

Veränderungen der Ploidiestufe von Leberparenchymzellen nach Hypophysektomie

Die operative Entfernung der Hypophyse hat bei Versuchstieren nachweisbare Wirkung auf den Leberstoffwechsel und auf den Ablauf der Regeneration nach Teilhepatektomie¹⁻⁷. Um die Wirkung der Hypophysektomie auf die Ploidiestufe der Leberparenchymzellen zu untersuchen, wurden 43 männliche Wistar-Ratten (135 g Körpergewicht) hypophysektomiert und 1, 7, 14, 24 oder 31 Tage nach der Operation getötet.

Der Ploidiegrad der Leberparenchymzellen wurde zunächst diametrisch an 5 µm dicken, Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitten bestimmt. Pro Tier wurden 1500 Zellkerne gemessen, die zweikernigen Zellen wurden an Ausstrichpräparaten der dissoziierten Leber nach der Methode von ANDERSON^{8,9} ausgezählt.

Die Leber unbehandelter Tiere enthielt insgesamt 32% zweikernige Leberparenchymzellen. Schon 24 h nach der Hypophysektomie stieg der Prozentsatz auf 42% an und blieb bis zum 31. Tag des Untersuchungszeitraumes auf der gleichen Höhe.

Die zweikernigen Zellen der Kontrolltiere enthielten etwa 70% diploide und 30% tetraploide Kerne. Bis zum 14. Tag nach der Hypophysektomie änderte sich dieses Verhältnis zugunsten der tetraploiden, die von 30% auf 60% zunahm; am 31. Tag nach der Hypophysektomie entsprach das Verhältnis der tetraploiden zu den diploiden Kernen jedoch wieder dem der unbehandelten Kontrollleber.

Auch bei den einkernigen Leberparenchymzellen ergab sich in Abhängigkeit vom Zeitabstand nach der Operation eine Veränderung im Ploidiegrad. So betrug der Anteil mit diploidem Chromosomensatz 15,75% ($s = 2,87$) für die Kontrollleber und stieg nach Hypophysektomie kontinuierlich auf 19,4% (7. Tag) ($s = 5,2$) bzw. 22,8% ($s = 9,2$) (14. Tag) an. 24 Tage nach der Hypophysektomie betrug der Anteil der diploiden Zellen 41,6% ($s = 6,8$) und nach 31 Tagen 70,6% ($s = 6,2$).

66,3% der Kerne der Kontrolllebern waren tetraploid. Dieser Prozentsatz erhöhte sich in den ersten sieben Tagen nach der Operation auf 79,2% ($s = 7,8$) und fiel bis zum Ende des Versuches am 31. Tag auf 29,4% ($s = 5,5$) ab.

Die oktaploiden Zellkerne waren in den Kontrollen mit 19,8% ($s = 5,7$) vertreten, aber bereits 24 h nach der Operation fiel ihr Anteil auf 3% ($s = 2,7$) und hatte am 24. Tag nach der Operation den Wert 0 erreicht.

Insgesamt ergibt sich in allen einkernigen Zellen nach der Hypophysektomie eine Abnahme des Ploidiegrades gegenüber den Zellen der Leber unbehandelter Tiere.

Résumé. Après l'hypophysectomie, chez les rats Wistar mâles, le nombre des cellules mononucléaires tetraploïdes du foie s'abaisse de 70% à 28%, tandis que le nombre des octaploïdes diminue de 19,8% à 0%.

LUCIA WIEST

*Institut für Krebsforschung der Universität Wien,
1090 Wien (Österreich), 27. März 1969.*

- ¹ D. A. BASS, A. HOPE McARDLE und Y. GRISHAM, *Proc. Sci. biol. Med.* 89, 7 (1955).
- ² D. A. BASS und C. E. DUNN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 96, 175 (1957).
- ³ R. CARRIERE, *Anat. Rec.* 136, 175 (1960).
- ⁴ H. S. DiSTEFANO, D. A. BASS und H. F. DIERMEIER, *Endocrinology* 51, 386 (1952).
- ⁵ H. S. DiSTEFANO, H. F. DIERMEIER und J. TEPPERMAN, *Endocrinology* 57, 158 (1955).
- ⁶ C. NADAL und F. ZAJDELA, *Expl. Cell Res.* 42, 99 (1966).
- ⁷ F. J. SWARTZ, *Expl. Cell Res.* 48, 557 (1967).
- ⁸ N. G. ANDERSON, *Science* 117, 627 (1953).
- ⁹ P. M. G. AUBIN und N. L. R. BUCHER, *Anat. Rec.* 112, 797 (1952).

Bestimmung des DNS-Gehaltes in Zellkernen des Nervengewebes von *Helix pomatia* L. und *Planorbarius corneus* L. (Stylommatophora und Basommatophora, Gastropoda)

Seit langem ist bekannt, dass im Nervengewebe von Schnecken Zellen sehr unterschiedlicher Grösse vorhanden sind. Es wird angenommen, dass diese Grössenzunahme durch Endomitose zustande kommt^{1,2}. Mit Hilfe zytometrischer Messungen des DNS-Gehaltes unterschiedlich grosser Zellkerne im Nervengewebe der beiden untersuchten Schneckenarten wurde versucht, nähere Angaben über den Ploidisierungsgrad dieser Zellkerne zu gewinnen.

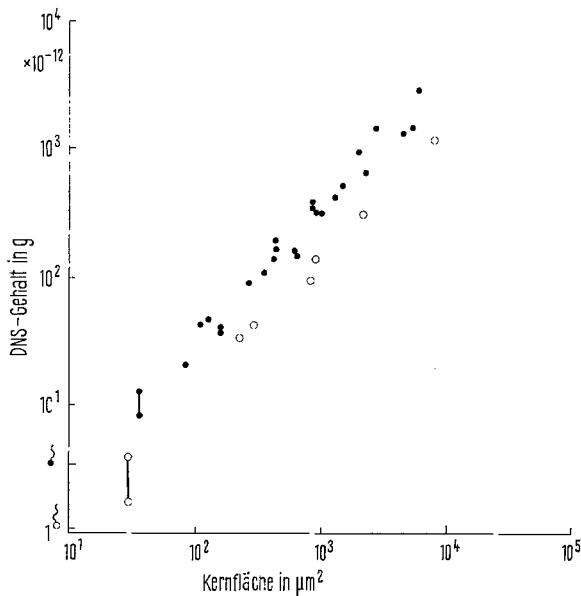
Die Untersuchungen an isolierten, alkoholfixierten (–80°C) Zellen des Nervengewebes aus allen Ganglien des Schlunddrüsen adulten Tiere wurden mit dem UMSP I der Firma Zeiss, Oberkochen, durchgeführt. Nach Behandlung der Präparate mit RNase (0,1%ige Lösung, 1 h bei 36°C) erfolgten die Messungen bei folgenden Wellenlängen: 265 nm für DNS, 280 nm für Proteine und 313 nm für die Bestimmung des Streulichtanteils. Durch entsprechende Auswertung konnte dann der DNS-Anteil der gemessenen Objekte direkt in g angegeben werden³.

Um eine Bezugsgrösse zu gewinnen, wurde der DNS-Gehalt in Spermienköpfen der beiden Schneckenarten bestimmt; dabei ergab sich als Durchschnittswert zahlreicher Messungen für *H. pomatia* $3,39 \times 10^{-12}$ g und für *P. corneus* $1,02 \times 10^{-12}$ g DNS. Diese Werte entsprechen

ungefähr der Menge an DNS im haploiden Chromosomensatz. Die kleinsten Zellen im Nervengewebe sind die Gliazellen, deren DNS in den Kernen – um eine Verwechselung mit kleinen Nervenzellen sicher auszuschliessen – lediglich im Bereich der Fasermasse gemessen wurde. Dabei ergaben sich folgende Werte für die DNS-Menge in g (Tabelle). Aus der Aufstellung geht hervor, dass im Gliagewebe von *H. pomatia* und *P. corneus* Zellkerne vorhanden sind, die einen höheren Ploidisierungsgrad als den von $2n$ erreicht haben. Für *P. corneus* beginnen die niedrigsten Werte jedoch unter $2n$ und erreichen nicht ganz $4n$, verglichen mit den Werten für Spermienkerne. Hingegen liegen die niedrigsten Werte für *H. pomatia* über $2n$ und erreichen $4n$. Eine Häufung von Messwerten bei $2n$ oder $4n$ wurde nicht gefunden, vielmehr ergaben sich Übergangswerte.

- ¹ E. HEITZ, *Rev. Suisse Zool.* 51, 402 (1944).
- ² H. H. BOER, *Arch. Néerl. Zool.* 16, 313 (1965).
- ³ W. SANDRITTER, *Handbuch der Histochemie* (G. Fischer Verlag, Stuttgart 1958), Vol. I/1, p. 220.

Nicht nur für das Gliagewebe, sondern auch für die Kerne der Neurone wurden Zwischenwerte von einer Ploidisierungsstufe auf die folgenden höheren Stufen gefunden (Figur). In den grössten gemessenen Nervenzellkernen befindet sich mehr als das Tausendfache des DNS-Gehaltes von Spermienkernen. Aus messtechnischen Gründen konnten nur Kerne bis zur mittleren Grösse untersucht werden. Aus UV-Aufnahmen (265 nm) ist ersichtlich, dass die Verteilung des DNS-Materials in den Kernen ungefähr gleichmässig ist. Es kann daher aus der Grösse der Kerne (Volumen der Kerne bei Schnittpreparaten oder Fläche der Kerne bei Herstellung von Totalpräparaten) auf den angenähert genauen DNS-Gehalt in den Zellkernen geschlossen werden. Aufgrund der isometrischen Korrelation zwischen DNS-Gehalt in den Zellkernen und der Flächengrösse der Kerne, die in der



Graphische Darstellung des DNS-Gehaltes in den Nervenzellkernen von *Helix pomatia* (●) und *Planorbarius corneus* (○). Die senkrechte Linie zwischen den Zeichen für *H. pomatia* und *P. corneus* gibt die Streubreite für den DNS-Gehalt der Gliazellkerne an; das Spermienzeichen an der Ordinate markiert den Wert für den DNS-Gehalt in den Spermienkernen der beiden Schneckenarten.

<i>Helix pomatia</i>		<i>Planorbarius corneus</i>
<hr/>		
Spermienkerne		
Durchschnittswert	3,39 ± 0,14 (= n)	1,02 ± 0,03
<hr/>		
Gliazellkerne	8,66	1,75
	8,95	1,76
	9,47	2,08
	9,81	2,49
	9,85	2,58
	10,70	2,64
	10,87	2,98
	11,17	3,66
	11,74	
	11,84	
	13,36	
	13,39	

(alle Werte × 10⁻¹²)

Figur dargestellt ist, kann angenommen werden, dass in den grössten Nervenzellen der untersuchten Schneckenarten mehr als das Zehntausendfache der DNS-Menge eines haploiden Chromosomensatzes vorhanden ist.

Ein ähnlich hoher DNS-Gehalt in Nervenzellkernen – bezogen auf Gliazellkerne (2n) – wurde für *Tritonia diomedea* (Nudibranchiata) ebenfalls photometrisch bestimmt⁴. Ergeben sich durch Kernvolumenbestimmungen deutlich voneinander abgesetzte Kernvolumenklassen, so darf angenommen werden, dass entsprechend dem Verhältnis der Volumina der Kernklassen zueinander sich auch die Werte des DNS-Gehaltes verhalten. Zell- und Kernvolumenklassen hat für *Lymnaea stagnalis* (Basommatophora) BOER² beschrieben. Kerne eines bestimmten Nervenzelltyps (sogenannte Nissl-Zellen, die neurosekretorisch tätig sind) gehören drei Volumenklassen an, die sich annähernd wie 1:2:4 verhalten. BOER weist jedoch auf die Schwierigkeiten hin, die bei der Abgrenzung der Volumenklassen auftreten. Auch er findet Übergänge, da er Exemplare aus verschiedenen Postembryogenesestadien untersucht hat, bei denen im Nervengewebe noch Endomitosen und damit Zellvergrößerungen stattfinden. Entsprechende Hinweise auf postembryogenetische Wachstumstendenzen im Schlundring von *H. pomatia* finden sich bei SCHLOOT⁵. Er kann nachweisen, dass in späten Postembryogenesestadien nur noch wenige Nervenzellen der Grössenordnung früherer Stadien entsprechen; zu diesem Ergebnis kommt auch BOER² für *Lymnaea stagnalis*. Es kann daher mit Sicherheit angenommen werden, dass bei den bisher daraufhin untersuchten Schneckenarten während der gesamten Postembryogenese fast alle Nervenzellkerne an Volumen und damit an DNS-Gehalt zunehmen. Ähnliche Wachstumstendenzen bestehen für das Nervengewebe von *P. corneus*; es gibt jedoch Hinweise dafür⁶, dass die Schlundringganglien und die Neurone dieser Schneckenart während des gesamten Lebens an Grösse zunehmen. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass im Nervengewebe von *P. corneus* auch bei grossen, geschlechtsreifen Tieren noch Endomitosen ablaufen.

Über diejenigen Vorgänge, welche die Endomitosen in den Nervenzellen der Gastropoden auf verschiedenen Stadien der Polyploidisierung unterbrechen und damit das Zellwachstum zeitweise oder vollständig beenden, liegen noch keine Vorstellungen vor.

Summary. It has been demonstrated by cytophotometric measurements of the DNA-content in glial- and nerve cells of the snails *Helix pomatia* (Stylommatophora) and *Planorbarius corneus* (Basommatophora) that the giant nuclei of nerve cells in the central ganglia contain more than tens of thousands of DNA compared with sperm nuclei. According to the DNA-content of sperms (= n), the values for glial cells are between 2n and 4n for both species.

D. KUHLMANN⁷

Zoologisches Institut der Universität,
Abteilung für Histophysiologie,
D-44 Münster (Deutschland), 30. April 1969.

⁴ B. N. VEPRINTZEV, I. V. KRASTS und D. A. SAKHAROV, Biopizika 9, 327 (1964) (in Russisch).

⁵ W. SCHLOOT, Z. Zellforsch. 67, 406 (1965).

⁶ U. ZELLENTIN, mündliche Mitteilung.

⁷ Herrn Prof. Dr. W. DITTRICH, Institut für Strahlenbiologie der Universität Münster, danke ich für die Möglichkeit, am UMSP I arbeiten zu dürfen; Frä. A. STIPPROWEIT danke ich für sorgfältige technische Assistenz.