

Aus den Anatomischen Instituten Hamburg (Direktor: Prof. Dr. K. ZEIGER)
und Gießen (Direktor: Prof. Dr. F. WAGENSEL).

DIE WIRKUNG DER HYPOPHYSEKTOMIE AUF DAS ZELLBILD
DER INSELN BEI RATTEN UND MEERSCHWEINCHEN.

Von

H. FERNER und E. TONUTTI.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. September 1952.)

Daß die Hypophyse bei der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels eine sehr bedeutsame Rolle spielt, wird durch zahlreiche klinische Beobachtungen und experimentelle Untersuchungen bewiesen (HOUSSAY 1930, YOUNG 1937, BARTELHEIMER 1940, KATSCH 1942 u. a.). Fast ein Dutzend von Faktoren oder Hormonen der Hypophyse, welche auf den Kohlenhydratstoffwechsel direkt oder indirekt einwirken sollen, sind von den einzelnen Untersuchern, zum Teil mit gegensinnigen Effekten, postuliert worden: ein diabetogenes Prinzip von HOUSSAY, ein insulotropes Hormon von ANSELMINO und HOFFMANN, kontrainsuläres Hormon von LUCKE, ein Wachstumshormon von EVANS, ein alphacytotroper Faktor von FERNER u. a. m. Erst kürzlich haben MEYTHALER und KÜHNLEIN (1951) die widersprechenden Ergebnisse zusammengestellt, welche zum Teil auf die verschiedenen Spezies zu beziehen sind, die für die Versuche herangezogen wurden.

Schon BARGMANN (1939) wies in seinem Handbuchbeitrag darauf hin, daß „die Morphologie der Inselzellen in ihrer etwaigen Abhängigkeit vom Hypophysenvorderlappen bisher kaum beachtet wurde“. Während Injektionen von Extrakten des Hypophysenvorderlappens, in hohen Dosen und längere Zeit hindurch täglich verabreicht, auch zytologische Veränderungen der Inselzellen und des Zellbildes der Inseln überhaupt bewirken können (RICHARDSON 1939/40, HAM und HAIST 1941), sind solche nach Hypophysektomie bisher nicht mitgeteilt worden. Bei hypophysektomierten Tieren besteht eine starke Neigung zur Hypoglykämie und eine auffallende Insulinempfindlichkeit. Die Mehrzahl der Untersucher konnte nach Hypophysektomie an den Inseln aber keine Veränderungen feststellen (vgl. WILDER 1948). Eine „Hyper-trophie der LANGERHANSschen Inseln“ (zahlenmäßige Vermehrung) ist hingegen von ADAMS und WARD (1936) bei Molchen, von KRICHESKY (1936) bei Ratten und von BAKAY jr. (1940) bei Hunden beschrieben worden, doch sind die Ergebnisse mit starken Bedenken in methodischer Hinsicht belastet und bei der normalen Schwankungsbreite

der Inselzahl nicht überzeugend. So fand BENSLEY (1911/12) bei genauester Zählung mit Hilfe seiner Supravitalmethode bei über 60 Meer-schweinchen die Inselgesamtzahl zwischen 13318 und 56722 bei verschiedenen Tieren schwankend. Es bestehen also schon Unterschiede bei normalen Tieren in einem Ausmaße, daß die Maximalzahlen ein Mehrfaches der Minimalzahlen ausmachen können (über 300%). Wenn nun BAKAY jr. (1940) so vorging, daß bei Hunden „in mehreren nebeneinander liegenden Gesichtsfeldern die Inseln gezählt wurden und daraus das Mittel berechnet wurde“, dann ist das Ergebnis aus methodischen Gründen fraglich, da die Gesamtinselzahl aus *einzelnen* Schnitten nicht zu beurteilen ist. Da BAKAY überdies eine „Vermehrung der Inseln“ zwischen 0% und 120% bei hypophysektomierten Hunden gefunden haben will, können daraus — da innerhalb der normalen Schwankungsbreite liegend — keine Schlüsse gezogen werden.

Da die bisherigen Ergebnisse auf quantitativer Basis unbefriedigend sind, haben wir unser Augenmerk auf die qualitative Beurteilung der Inseln im Hinblick auf etwaige zytologische Veränderungen der A-Zellen und B-Zellen nach Hypophysektomie und die Beurteilung der AB-Relation gerichtet. Erschien es doch möglich, daß durch den Fortfall der Hypophyse *nur eines der beiden Systeme* des Inselapparates zumindest vorwiegend betroffen würde. In diesem Falle brauchten unspezifische Färbungen keine Alteration der Inseln erkennen lassen und nur die Differenzierung des Zellbildes könnte eine Veränderung aufdecken. Selbstverständlich ist die genaue Kenntnis des normalen Zellbildes der Inseln und der normalen AB-Relation bei der betreffenden Tierart für eine Beurteilung unerlässlich (FERNER 1951).

Die AB-Relation, also das zahlenmäßige Verhältnis der A- und B-Zellen, ist zwar im einzelnen Inselschnitt sehr variabel — man beurteilt ja jeweils nur eine Scheibe aus der Insel —, bei Auszählung einer Anzahl von Inselschnitten (30—50) und Errechnung des Durchschnittes für die betreffende Spezies aber auffallend konstant. Dabei ist es gleichgültig, aus welchem Teil des Pankreas man ein Stück zur Untersuchung heranzieht, da die AB-Relation in allen Teilen der Drüse gleichbleibend gefunden wird (HULTQUIST 1948).

Der geschilderte Sachverhalt erfordert zunächst, kurz das normale Zellbild der Inseln bei der Ratte zu charakterisieren.

In den Inseln der ausgewachsenen Ratte umgeben die A-Zellen als lückenhafte Randschale einen großen Komplex zentral liegender B-Zellen. Während sich die Kerne der beiden Zelltypen nach Größe, Form und Chromatinstruktur kaum unterscheiden, ist der Zelleib der A-Zellen deutlich kleiner als der der B-Zellen. Deshalb liegen an der Inselperipherie die Zellkerne dichter (den A-Zellen zugehörig), was schon an gewöhnlichen Hämatein-Eosinschnitten auffällt. Im übrigen sind die

A- und B-Zellen durch die spezifische Granulierung ihres Zelleibes charakterisiert. Bei der Albinoratte machen die A-Zellen 23%, die B-Zellen entsprechend 77% der Inselzellen aus (FERNER 1952). Nach den Zählungen von GROBÉTY (1948) schwankte der A-Zellenanteil bei 4 untersuchten Tieren zwischen 13,3% und 23%.

Zur Untersuchung gelangten neben Normaltieren, die teilweise dem gleichen Inzuchtstamm angehörten, 22 ausgewachsene weiße Ratten, welche hypophysektomiert wurden und bis zur histologischen Untersuchung verschieden lange lebten. Die Überlebenszeiten betragen 1 Woche bis 9 Monate.

Die Fixierung der Bauchspeicheldrüsen erfolgte in BOUINScher Flüssigkeit. Die Inselzellen wurden mit der Methylblau-Eosinfärbung nach TONUTTI und GROBÉTY (1945) sowie mit der Azanfärbung mit „Voroxydieren“ nach GOMORI differenziert.

Die Ratten wurden bei einem Gewicht von etwa 140 g hypophysektomiert. Die Vollständigkeit der Hypophysektomie ist durch die Beobachtung des Wachstumsstillstandes und nach Tötung der Tiere durch Kontrolle der Sella, weiter durch den Nachweis der Atrophie der Gonaden und der Nebennieren gesichert worden.

Eine Veränderung der Inselzahl oder des Inselvolumens war nach der Hypophysenentfernung nicht augenscheinlich. Bei den hypophysektomierten Ratten ist die AB-Relation nicht durch Zählung der Zelltypen bestimmt worden, es wurde vielmehr in größerer Weise die Ausbildung und die Dicke der A-Zellenschalen an der Inselperipherie im Vergleich zu den Normaltieren in mittleren und größeren Inseln beurteilt. Ein Unterschied war daher von vornherein nur bei stärkeren Verschiebungen zu erwarten.

In den ersten Wochen nach der Hypophysenentfernung zeigen die Inselzellen gegenüber den normalen Verhältnissen zytologisch keine Veränderungen. Mit einem Monat nach der Operation beginnend ist eine zunehmende Reduktion der A-Zellenschalen an der Inselperipherie festzustellen, die nach etwa 3 Monaten ihr Maximum erreicht. Bei einigen Tieren dieser Gruppe waren die A-Zellen überhaupt verschwunden oder nur noch in kleinen Resten vorhanden. Auch bei 2 Tieren, welche erst 6 Monate nach der Hypophysektomie getötet worden waren, konnten in den Inseln nur vereinzelte A-Zellen angetroffen werden; die gewohnten A-Zellenrandschalen waren verschwunden. Die B-Zellen zeigten keine auffallenden Veränderungen gegenüber den normalen Verhältnissen. Um so überraschender war es, daß bei solchen Tieren, welche 7 Monate und später nach der Hypophysektomie getötet wurden, das Zellbild wieder normal erschien. An der Inselperipherie waren in den mittleren und größeren Inseln überall A-Zellenschalen in gewohnter Ausbildung vorhanden. Diesen Befund vermögen wir zunächst nicht zu erklären, zumal die Anzahl unserer Tiere mit langen Überlebenszeiten noch zu gering ist. Indessen muß betont werden, daß auch bei einzelnen Ratten 3 Monate

nach Hypophysektomie das Zellbild der Inseln nicht verändert erschien und die A-Zellenschalen der Inseln mit Sicherheit nicht reduziert waren.

Im Gegensatz zu den nicht ganz einheitlichen Befunden bei Ratten waren die Veränderungen des Zellbildes der Inseln bei *Meerschweinchen* bei allen operierten Tieren eines bestimmten Intervalles vorhanden. Zunächst sei wieder eine kurze Charakterisierung des normalen Zellbildes

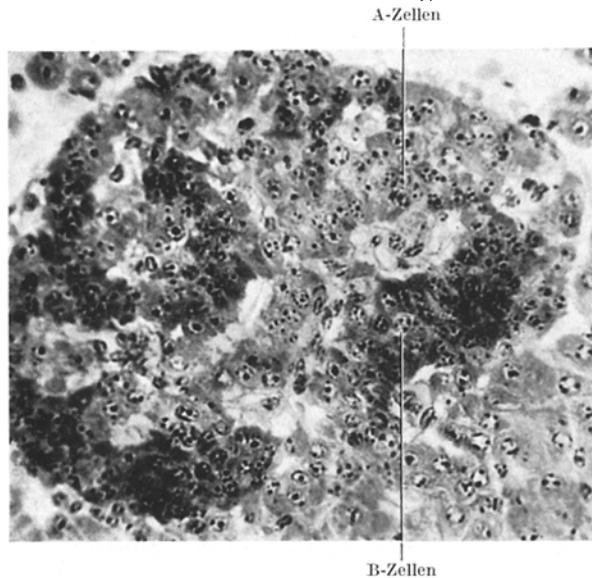


Abb. 1. LANGERHANSsche Insel von einem ausgewachsenen Meerschweinchen. Normales Zellbild. A-Zellen hell mit großen ovalen Kernen, B-Zellen dunkel mit dichtliegenden runden Kernen. (Mikrophoto Obj. Zeiß 40 ×, Ok. Periplan 8 ×, Vergr. 350 ×.)

der Inseln beim Meerschweinchen vorausgeschickt. Hier sind die Zelleiber der A-Zellen deutlich größer als die der B-Zellen. Auch die Kerne der A-Zellen sind größer, oval und bläschenförmig, d. h. relativ chromatinarm. Die B-Zellenkerne hingegen sind kleiner, rund, dunkler gefärbt und eng zusammenliegend (Abb. 1). Auch die topische Verteilung der A-Zellen ist anders als bei der Ratte. Die A-Zellen liegen beim Meerschweinchen nicht als „Schale“ an der Inselperipherie, sondern säumen die Kapillaren als unvollständiges Röhrensystem, so daß sie regelmäßig sowohl im Zentrum als auch an der Peripherie der Inseln anzutreffen sind (Abb. 1).

Unter normalen Bedingungen machen die A-Zellen beim ausgewachsenen Meerschweinchen ziemlich genau 20%, die B-Zellen 80% der Inselzellen aus. Zu den gleichen Ergebnissen kam JOHNSON (1950); die Autorin gibt 20,7%—22,2% für die A-Zellen beim Meerschweinchen an.

Es wurden 19 Meerschweinchen im Gewicht von 250—300 g hypophysektomiert und 1 Woche bis 6 Monate am Leben erhalten. Ein einzelnes Meerschweinchen ist erst 19 $\frac{1}{2}$ Monate nach der Hypophysektomie getötet worden. Die Fixierungs- und Färbetechnik war die gleiche wie bei der Ratte.

Bei den operierten Meerschweinchen waren die A-Zellen schon 1 Monat nach Hypophysektomie in den mittleren und größeren Inseln deutlich vermindert oder bis auf vereinzelte völlig verschwunden. Es wurden

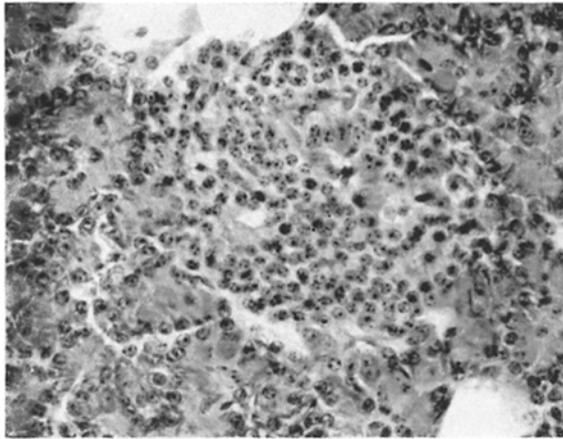


Abb. 2. LANGERHANSsche Insel von einem Meerschweinchen 1 Monat nach Hypophysektomie. Die Insel besteht nur aus B-Zellen mit den typischen dichtliegenden runden Kernen. Technik und Vergrößerung wie Abb. 1.

jeweils annähernd gleich große Inseln von Normaltieren und operierten Tieren verglichen, da die kleinen Inseln unter 60 μ Durchmesser schon normalerweise meist überhaupt nur aus B-Zellen bestehen.

Während die voluminösen A-Zellen bei Normaltieren auf größere Strecken hin die Kapillaren säumen und große Teile der Inselfläche einnehmen (Abb. 1), findet man 1 Monat nach der Hypophysenentfernung in vielen auch großen Inseln keine A-Zellen mehr, in anderen nur vereinzelte (Abb. 2). Die A-Zellen selbst, soweit erhalten, bzw. ihre Zelleiber sind verschmälert, länglich, und kleiner als in den normalen Inseln. Auch die Kerne sind verkleinert und erscheinen näher aneinander gerückt. Einzelne A-Zellenkerne sind nicht mehr bläschenförmig, sondern haben eine verdichtete Chromatinstruktur. Der Granulagehalt der atrophischen A-Zellen ist aber sicherlich nicht vermindert, eher vermehrt, der Zelleib daher hyperchromatisch.

An den B-Zellen fällt keine Abweichung vom normalen zytologischen Bild auf.

Bei der Auszählung der AB-Relation jeweils an 50 mittleren und größeren Inseln und Errechnung des Durchschnittes fanden sich nur 5—10% A-Zellen gegenüber einem Normalwert von 20%.

Ein sehr auffallender Befund ist bei Meerschweinchen 2 $\frac{1}{2}$ Monate nach der Hypophysektomie zu erheben. Auch hier sind die A-Zellen in starkem Maße zahlenmäßig vermindert, die noch vorhandenen atrophisch und in manchen Inseln praktisch völlig verschwunden, doch ist auch ein großer Teil der B-Zellen verändert. Viele B-Zellenkerne sind

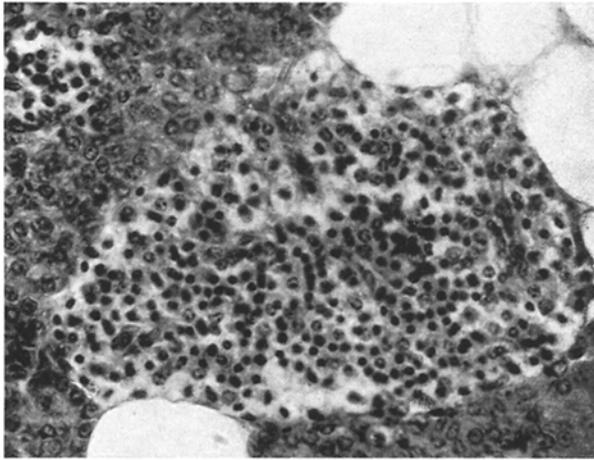


Abb. 3. LANGERHANSISCHE Insel vom Meerschweinchen 10 Wochen nach Hypophysektomie. Die Insel besteht nur aus B-Zellen, viele mit pyknotischen kleinen Kernen. Technik und Vergrößerung wie Abb. 1.

pyknotisch, stark verkleinert und sehr dunkel gefärbt (Abb. 3). Diese Kernveränderungen betreffen die Mehrzahl der B-Zellen. Infolge der intensiven Färbbarkeit der B-Zellenkerne springen auch die kleinen und kleinsten Inseln, die nur aus B-Zellen bestehen, bei der Durchmusterung der Schnitte sofort ins Auge (Abb. 3). Überhaupt ist die ganze Struktur der Inseln verändert. Es scheint somit, daß die B-Zellenveränderungen der Atrophie und Reduktion der A-Zellen um einige Wochen nachfolgen.

Merkwürdigerweise fanden wir nun 4 $\frac{1}{2}$ —5 Monate nach der Hypophysektomie und später wieder wie bei der Ratte ein weitgehend normalisiertes Zellbild der Inseln ohne bemerkenswerte Abweichungen in qualitativer und quantitativer Hinsicht. Bei einem Tier, das 19 $\frac{1}{2}$ Monate nach der Hypophysenentfernung lebte, waren in den Inseln mächtige A-Zellenkomplexe vorhanden (Abb. 4). Die A-Zellen selbst waren voluminös, mit typischen bläschenförmigen Kernen und zahlenmäßig eher vermehrt als vermindert.

Zusammenfassend ergibt sich, daß nach Hypophysektomie (einen Monat nach Operation) in den Inseln zunächst eine Atrophie und eine zahlenmäßige Verminderung allein der A-Zellen festzustellen ist. In extremen Fällen bestehen dann die Inseln nur noch aus B-Zellen, da die A-Zellen in einzelnen Fällen praktisch völlig verschwunden sind. Dann erscheinen die Inseln bei gewöhnlichen Färbungen „normal“, nur

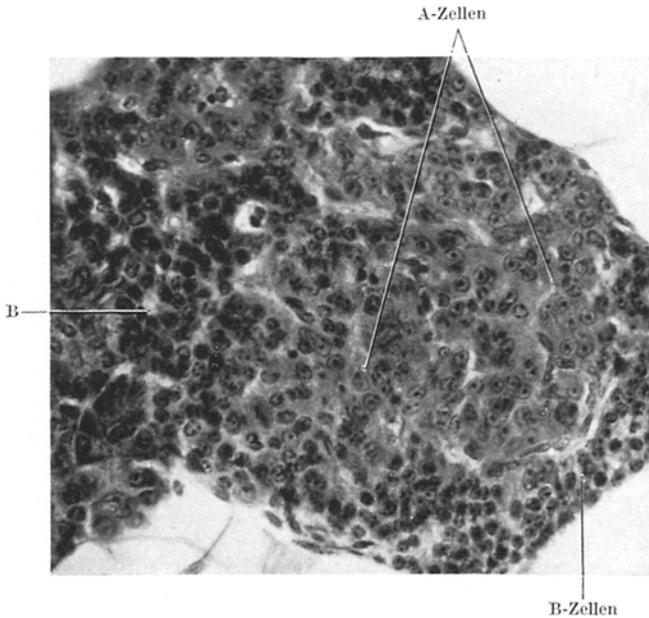


Abb. 4. LANGERHANSsche Insel vom Meerschweinchen 19 $\frac{1}{2}$ Monate nach Hypophysektomie. Große Teile der Inseln werden von A-Zellen eingenommen, am Rand B-Zellen. Technik und Vergrößerung wie Abb. 1.

die Zelldifferenzierung vermag die charakteristische Veränderung aufzudecken. Bei Meerschweinchen werden einige Wochen später auch die B-Zellen in Mitleidenschaft gezogen. Ein Großteil ihrer Kerne wird klein und pyknotisch gefunden. 4 $\frac{1}{2}$ Monate nach Hypophysektomie wird bei Meerschweinchen und 6 Monate und später bei Ratten wieder ein normales Zellbild der Inseln angetroffen.

Diese Ergebnisse zeigen zwar, daß die zelluläre Zusammensetzung des Inselapparates von hypophysären Einflüssen abhängig ist, erlauben aber für sich allein noch nicht zu entscheiden, ob diese Einflüsse direkter oder indirekter Natur sind.

Literatur.

ADAMS, A. E., and E. N. WARD: *Endocrinology* **20**, 496 (1936). — BAKAY jr., L. v.: *Pflügers Arch.* **243**, 733 (1940). — BARGMANN, W.: Die LANGERHANSschen

Inseln des Pankreas. In v. MÖLLENDORFFS Handbuch der mikroskopischen Anatomie, Bd. VI/2. 1939. — FERNER, H.: Virchows Arch. **319**, 390 (1951). — Das Inselsystem des Pankreas. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — GROBÉTY, J.: Acta anat. (Basel) **3**, 194 (1947). — HAM, A. W., and R. E. HAIST: Amer. J. Path. **17**, 787 (1941). — HULTQUIST, G. T., M. DAHLÉN u. C. G. HELANDER: Schweiz. Z. Path. u. Bakter. **11**, 570 (1948). — JOHNSON, D. D.: Endocrinology **46**, 135 (1950). — KRICHESKY, B.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **34**, 126 (1936). — MEYTHALER, F. u. E. KÜHNLEIN: Ärztl. Forsch. **5**, 159, 213, 273 (1951). — RICHARDSON, K. C.: Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **128**, 153 (1940/41). — SELYE, H.: Textboock of Endocrinology. Montreal 1947. — TONUTTI, E., u. J. GROBÉTY: Histophysiologie des îlots de Langerhans: Transformation cellulaire sous l'influence de l'Alloxan. 11. Tagg Schweiz. Anat., Lausanne 1945. Ref. Schweiz. med. Wschr. **1946**, 787. — WILDER, J.: Amer. J. Digest. Dis. **15**, 183 (1948).

Professor Dr. H. FERNER,
Anatomisches Institut Hamburg, Schottmüllerstr. 1.