der Norm ziemlich gering ist. Der bekannten und deshalb auch erwarteten Kernvergrößerung geht eine ähnliche, jedoch rascher ablaufende Schwankung der Kerngröße vorher. Nach einer ganz kurzen und

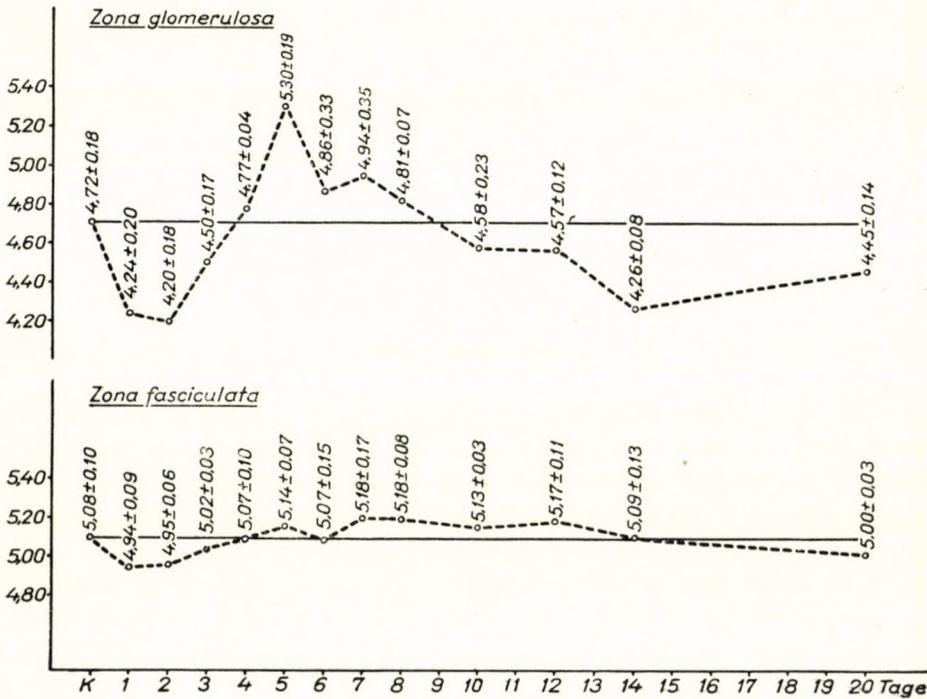


Abb. 1. Das zeitliche Verhalten der Veränderungen der Kerngröße in der Nebennierenrinde nach Verabreichung von DOCA. Auf der Abszisse ist die Zeitdauer der Behandlung in Tagen, auf der Ordinate sind die Mittelwerte der Kerndurchmesser in μ aufgetragen. K = Kontrollwerte; die ausgezogene waagerechte Linie zeigt das Niveau der Normalwerte, die unterbrochene Linie den Verlauf der Kerngrößenänderung an. Für die Zona glomerulosa ist die Herabsetzung der Kerngröße bei Anwendung des Studentischen »t« Tests am 2. Tage ($t = 4,802$; $p < 0,01$) und die Erhöhung der Kerngröße am 5. Tage ($t = 5,103$; $p < 0,01$) statistisch gesichert

unbestimmten Vergrößerung in der Zona fasciculata tritt in beiden Zonen eine Kernschrumpfung mit stärkster Ausprägung am 2. Tage ein, welche in der Zona fasciculata schon am 3., in der Glomerulosa erst am 5. Tage in Kernschwellung übergeht, die für die erstere bis zum 20. Tage praktisch unverändert anhält, in der letzteren jedoch stark zurückgeht.

Es muss bemerkt werden, dass das Körpergewicht der Tiere während der Versuchsdauer von dem der Kontrollen keine Abweichungen zeigte, ebenso,

wie auch das Gewicht der Hypophyse und Nebennieren in den Gruppen gleich blieb. Auf DOCA zeigten die Rindenlipide keine verwertbare Änderung; auf ACTH entwickelten sich die bekannten Erscheinungen, wie Verringerung des Lipoidgehaltes, Verengung der sudanophoben Zone, und gleichmässige Verteilung der Lipide in der ganzen Rinde. Eine der Kerngrösse vergleichbare phasische Schwankung konnte nicht beobachtet werden.

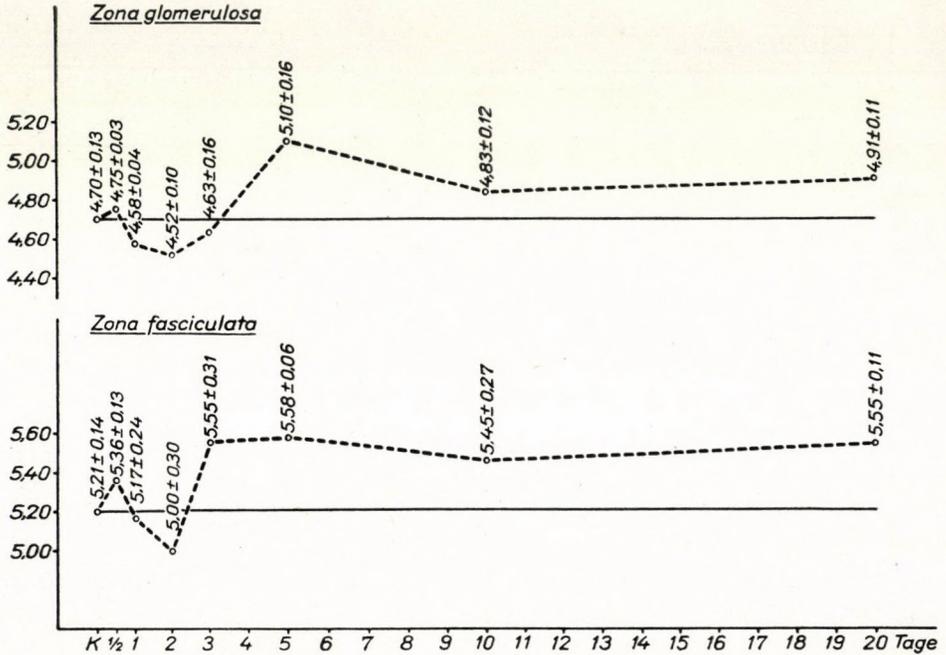


Abb. 2. Das zeitliche Verhalten der Kerngrössenveränderungen in der Nebennierenrinde nach Verabreichung von ACTH. Im übrigen wie Abb. 1. Für die Zona glomerulosa ist sowohl die Kernschrumpfung am 2. Tage ($t = 2,881$; $0,02 > p > 0,01$) als auch die Kernschwellung am 5. Tage ($t = 4,845$; $p < 0,01$) statistisch gesichert. — Für die Zona fasciculata ist wegen individueller zeitlicher Verschiebungen der beiden initialen Phasen (initiale Kernschwellung und Schrumpfung) die Veränderung statistisch nicht, die Kernschwellung dagegen vom 3. Tage an gesichert (5. Tag $t = 5,923$; $p < 0,01$)

Besprechung der Befunde

Die dargelegten Befunde zeigen, dass den für gewisse funktionelle Zustände der Nebennierenrinde charakteristischen Kerngrössenveränderungen z. T. mehrphasische Veränderungen vorhergehen, welche besonders bei kurzer Versuchsdauer schwere Irrtümer hervorrufen können. Die äusserst empfindliche und gut brauchbare variationsstatistische Aufnahme der Kerngrösse darf deshalb nie mechanisch gehandhabt werden, sondern es muss in entsprechenden Vorversuchen stets die richtige Versuchsdauer vorher ermittelt werden. Besonders Versuchszeiten, die dem Phasenwechsel nahe liegen können zu vollkommen irr tümlichen Schlüssen führen. Oder kann es (wie einmal in einer eigenen Ver-

suchsreihe) vorkommen, dass z. B. infolge peripherischer Denervation einer Nebenniere [3] die langsamere Reaktion des denervierten Organs zu genau entgegengesetzte Veränderungen an beiden Seiten führte.

Leider sagen die Befunde nichts über den diesen Erscheinungen zugrundeliegenden Vorgang aus. ALFERT und Mitarbeiter [1] zeigten an der Thyreoidea — welche Ergebnisse jedoch mutmässiglich auch auf andere innersekretorische Organe verallgemeinert werden können, — dass sich Kernvolumen und Gehalt des Kerns an nicht basischen Eiweissstoffen ziemlich parallel verhalten. Abgesehen von prämitotischer Kernschwellung, welche mit einer Erhöhung des Desoxyribonukleinsäuregehaltes einhergeht, zeigen andere Kernschwellungen eine Vermehrung der nicht histonartigen Eiweisskörper; sie beruhen also auf Eiweissynthese und können nicht einfach mit Wasseraufnahme erklärt werden. Kernschrumpfung (z. B. bei Hypophysektomie) gehen mit einer Verminderung des Eiweissgehaltes neben Beibehaltung des Wasser-, Desoxyribonukleinsäure- und histonartigen Eiweisskörper-Gehaltes einher.

Es ist freilich schwer vorzustellen, welche Art der Eiweissynthese mit einer phasischen Verkleinerung des Kernvolumens verknüpft sein dürfte. Man muss vielmehr daran denken, dass dabei zwei entgegengesetzt auf das Kernvolumen wirkende Prozesse: z. B. Abgabe und Synthese von Eiweissstoffen zeitweilig aus dem Gleichgewichte geraten und erst nach einer oder mehrfachen gegenseitiger Überschneidung sich das für den Endeffekt charakteristische Gleichgewicht einstellt. Ähnliche Vorgänge wurden besonders für Nervenzellen durch HYDÉN [5] beobachtet.

Unsere Versuche sind in gewissem Widerspruch mit Befunden von MILLER [7] nach denen auch das Kernvolumen der Zona fasciculata durch DOCA-Behandlung herabgesetzt werden sollte. Allerdings war dabei die verabreichte Dosis etwa doppelt so gross und auch die Versuchszeit länger. Mutmasslich spielt bei den widersprechenden Angaben auch die allzu geringe Zahl der abgemessenen Kerne (20—120) eine Rolle. —

Unsere Befunde deuten jedenfalls auf eine engere Beziehung zwischen DOCA und Zona glomerulosa.

Zusammenfassung

Die zeitliche Dynamik der Kerngrössenveränderungen in der Nebennierenrinde auf DOCA und ACTH wurde mittels variationsstatistischer Methoden verfolgt.

Auf Behandlung mit DOCA tritt lediglich in der Zona glomerulosa in den ersten 3 Tagen der Behandlung eine Schrumpfung, bis zum 8—9. Tage eine Schwellung und erst nachher die bekannte Schrumpfung der Kerne ein. Die Zona fasciculata zeigt dabei keine charakteristische Änderung der Kerngrössen.

Auf ACTH-Behandlung reagieren Zona glomerulosa und fasciculata annäherd parallel, letztere jedoch deutlicher und anhaltender. Nach einer kurzen initialen Vergrösserung (nur in der Zona fasciculata) tritt Kernschrumpfung ein, die in der Zona fasciculata nach 3 Tagen, in der Glomerulosa nach 5 Tagen in eine besonders bei der Zona fasciculata beständige Kernschwellung übergeht.

Die diesen Erscheinungen mutmasslich zugrundeliegenden Vorgänge werden kurz besprochen.

LITERATUR

1. ALFERT, M.—H. A. BERN—R. H. KAHN: (1955) Hormonal influence on nuclear synthesis IV. Karyometric and Microspectrophotometric studies of Rat thyroid nuclei in different functional states. *Acta Anat.* 23. 185. — 2. BUCHER, O.—R. GATTIKER: (1952) Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen V. Mitt. Beitrag zur statistischen Verarbeitung des Zahlenmaterials. *Ztschr. Zellforsch. mikr. Anat.* 37. 56. — 3. HALÁSZ, B.—L. SZÖLLÖSSY: (1953) Einfluss peripherischer Denervation auf den hypothalamischen Kernvergrößerungseffekt der Zona fasciculata der Nebennierenrinde. *Acta Morph. Hung.* 3. 1. — 4. HINTZSCHE, E.: Zit. nach ARNOLD, A.: (1951) Beitrag zur quantitativen Histologie des Alloxandiabetes der Albinoratte: die Kerngrößen der Inselzellen. *Acta Anat.* 12. 396. — 5. HYDÉN, H.: (1950) Spectroscopic studies on nerve cells in development, growth, and function. *Genetic Neurology*, ed. P. Weiss. University of Chicago Press, S. 177. — 6. JACOB, W.: (1935) Die Zellkerngröße beim Menschen. Ein Beitrag zur quantitativen Cytologie. *Ztschr. mikr. anat. Forsch.* 38. 161. — 7. MILLER, R. A.: (1954) Quantitative changes in the nucleolus and nucleus as indices of adrenal cortical secretory activity. *Amer. J. Anat.* 95. 497.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ ОБЪЕМА ЯДЕР КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ВО ВРЕМЕНИ

Б. ХАЛАС

Динамика изменений во времени ядер коры надпочечников на действие ДОКА и АКТГ была исследована посредством метода вариационной статистики.

На действие ДОКА происходит сморщивание лишь в клубочковой зоне в первые три дня обработки, до 8—9 дня имеет место набухание, а только после этого появляется общеизвестное сморщивание ядер. *Zona fasciculata* не показывает характерных изменений величин ядер.

На действие обработки АКТГ *zona glomerulosa* и *fasciculata* реагируют почти параллельно, однако в последней реакция выразительнее и длительнее. После короткого начального увеличения (только в *zona fasciculata*) происходит сморщивание ядер, которое в *zona fasciculata* после трех дней, а в *zona glomerulosa* после пяти дней переходит в набухание ядер. Особенно продолжительно набухание в *zona fasciculata*.

Авторы вкратце обсуждают процессы, которые предположительно лежат в основе вышеописанных явлений.

CHRONOLOGICAL DEVELOPMENT OF THE CHANGES IN CELL NUCLEAR VOLUME IN THE ADRENAL CORTEX

B. HALÁSZ

The chronological development of the changes in cell nuclear volume taking place in the adrenal gland upon the action of DOCA and ACTH has been studied with statistical evaluation of nuclear size.

On the effect of DOCA the nuclear volume underwent a change in the glomerular zone of the cortex only. On the first 3 days it decreased, then up to the 8th—9th day it increased, to decrease again subsequently. Nuclear volume in the fasciculate zone was not affected by treatment with DOCA for 20 days.

To treatment with ACTH, both the glomerular and the fasciculate zone responded in an approximately identical manner, the latter zone more markedly and more lastingly. After an initial transitory swelling of the nuclei in the fasciculate zone, in both zones shrinkage followed which in the fasciculate zone passed into swelling of the nucleus on the 3rd and in the glomerular zone on the 5th day. The swelling persisted longer in the fasciculate zone.

The factors which may have a role in the development of nuclear size variations are briefly discussed.

Dr. Béla HALÁSZ, Pécs, Dischka Gy. u. 5., Ungarn