

sozusagen vollkommen ausgefüllt erscheint. Sowohl die Neutralfette wie auch die Cholesterinfette sind hochgradig vermehrt.

Während auf die Einwirkung der lang dauernden und energischeren NH_4OH -Behandlung in der NNR häufig kleinere oder größere nekrotische Herde in der Zona reticularis und Zona fasciculata nachzuweisen sind, konnten wir bei der Behandlung mit NH_4Cl derartige Herde niemals auffinden. Der Mangel der nekrotischen Herde ist offenbar damit zu erklären, daß die verhältnismäßig kleine Dosis NH_4Cl keine so kräftige Wirkung auf den Organismus ausgeübt hatte, wie das in den früheren Versuchen verwendete NH_4OH .

Als auffallende Erscheinung ist zu erwähnen, daß die Zona reticularis der hypertropischen Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Tiere in den meisten Fällen viel zellreicher bzw. kernreicher war als diese Nebennierenschicht der unbehandelten Kontrolltiere, oder der mit NH_4OH behandelten Tiere. Dies ist damit zu erklären, daß in dieser Schicht bei den NH_4Cl -Tieren wesentlich mehr Zellteilungsfiguren zu sehen waren als in den hypertropischen Nebennieren der NH_4OH -Tiere. Dazu kommt noch die dunklere Färbung bzw. der größere Chromatinreichtum der Zellkerne in der Zona reticularis und fasciculata. Hervorzuheben ist noch, daß bei jenen Kaninchen, in deren Nebennieren die Zona reticularis besonders breit, zellreich und lipoidreich ist und dabei die Zellkerne Chromatinreichtum aufweisen (dunkel gefärbte große Rindenzellkerne), das Fettgewebe stets in größeren Mengen zu finden ist als bei den Tieren mit verhältnismäßig schmalerer und weniger lipoidreicher Zona reticularis und Zellkernen mit geringerem Chromatinreichtum. Dieser Befund scheint im Einklang mit unseren früheren Beobachtungen dafür zu sprechen, daß der Fettstoffwechsel des Organismus (Speicherung, Mobilisierung) in erster Linie mit der Funktion der Zona reticularis der Nebenniere zusammenhängt. Zur befriedigenden Klärung dieser Frage bedarf es weiterer Untersuchungen.

19. Biologischer Nachweis der gesteigerten Rindenfunktion der durch NH_4Cl -Behandlung hypertrophischen Nebennieren.

Im ersten Teil dieser Abhandlung berichteten wir über unsere frühere Feststellung, wonach auf die Einwirkung der 3 Monate dauernden NH_4OH -Behandlung die vergrößerten Nebennieren etwa sechsmal mehr Rindenhormon enthielten als die Nebennieren der normalen (unbehandelten) Kaninchen. Die Nebennieren der so behandelten Tiere üben demnach eine zumindest 6mal stärkere Rindenfunktion aus. Da die im vorigen Abschnitt besprochene NH_4Cl -Behandlung ebenfalls eine bedeutende NNR-Hypertrophie zur Folge hat, lag es auf der Hand, den zugleich auftretenden gesteigerten Fettansatz ebenfalls mit der gesteigerten Funktion der hypertropischen NNR zu erklären. Diese Erklärung kann aber erst dann zu Recht bestehen, wenn es auch hier gelingt, die gesteigerte Rindenfunktion der durch die NH_4Cl -Behandlung vergrößerten Nebennieren biologisch nachzuweisen. Die folgenden Versuche befassen sich mit diesem Gegenstand.

Das Gewicht beider Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten 30 Kaninchen schwankte zwischen 70 und 128 cg und betrug im Durchschnitt 97,66 cg; das Gewicht sämtlicher Nebennieren 29,32 g. Wie wir früher festgestellt hatten, beträgt das Gewicht beider Nebennieren von 100 unbehandelten (Kontroll-) Kaninchen ähnlichen Anfangsgewichtes 20—60 cg, im Durchschnitt 42,34 cg und das Gesamtgewicht 42,34 g. Nach Ausführung der entsprechenden Berechnungen zeigt sich, daß die Nebennieren der 30 mit NH_4Cl behandelten Kaninchen im Vergleich zu den normalen um 131 % zugenommen haben. Von den hypertropischen Nebennieren mit dem Gesamtgewicht von 29,32 g wurden 4,30 g zu histologischen Untersuchungen verwendet, aus den restlichen 25,2 g stellten wir — im Sinne der früheren Beschreibung — nach dem Verfahren von SWINGLE u. PFIFFNER 16,66 ccm eines wässrigen Extraktes her, der je ccm eine 1,5 g frischer, hypertrophischer Nebenniere entsprechende Menge Rindenhormons enthielt. Dabei gingen wir in der gleichen Weise vor wie bei der Herstellung des Rindenextraktes aus den vergrößerten Nebennieren der NH_4OH -Tiere, bzw. der unbehandelten Kontrollen. Zwecks Konservierung wurde dem Extrakt 0,1 % Benzoesäure beigefügt und derselbe stets im Eisschrank gehalten.

Tabelle 18.

Lebensdauer der unbehandelten (Kontroll-) und der nebennierenlosen, infantilen, weißen Mäuse behandelt mit dem Rindenextrakt aus den nach NH_4Cl -Behandlung hypertrophisierten Nebennieren von Kaninchen.

Lebensdauer nach der Nebennierenexstirpation	Kontroll-Mäuse	Mäuse, behandelt mit dem Rindenextrakt der NH_4Cl -Kaninchen				
		Konzentration der Extrakte				
		0·09	0·13	0·20	0·30	0·45
Nach 1 Tag	—	—	—	—	—	—
Nach 2 Tagen	1	—	—	—	—	—
„ 3 „	2	—	—	—	—	—
„ 4 „	2	1	—	—	—	—
„ 5 „	—	—	1	—	—	—
„ 6 „	—	1	—	—	—	—
„ 7 „	—	1	—	—	—	—
Verendet am Leben geblieben	5=100%	3=60%	1=20%	0	0	0
	0	2=40%	4=80%	5=100%	5=100%	5=100%

Den Wirkungswert des aus den nach NH_4Cl -Behandlung vergrößerten Nebennieren hergestellten Rindenextraktes bestimmten wir auch jetzt nach dem Verfahren von BOMSKOV und BAHNSEN. Zu diesem Zweck wurden 30 infantilen, 22—25 Tage alten weißen Mäusen mit einem Körpergewicht von 9—9,5 g beide Nebennieren in Äthernarkose entfernt. Am Tage nach der Operation teilten wir die Mäuse in 6 Gruppen zu je 5 epinephrektomierten Tiere ein. Die eine Gruppe blieb vollkommen unbehandelt und diente als Kontrolle. Die Tiere der übrigen 5 Gruppen erhielten vom Tage nach der Ope-

ration angefangen 7 Tage hindurch täglich zweimal, stets zur selben Zeit (morgens und abends um 8 Uhr) je 0,125 ccm, also täglich insgesamt 0,25 ccm NNR-Extrakt in jeweils verschiedenen Verdünnungen unseres oben beschriebenen Präparates. Die je Gruppe verschiedenen Verdünnungen bestanden aus 0,09 — 0,133 — 0,20 — 0,30 — 0,45 ccm Stammlösung, die mit physiologischer Kochsalzlösung auf je 1 ccm ergänzt war.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß unter den unbehandelten epinephrektomierten Tieren eins am 2., zwei am 3. und zwei am 4. Tage verendeten, d. h., binnen 4 Tagen alle 5 Mäuse (100 %).

Unter den mit der Verdünnung 0,09 behandelten Tieren verendete eine Maus am 4., eine am 6. und eine am 7. Tage (= 60 %); am 8. Tage nach der Operation waren noch 2 Tiere (= 40 %) am Leben.

Tabelle 19.

Lebensdauer der nebennierenlosen weißen Mäuse nach Abbruch der Behandlung, vorbehandelt mit dem Rindenextrakt der hypertrophischen Nebennieren von NH₄Cl-Kaninchen.

Die Zeit des Todes nach Abbruch der Behandlung	Mäuse, vorbehandelt mit dem Rindenextrakt der NH ₄ Cl-Kaninchen				
	Konzentration der Extrakte				
	0·09	0·13	0·20	0·30	0·45
Nach 1 Tag	1	—	—	—	—
Nach 2 Tagen	1	—	—	—	—
Nach 4 Tagen	—	1	1	—	—
Nach 5 Tagen	—	—	2	—	—
Nach 7 Tagen	—	1	—	1	—
Nach 9 Tagen	—	1	1	2	1
Nach 11 Tagen	—	1	—	—	1
Nach 13 Tagen	—	—	1	2	2
Nach 14 Tagen	—	—	—	—	1

Verdünnung 0,13: eine Maus (= 20 %) verendete am 5. Tage, 4 Mäuse (= 80 %) waren hingegen am 8. Tage noch am Leben.

Bei der Verwendung der Verdünnungen 0,20, 0,30 und 0,45 waren am 8. Tage nach der Operation noch sämtliche Mäuse (= 100 %) am Leben.

Die Versuchstiere wurden vom 8. Tage nach der Operation angefangen nicht mehr behandelt, jedoch weiter beobachtet. Wir wollten erfahren, wie lange die Tiere der einzelnen Gruppen nach Abbruch der Behandlung am Leben bleiben.

Nach unserer Beobachtung verendeten die zwei am Leben gebliebenen Tiere der Gruppe 0,09 1 bzw. 2 Tage nach Abbruch der Behandlung, die 4 (= 80 %) der überlebenden Tiere der Gruppe 0,13 am 4., 7., 9. und 11. Tag nach Aufhören der Behandlung. Die Tiere der Gruppe 0,20 verendeten am 4., 5., 9. und 13. Tag, jene der Gruppe 0,30 am 7., 9. und 13. Tag und die Tiere der Gruppe 0,45 am 9., 11., 13. und 14. Tag nach Abbruch der Behandlung.

In Anbetracht der verhältnismäßig geringen Zahl der Versuchstiere lassen sich aus obigen Ergebnissen noch keine endgültigen Schlüsse in Bezug auf das Überleben der Tiere ziehen. Es scheint jedoch, daß die Tiere umso später verenden, je konzentrierter die zur Behandlung verwendete Lösung ist. Dieses würde beweisen, daß der Organismus imstande ist, das im Überfluß einverleibte Rindenhormon zu speichern. Diesbezüglich erwarben wir anlässlich der Mästungsversuche an Schweinen weitere Erfahrungen, über die wir später im Einzelnen berichten wollen.

Zu erwähnen ist noch, daß die verwendeten Versuchsmäuse stets obduziert wurden, wobei wir uns von dem vollständigen Fehlen beider Nebennieren überzeugen konnten.

Da von den mit der Verdünnung 0,13 behandelten Tieren 80 % am 8. Tage nach der Entfernung der Nebennieren noch am Leben waren, darf man sagen, daß 0,25 ccm (Tagesdosis) der Verdünnung 0,13 eine corticodynamische Mäuseeinheit (CME) enthalten, d. h., daß 1 ccm dieser Verdünnung insgesamt 4 CME enthält. Demnach enthält 1 ccm der Stammlösung $4:0,13 = 30,76$ CME.

Zur Feststellung des „korrigierten Wirkungswertes“ werden die entsprechenden Berechnungen ausgeführt und auf Grund der Überlebensverhältniszahl der einzelnen Gruppen erhält man folgende Gruppenwirkungswerte:

Auf 40 % überlebende Tiere der Verdünnung	0,09 . . .	18,20 CME
„ 80 %	„ „ 0,13 . . .	30,18 „
„ 100 %	„ „ 0,20 . . .	32,00 „
	Mittelwert . . .	26,799 CME

Der Mittelwert der Gruppenwirkungswerte beträgt somit 26,799; abgerundet 26,80 CME, was dem korrigierten Wirkungswert entspricht.

Aus Obigem folgt, daß 1 ccm des aus den Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Kaninchen hergestellten Rindenextraktes 1,5 g hypertrophischer Nebenniere entsprechenden Wirkungsstoffs enthält, dessen korrigierter Wirkungswert 26,80 CME entspricht.

In 1 ccm des aus den Nebennieren normaler, unbehandelter Tiere gleichen Anfangsgewichtes hergestellten Rindenextraktes fanden wir hingegen nur 5,35 CME (korrigierter Wirkungswert). Diese Menge würde 1,5 g frischer nicht hypertrophischer Nebenniere entsprechen.

Diese Ergebnisse beweisen, daß die hypertrophischen Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Kaninchen ($26,80:5,35 =$) 5mal soviel (= 500 %) CME Rindenwirkungsstoff enthalten wie die Nebennieren gleichen Gewichtes der unbehandelten (Kontroll-) Tiere. Da jedoch die Nebennieren der 30 behandelten Kaninchen eine im Mittelwert 131 %ige Hypertrophie — im Vergleich zu den Nebennieren der Kontrollen — aufweisen, ist der absolute Wert der Vermehrung des Rindenwirkungsstoffes noch höher als das 5fache einzuschätzen. Geht man nämlich von der Gesamtmenge des in den 29,32 g schweren Nebennieren der 30 behandelten Kaninchen aus, gelangt man zu folgendem Ergebnis. Aus den insgesamt 29,32 g

betragenden hypertrophischen Nebennieren der 30 behandelten Kaninchen lassen sich 19,55 ccm einer Stammlösung herstellen, die je ccm soviel Wirkungsstoff enthält, wie 1,5 g frischer Nebenniere entspricht. Da 1 ccm dieser Stammlösung 26,80 CME enthält, enthalten die Nebennieren der 30 behandelten Tiere insgesamt $19,55 \times 26,80 = 523,94$ CME. Frühere Untersuchungen ergaben, daß das Gewicht sämtlicher Nebennieren von 100 unbehandelten, normalen Kaninchen 42,34 g beträgt, demnach beträgt das Gesamtgewicht der Nebennieren von 30 unbehandelten Kaninchen im Durchschnitt 12,70 g. Aus dieser Masse lassen sich $12,70:1,5 = 8,46$ ccm einer Stammlösung gewinnen, die je ccm so viel Rindenwirkungsstoff enthält, wie 1,5 g normaler Nebenniere entspricht. Da 1 ccm der Stammlösung 5,35 CME enthält, entspricht der aus sämtlichen Nebennieren der 30 unbehandelten Kaninchen hergestellte Rindenextrakt $8,46 \times 5,35 = 45,23$ CME. Dividiert man nun den gesamten Wirkungswert des aus den hypertrophischen Nebennieren der behandelten Tiere gewonnenen Rindenextraktes (523,94 CME) durch den Wirkungswert des aus normalen Nebennieren ebenso viel unbehalteter Kaninchen hergestellten Rindenextraktes (45,23 CME), so beträgt der Quotient 11,58; diese Zahl drückt die Zunahme des Wirkungswertes des aus den hypertrophischen Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Kaninchen hergestellten Rindenextraktes im Vergleich zu dem aus normalen Nebennieren hergestellten Rindenextrakt aus. Dieses sagt, daß die hypertrophischen Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Tiere 11,58mal mehr (= 1158 %!) Rindenwirkungsstoff enthalten als die Nebennieren der unbehandelten Kaninchen.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit jenen, die wir bei den NH_4OH -Versuchen erreicht haben, dann zeigt sich, daß durch die Behandlung mit NH_4Cl eine nahezu um 100 % stärkere NNR-Hyperfunktion zu erreichen ist als bei der Behandlung mit NH_4OH . Bei der Behandlung mit NH_4OH war nämlich die NNR-Funktion bei gleichem Drüisengewicht um das 3,5fache, bei Beachtung der Hypertrophie um das 6fache erhöht.

Man muß sich nun natürlich fragen, womit dieser große Unterschied zwischen den bei der Verwendung dieser beiden Ammoniakverbindungen erzielten Ergebnissen zu erklären ist, der in dem verschiedenen Gehalt an Rindenhormon zum Ausdruck gelangt. Unserer Ansicht nach wird diese Frage durch den Unterschied, den zwischen den histologischen Bildern der Nebennieren der auf verschiedene Art behandelten Kaninchen besteht, genügend beleuchtet. Wie schon erwähnt, konnten wir anlässlich der histologischen Untersuchungen folgendes finden. In den hypertrophischen Nebennieren der mit NH_4OH behandelten Tiere ließen sich in der Rindensubstanz öfter größere oder kleinere nekrotische (Fett-) Herde nachweisen, die in den vergrößerten Nebennieren der mit NH_4Cl behandelten Kaninchen niemals zu finden waren. Außerdem fanden sich in den NH_4Cl -Nebennieren, insbesondere in der Zona reticularis, auffallenderweise bedeutend mehr Zellteilungen und mehr Rindenzellen mit chromatinreicheren Kernen als in den NH_4OH -Nebennieren. In der NNR der NH_4Cl -Tiere ist demnach die Zahl und Vitalität der funktionierenden Zellen größer und deutlicher als bei den NH_4OH -Tieren;

die Folge davon ist die gesteigerte Funktion, sowie die erhöhte Produktion von NNR-Hormon. Eine weitere auffallende Erscheinung ist ferner die bedeutend stärkere Vermehrung der Cholesterinfette in der NNR der NH_4Cl -Nebennieren als in den NH_4OH -Nebennieren. Dieser Umstand wird auf Grund unserer früheren Untersuchungen, bei denen wir auf den Parallelismus zwischen Rindencholesterin und Rindenhormonproduktion hingewiesen haben, verständlich und erklärt die gesteigerte Bildung von Rindenhormon. Der Unterschied im histologischen Bild beruht offenbar darauf, daß die NH_4Cl -Behandlung schonungsvoller ist als die NH_4OH -Behandlung, denn einerseits verwendeten wir bei NH_4Cl geringere Gaben (weniger NH_3 !) als bei NH_4OH , andererseits schalteten wir bei der NH_4Cl -Behandlung behandlungsfreie Zeitabschnitte ein. Diese Tatsachen dürften u. E. den Unterschied in den Wirkungswerten (3,35 und 5,0) der zwischen den Rindenhormonextrakten besteht, hinreichend erklären, die einen wurden nämlich nach NH_4OH -die anderen nach NH_4Cl Behandlung aus dem gleichen Gewicht hypertrophischer Nebennieren und in demselben Volumen hergestellt. Der Unterschied, der zwischen der Zunahme des Gesamtwirkungswertes der beiden Extraktstoffe (5,80 und 11,58) zu finden ist, ist auf die Verschiedenheit der beiden Arten von Hypertrophie, die sich nach den beiden Behandlungsarten einstellt, zurückzuführen. Während sich nämlich die Nebennieren nach der NH_4OH -Behandlung im Mittelwert um 73,59 % vergrößert hatten, betrug dieser Wert nach der NH_4Cl -Behandlung 131 %. Die Ursache ist auch darin zu suchen, daß die NH_4Cl -Behandlung länger gedauert hatte (5 Monate) als die NH_4OH -Behandlung (3 Monate). Der Grad der sich auf die Wirkung der beiden Behandlungen entwickelnden Hypertrophie verhält sich interessanterweise nahezu ebenso wie die Zahl der Behandlungsmomente (73,59:131 ~ 3:5). Dieses zeigt, daß sich der höhere Grad der NNR-Hypertrophie, sowie die stärkere Aktivität der NNR-Zellen und somit die Steigerung der Hormonproduktion weniger durch die Verwendung großer Dosen, als viel mehr durch die längere Dauer der Behandlung mit verhältnismäßig kleineren Dosen erreichen lasse.

Die biologischen Untersuchungen beweisen daher, daß die infolge der Ammoniumchloridbehandlung hypertrophisch gewordenen Nebennieren nahezu 12mal mehr Rindenhormon enthalten als die Nebennieren der unbehandelten Tiere. Die Nebennieren der auf diese Weise behandelten Kaninchen üben also im Verhältnis zu normalen Verhältnissen eine nahezu 12 fach gesteigerte Rindenfunktion aus. Mit Hilfe der beschriebenen Ammoniumchloridbehandlung ist demnach eine um etwa 100 % stärkere NNR-Funktionssteigerung zu erzielen als durch die früher verwendete Ammoniumhydroxydbehandlung.