

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. W. LAVES).

Hyaluronidase als Ursache früher postmortaler Veränderungen der Hypophyse.

Von

HELMUT LATKA und WILHELM ADAM.

Mit 3 Textabbildungen.

Seit mehreren Jahrzehnten steht die Hypophyse immer wieder im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Während dieser Zeit ist eine kaum übersehbare Zahl von Arbeiten über den Aufbau und die Funktion dieses hormonellen Zentralorgans veröffentlicht worden und doch ist auch heute noch unser Wissen hinsichtlich der Lokalisation ihrer Wirkstoffe im Zellverband nicht viel größer als vor 30 oder 40 Jahren. Der Grund liegt wohl darin, daß der morphologischen Betrachtungsweise Grenzen gesetzt sind, die sich mit den bisher üblichen Methoden nicht überschreiten lassen. Die Morphologie gestattet uns zwar pathologische Veränderungen an den Zellen zu beobachten und diese einem bestimmten Krankheitsgeschehen zuzuordnen, doch ist das Verfahren sicher zu grob, um äußerst komplizierte Vorgänge in den Zellen zu fixieren, sichtbar zu machen und — was das schwierigste ist — richtig zu deuten. Die Unmöglichkeit, mit Hilfe der Morphologie tiefere Einblicke in die Funktion der Hypophyse zu gewinnen, ist wohl die Ursache dafür, daß sich in den letzten Jahren auf diesem Forschungsgebiete eine gewisse Stagnation bemerkbar macht.

Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, die seit langem bekannten, aber viel zu wenig berücksichtigten frühen postmortalen Veränderungen an der Hypophyse zu studieren und möglicherweise auch die Ursachen dafür zu finden. Daß diese Veränderungen von manchen Autoren als spezifische Befunde gedeutet wurden, vermutet bereits ROMEIS und stellt daher für eine exakte morphologische Untersuchung die Forderung auf, daß die Hypophyse unmittelbar nach dem Tode durch Einspritzung eines geeigneten Fixierungsmittels in die A. carotis fixiert werden müsse.

Frühe postmortale Veränderungen treten auch an anderen Organen, so insbesondere an Magen und Pankreas auf. Die Ursache für die Veränderungen an Magen und Pankreas sind bekannt, und zwar werden die von diesen Organen produzierten Fermente Pepsin bzw. Trypsin dafür verantwortlich gemacht. Es kann wohl als sicher angenommen werden, daß die frühen postmortalen Erscheinungen an der Hypophyse ebenfalls auf der Einwirkung von Fermenten beruhen. Es lag daher nahe,

festzustellen, welches Ferment in besonders großer Menge in diesem Organ vorkommt, da neben der Aktivität des Enzyms sicher auch seine Quantität eine ausschlaggebende Rolle bei der Entstehung der postmortalen Veränderungen spielen muß. In Arbeiten amerikanischer Autoren (DURAN, REYNALS u. a.) wurde gezeigt, daß sich im Hypophysenhinterlappen eine Hyaluronidase — und zwar in einer relativ größeren Menge als in allen anderen Körperorganen — findet. Daneben kommen insbesondere proteolytische Fermente, wie sie auch in anderen Körperzellen gebildet werden, vor.

Einer Anregung unseres verehrten Lehrers Prof. LAVES folgend bedienten wir uns bei unseren Untersuchungen der Histoenzymatik. Dabei gingen wir von dem Gedanken aus, daß nach Einwirkung substratspezifischer Fermente sich möglicherweise einmal ähnliche oder gleiche Bilder erzeugen ließen, wie sie uns als postmortale Veränderungen geäufig sind.

Methodik.

Da wir uns die Aufgabe gestellt hatten, die postmortalen Veränderungen zu untersuchen, brauchten wir uns nicht an die Forderung zu halten, daß die Fixierung sofort nach dem Tode durch Einspritzen einer geeigneten Fixierungsflüssigkeit erfolgen müsse. Immerhin sollte das Untersuchungsgut möglichst frisch sein. Aus diesem Grunde — und weil sie außerdem leicht in größerer Menge zu erhalten waren — verwendeten wir Hypophysen soeben geschlachteter Schweine etwa gleichen Alters und Geschlechts. Es war uns dadurch möglich, die Drüsen ungefähr 15—20 min nach dem Tode des Tieres zu fixieren bzw. der fermentativen Behandlung zu unterziehen. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits postmortale Veränderungen, allerdings nur in dem der Neurohypophyse angrenzenden Teil der Adenohypophyse zu bemerken. Im Organinnern waren solche noch nicht vorhanden, weshalb wir Zellen aus diesen Gebieten zum Vergleich heranzogen. Um jede Möglichkeit einer Täuschung auszuschließen, stellten wir an einigen Kaninchen- und Katzenhypophysen — bei denen wir hinsichtlich des Normalbildes alle dafür erforderlichen Bedingungen erfüllen konnten — ebenfalls Untersuchungen an. Es sei vorweggenommen, daß diese dasselbe Ergebnis zeigten wie die an der Schweinehypophyse durchgeföhrten.

Die Färbung der Präparate bereitete uns zunächst einige Schwierigkeiten; so ergab die Hämatoxylin-Eosin-Färbung keine kontrastreichen Bilder, auch die Methode nach MANN konnte uns nicht befriedigen. Schließlich erwies sich die Kresazanfärbung nach ROMEIS als die Methode, die die besten Resultate lieferte. Erwähnt sei noch, daß die Färbungsergebnisse an tierischen Hypophysen — trotz zahlreicher von uns durchgeföhrter Färbungsmodifikationen — niemals so gut waren wie an der Menschenhypophyse.

Als Fixierungsmittel verwendeten wir ausschließlich HEIDENHAINS Susa-Lösung. Nach der Fixierung wurden die Präparate nach PETERFI in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke lag zwischen 3 und 5 μ .

Bei den Untersuchungen gingen wir derart vor, daß wir Schweinehypophysen verschieden lange bei Körper- und Zimmertemperatur in der feuchten Kammer aufbewahrten. Bei den ersten Versuchsreihen entnahmen wir diese in Abständen von 30 min. Bei späteren Untersuchungsserien wählten wir größere Zeitabstände, da sich herausgestellt hatte, daß scharfe Zäsuren zwischen den frühen und späten post-

mortalen Veränderungen nicht zu bemerken waren. Im ganzen dehnten wir die Zeit der Aufbewahrung bis 52 Std aus.

Im zweiten Teil unserer Untersuchungen setzten wir frisch entnommene Schweinehypophysen, die wir in der Sagittalebene halbiert hatten, der Einwirkung verschiedener Fermentlösungen aus. Dabei wurde die Einwirkungszeit in der Weise gestaffelt, daß wir die Präparate in Abständen von 5 min der Enzymlösung entnahmen. Fixierung, Einbettung und Färbung erfolgten wie oben angegeben. Als eiweißabbauende Fermente wählten wir Arginase, Tyrosinase, Thymo- und Ribonuclease, als glykoproteidspaltende Fränkel-Toxin III, sowie die Hyaluronidasepräparate Kinetin und Hyalase.

Schon die ersten Versuche mit den angegebenen Fermentlösungen zeigten ein auffallendes Ergebnis: Während die proteolytischen Fermente keine den postmortalen Veränderungen vergleichbaren Bilder lieferten, traten bei Einwirkung von Hyaluronidaselösungen Erscheinungen an den Zellen der Adenohypophyse auf, die ebensogut durch längere postmortale Einflüsse hätten entstanden sein können. Wir richteten deshalb unser Augenmerk besonders auf dieses Ferment.

Die Hyaluronidase wurde erstmals im Jahre 1928 von DURAN und REYNALS im Stierhoden gefunden. Diese beiden Autoren, und später CHAIN und DUTHIE, isolierten in den folgenden Jahren aus den verschiedensten Geweben und Organismen Stoffe gleicher oder ähnlicher enzymatischer Wirkung. Außer im Sägerhoden, hier in engem Zusammenhang mit den Spermien, wurden sie noch in der Hypophyse, der Niere, der Schilddrüse, der Placenta, der Magenschleimhaut und in malignen Tumoren, ferner im Kopfsegment von Blutegeln, in Schlangen- und Spinnengiften und als bakterielles Ferment im Autolysat aller Pneumokokken, mancher Staphylococcus aureus-Stämme, der Gasbrandbacillen und einzelner Streptokokken nachgewiesen. Die Hyaluronidase depolymerisiert die Mucopolysaccharidsäuren, Hyaluronsäure und Chondroitinsulfatsäure und macht diese als Barriere für die Flüssigkeitsdiffusion wirkende ungeformte Bindegewebssubstanz durchlässig. Sie wirkt nur auf Substanzen, die den Schwefelsäureester der Hyaluronsäure enthalten. Im Rahmen dieser Arbeit kann nicht näher auf die komplizierten fermentativen Vorgänge eingegangen werden, es sei nur kurz erwähnt, daß HAHN mindestens 2 Fermente in der Hyaluronidase nachweisen konnte, und zwar eine „Depolymerase“, die die hochpolymere Säure zur Disaccharidstufe hydrolysiert und ein zweites, in geringerer Menge vorhandenes Enzym, dem der weitere Abbau zuzuschreiben ist. Aus den Untersuchungsergebnissen verschiedener amerikanischer Autoren über die Aktivität und Spezifität der einzelnen Hyaluronidasen kann geschlossen werden, daß es sich nicht um völlig gleichartige Körper handelt. Die in ihrer Art allerdings gleichbleibenden Bauelemente dürften eine verschiedenartig gelagerte Anordnung ihrer wirksamen chemischen Gruppen aufweisen.

Es gibt nun eine ganze Reihe von Stoffen, die die Hyaluronidasewirkung hemmen. So fanden BEILER und MARTIN, daß die Hyaluronidaseaktivität durch Vitamin P-haltige Präparate aufgehoben werde. WERLE konnte zeigen, daß die Aktivität der Hyaluronidase durch Rinderserum vollständig blockiert wird. Der Nachweis derartiger Hemmstoffe auch im menschlichen Serum gelang schließlich DORFMANN. Ferner wird die Aktivität des Fermentes durch Formaldehyd, Salicylsäure und Jod stark herabgesetzt.

Zur Bereitung der Enzymlösungen wurden von uns kristallisierte Fermentpräparate verwendet. Als Kontrolle dienten Schnitte von Hypophysen, die verschieden lange Zeit in physiologischer Kochsalzlösung gelegen hatten.

Befunde.

Entsprechend der Feststellung, daß sich die ersten und weitaus schwersten postmortalen Veränderungen an der Adenohypophyse abspielen, richteten wir bei unseren Untersuchungen vor allem auf diese unser Augenmerk. Es ist deshalb im folgenden unter Hypophyse immer der drüsige Anteil des hormonellen Zentralorgans verstanden.

Zunächst sei kurz an das mikroskopische Bild der Hypophysen erinnert, die sofort nach dem Tode des Tieres durch Einspritzung einer geeigneten Fixierungsflüssigkeit in die A. carotis fixiert, hierauf in Paraffin eingebettet und nach der Kresazanmethode gefärbt worden waren. Dabei waren wenigstens in der Adenohypophyse grundlegende Unterschiede im farberischen Bild zwischen Schweine-, Katzen- und Kaninchenhypophysen nicht zu erkennen. Die α -Zellen sind leuchtend rot gefärbt, die β -Zellen erscheinen braunviolett mit deutlicher schwarzblauer Granulation, die γ -Zellen sind hell graublau mit teils rötlicher, teils bläulicher feinster Körnelung, während die δ -Zellen einen ultramarinblauen Farbton aufweisen. Die Zellgrenzen sind durchwegs deutlich zu erkennen, irgendwelche optisch leeren Stellen sind nirgends feststellbar.

Postmortale Veränderungen. Von den erhobenen Befunden seien einige hier angeführt: Betrachtet man eine Hypophyse nach 30 min postmortaler Veränderung, so tritt hier schon mit kleiner Vergrößerung eine nicht unbedeutende Auflockerung der Gesamtstruktur zutage. Die im Gitterfasernetz eingebetteten Drüsenschläuche sind von der Basalmembran abgelöst, so daß sich überall zwischen dieser und den Zellkörpern ein mehr oder minder breiter Spalt erkennen läßt. Die Zellgrenzen sind unscharf, das Plasma erscheint homogenisiert, die Granulationen sind aber noch deutlich erkennbar. Ein wesentlicher Unterschied hinsichtlich der Farbadsorption von α -, β - und δ -Zellen gegenüber der in frisch fixierten Schnitten ist nicht wahrzunehmen. Dagegen zeigen sich an den γ -Zellen bereits deutliche Veränderungen: der Zelleib ist vielfach ganz oder teilweise aufgelöst. Diese als Plasmazerfall imponierenden Erscheinungen machen sich besonders in dem an die Neurohypophyse angrenzenden Gebiet der Adenohypophyse bemerkbar. Gegen das Innere und die Oberfläche der Hypophyse zu nimmt die Intensität der Veränderungen deutlich ab, es werden hier nur diejenigen Partien von γ -Zellen betroffen, die den Bindegewebssepten anliegen. In einzelnen kleinen Bezirken sind überhaupt keine postmortalen Veränderungen zu erkennen. Die Kerne sind vollständig erhalten.

Nach 90 min zeigen sich gleichsinnig weiter fortgeschrittene Veränderungen. Die Spalten zwischen Basalmembran und Drüsenzellen sind teilweise sehr breit und erstrecken sich nun über die gesamte Adenohypophyse. Es finden sich neben Zellzerfall unter Zurückbleiben von Plasmatrümmern und Granulationsresten erstmalig γ -Zellen, bei denen das Plasma mit den Granulationen völlig fehlt. Auch an einzelnen eosinophilen Zellen machen sich Zeichen der Plasmolyse bemerkbar. Die β - und δ -Zellen sind unverändert. Auch hier sind die Veränderungen in der Nähe der Neurohypophyse am stärksten ausgeprägt.

Nach 18 Std findet man in vielen Drüsenschläuchen neben morphologisch intakten Kernen Plasmabrei. Die chromophilen Zellen sind im allgemeinen erhalten,

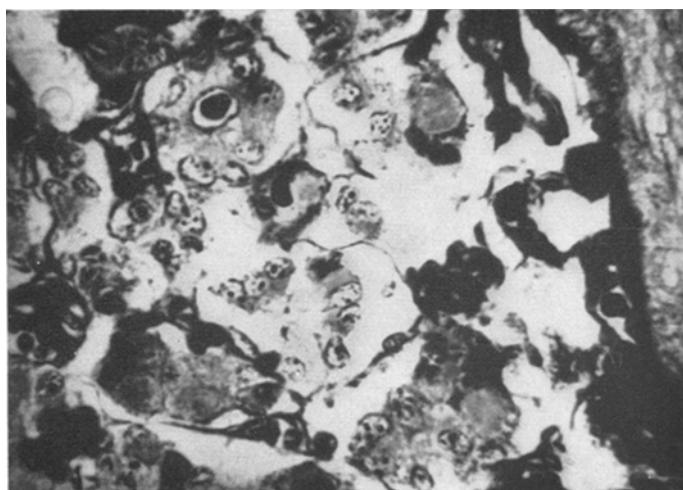


Abb. 1. Zellgruppe aus dem Vorderlappen einer Schweinehypophyse, die 1 Std nach dem Tode fixiert wurde. Vergr. etwa 1:500.

α -Zellen vereinzelt zusammengesintert mit offenbarem Plasmaverlust und undeutlich erkennbarer Granulation. Auch die Basophilen zeigen bereits beginnende Veränderungen, ihr Rand ist aufgehellt, die Zellen sehen aufgelockert aus.

Nach 36 Std zeigen sich die oben beschriebenen Irritationen an γ -, α - und β -Zellen — an den letztgenannten in weit geringerem Umfange —, während die δ -Zellen keine Veränderungen aufweisen.

Veränderungen nach Behandlung mit Hyaluronidase. Die von uns mit Kinetin, Hyalase und Hypophysenhyaluronidase durchgeführten Untersuchungen ergaben, daß die Wirkung dieser 3 Hyaluronidasen auf die Drüsenzellen der Hypophyse vollständig gleich ist. Das Fränkel-Toxin III erwies sich als unwirksam.

Schon nach einer Einwirkungsdauer von 10 min erkennt man mit kleiner Vergrößerung zahlreiche, diffus verteilte, insbesondere an der Oberfläche liegende Stellen, die optisch leer erscheinen. Mit starker Vergrößerung zeigt sich, daß diese Lücken an den Rändern der chromophoben Zellen aufgetreten sind. Die Kerne sind überall erhalten, um sie herum finden sich vielfach noch Plasma- und Granulationsreste. Die Zellgrenzen sind deutlich zu erkennen, die α -, β - und δ -Zellen morphologisch nicht verändert. Die Granulation der γ -Zellen ist größtenteils noch erhalten. Die ersten Veränderungen treten hier an der Oberfläche auf und schreiten

mit der Zeit gegen das Innere des Organs fort. Dort betreffen sie nur diejenigen γ -Zellen, die der Basalmembran unmittelbar anliegen.

Hat die Hyaluronidase 15 min auf die unfixierten Präparate eingewirkt, so zeigen sich die oben beschriebenen Veränderungen noch deutlicher ausgeprägt. Auch in den zentralen Partien der Drüsenschläuche scheint nun das Protoplasma der γ -Zellen verquollen zu sein. Eigenartig ist, daß sich um die Kerne herum vielfach ein konzentrischer Plasmarest findet, während die daran anschließende Zone bis zur Zellgrenze optisch leer ist.

Präparate von Hypophysen, die 30 min lang der Hyaluronidasewirkung ausgesetzt waren, zeigen in den Randgebieten des Organs hellere und dunklere Kerne,

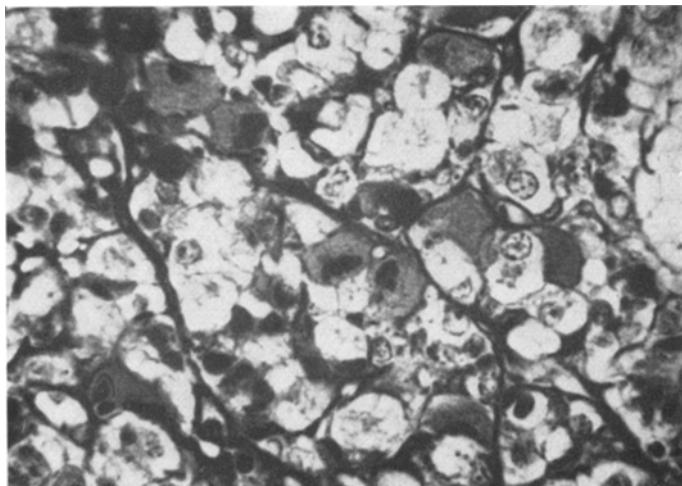


Abb. 2. Zellgruppe aus dem Vorderlappen einer Schweinehypophyse nach halbstündiger Behandlung mit Hyaluronidase (Kinetin). Vergr. etwa 1:500.

die von schmalen Plasmasäumen und Granulationsresten umgeben sind. In den zentralen Teilen der Hypophyse sind diese Veränderungen noch nicht in dem Ausmaße ausgeprägt.

Nach 3 stündiger Hyaluronidasewirkung ist das Plasma der chromophoben Zellen bei erhaltenen Kernen in allen Teilen der Hypophyse weitgehend verschwunden. Die α -, β - und δ -Zellen weisen keine morphologischen Veränderungen auf.

Mikroskopisches Bild nach Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung. Präparate, die 15 min in physiologischer Kochsalzlösung gelegen hatten, zeigen sich praktisch unverändert. Die α -Zellen sind leuchtend rot mit erkennbaren Granulationen, auch die β -Zellen lassen bei guter Färbbarkeit keine Veränderungen erkennen. Nur an den γ -Zellen zeigt sich hier und da ein geringer Plasmaverlust, und zwar an den Zellen, die der Bindegewebsbegrenzung der Drüsenschläuche anliegen. Diese Plasmadefekte sind schmal, die Granulationen in den betroffenen Bezirken gut erhalten. Im übrigen hat man den Eindruck, daß die Zellen etwas gegeneinander verquollen sind. Die Kerne sind überall unverändert.

Nach einer Einwirkungsdauer von 45 min sind ebenfalls kaum Veränderungen wahrzunehmen. Nur an manchen der Basalmembran anliegenden γ -Zellen ist ein Plasmaverlust festzustellen. Deutlicher ausgeprägt ist die oben beschriebene Ver-

quellung der Zellen gegeneinander, die jedoch bei α -, β - und δ -Zellen nicht in Erscheinung tritt.

Nach 60 min sind die Randlücken zahlreicher und auch etwas breiter. Die Verquellung, die auch die in den zentralen Partien der Hypophyse liegenden eosinophilen Zellen zu betreffen scheint, ist im ganzen deutlicher ausgeprägt. Substanzverluste sind weder bei α - noch bei β - oder δ -Zellen festzustellen.

Auch nach stundenlanger Einwirkung der physiologischen Kochsalzlösung sind noch die gleichen Befunde zu erheben, wie sie oben beschrieben wurden.

Nach Einwirkung von Ribonuclease, Tyrosinase, Arginase, sowie Fränkel-Toxin III ergaben sich mikroskopische Bilder, wie sie normalerweise infolge der

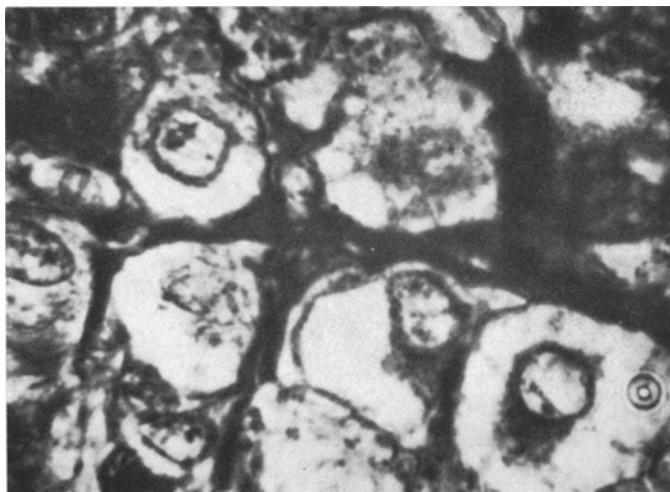


Abb. 3. γ -Zellen aus dem Vorderlappen einer Schweinehypophyse nach halbstündiger Behandlung mit Hyaluronidase (Kinetin). Vergr. etwa 1500.

postmortalen Veränderungen zustande kommen. Eine Wirkung dieser Fermente auf Kerne, Plasma oder Granula irgendeiner Zellart der Hypophyse konnte von uns nicht festgestellt werden.

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Versuchsreihen lassen sich etwa folgendermaßen zusammenfassen:

Die postmortalen Veränderungen beginnen sehr früh und betreffen zunächst ausschließlich die γ -Zellen in den der Neurohypophyse angrenzenden Partien. Später erstrecken sie sich über die ganze Adenohypophyse. Während anfangs Kerne und Granulationen noch vorhanden sind, gehen die letztgenannten etwa 2 Std nach dem Tode ebenfalls teilweise zugrunde. Längere Zeit nach der Entnahme (18 Std und mehr) sind auch in den α - und β -Zellen postmortale Veränderungen zu erkennen. Bei diesen Erscheinungen dürfte aber die Fäulnis schon eine bedeutende Rolle spielen, so daß wir sie zur Beurteilung und zum Vergleich nicht weiter heranzogen.

Die mit Hyaluronidase behandelten Hypophysen zeigen schon wenige Minuten nach der Fermenteinwirkung ganz ähnliche Veränderungen, wie sie als postmortal entstanden beschrieben wurden. Dabei treten zunächst schalenartige Lücken in den Rändern der chromophoben Zellen auf. Es ist aber zu bemerken, daß auch

nach längerer Einwirkung in den meisten Zellen ein kleiner, sich oft nur schlierenartig sich darstellender Plasmarest zurückbleibt. Die Zellgrenzen sind auch nach stundenlanger Einwirkung gut erhalten. An den chromophilen Zellen sind Veränderungen nicht wahrzunehmen. Die Kontrollpräparate, die unter sonst gleichen Bedingungen bestimmte Zeit der Einwirkung einer physiologischen Kochsalzlösung ausgesetzt waren, zeigen ebenfalls einen geringen Plasmaverlust in vielen γ -Zellen. Da diese Defekte aber mit längerer Einwirkungsdauer nicht zunehmen und nach dem Schlachten der Tiere bis zum Einlegen in die Lösung einige Zeit vergeht, ist anzunehmen, daß es sich hierbei um frühe postmortale Erscheinungen handelt.

Die Abgrenzung der natürlich auch in den enzymbehandelten Präparaten auftretenden postmortalen Veränderungen gegen den Verdauungseffekt ist verhältnismäßig leicht möglich. Es wurde erwähnt, daß sich die erstgenannten zunächst in der Nähe der Neurohypophyse abspielen. Die weiter gegen das Innere zu gelegenen Zellen sind praktisch unverändert. Da die Enzymlösung von außen nach innen in das Organ eindringt, werden zunächst nur jene Zellen von der Fermentwirkung betroffen, an denen noch keine postmortalen Erscheinungen vorhanden sind.

Einen Unterschied in Auftreten und Verlauf der postmortalen Veränderungen zwischen Hypophysen männlicher und weiblicher Tiere konnten wir nicht feststellen.

Diskussion.

Faßt man das Zustandekommen der frühen postmortalen Veränderungen an der Hypophyse als Wirkung des in der Neurohypophyse vorhandenen, nach dem Tode nicht mehr gesteuerten Fermentes Hyase auf, so ist die Intensität der Fermentwirkung, die Schnelligkeit des Wirkungseintrittes und die Ausbreitung zunächst von der Menge und insbesondere von der Aktivität des Fermentes abhängig. Daneben wird der Ablauf aber durch physikalische Momente, wie Reaktion und Temperatur des Organgewebes und andere physiologische oder pathophysiologische Komponenten, die im Gleichgewicht zwischen Ferment und Hemmstoff oder in der Verschiebung dieses Gleichgewichtes bestehen können und bis jetzt noch nicht erfaßt werden können, beeinflußt sein.

Die Aktivität von Hyase wird nach Untersuchungen von WERLE und DORFMANN durch im Serum vorhandene Antikörper gehemmt. Es ist anzunehmen, daß eine Vermehrung oder Verminderung dieser Stoffe im Serum auch bei gewissen Krankheiten eine Rolle spielt, doch sind die Forschungen auf diesem Gebiete erst im Anfangsstadium. Bis jetzt ist bekannt, daß sich bei der Arthritis rheumatica spezifische Antihyasen bilden, deren Serumspiegel nach Behandlung mit ACTH stets einen deutlichen Abfall zusammen mit Normalisierung der Temperatur, Rückgang der S.R. und klinischer Besserung zeigt, der aber gleich nach dem Abklingen des Effektes wieder ansteigt.

Sobald nach dem Tode mit dem Aufhören der Blutzirkulation die hemmende, oder besser gesagt, steuernde *Wirkung der Hemmkörper* fortfällt, hat die in dem Hypophysenhinterlappen vorhandene Hyaluronidase — wegen ihrer Fähigkeit, die Hyaluronsäure des Bindegewebes

zu hydrolysieren — die Möglichkeit, sich rasch auszubreiten und in die Zellen einzudringen. Der wesentlichste Faktor für die postmortale Hyaluronidasewirkung scheint uns in diesem Aufhören der Steuerung durch Veränderung der aktuellen Reaktion zu liegen.

Die postmortalen fermentativen Vorgänge spielen sich noch bei einer Temperatur ab, die annähernd dem Optimum für Hyaluronidase entspricht. Ihr Ablauf erfolgt so schnell, daß schon die Zeit, die zur Entnahme der Hypophyse benötigt wird, ausreicht, um Veränderungen entstehen zu lassen. Die Abgrenzung gegen Verdauungseffekte anderer Ursache ist ohne weiteres möglich. Wir ließen daher bei unseren Fermentversuchen in einer Serie die Hyaluronidase bei Eisschranktemperatur (4°C) verschieden lange Zeit einwirken. Das Ergebnis entsprach eigentlich nicht unseren Erwartungen. Es zeigte sich nämlich, daß bei dieser, für fermentative Vorgänge nicht sehr günstigen Temperatur keine bemerkenswerte Verlangsamung im Auftreten und Fortschreiten der Hydrolyse eintrat. Das Ausmaß der Zellveränderungen war nach 10 min langer Enzymeinwirkung ebenso groß, wie wir es bei gleich langer Hydrolyse bei Temperaturen von 18°C oder 37°C gewohnt waren.

Um einen eventuellen Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Ablauf der Hydrolyse festzustellen, setzten wir Versuchsserien mit Hyaluronidaselösungen an, die durch m/15 Phosphatpuffer nach SÖRENSEN auf p_H 5,0, 6,2 und 7,0 gebracht worden waren. Bei der Betrachtung der Präparate waren Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen gepufferten Enzymlösungen nicht zu erkennen. Wenn durch diese Methodik auch keine feineren Unterschiede im Verdauungsvorgang festgestellt werden können, so scheint doch dieser Reaktion nur eine untergeordnete Rolle zuzukommen.

Was die Dauer der Fermenteinwirkung anbelangt, so müssen die frühen, hier als Hyaseffekte aufgefaßten postmortalen Veränderungen, von den späten durch andere, vor allem proteolytische Fäulnisvorgänge bedingten scharf getrennt werden. Die Stärke der frühen postmortalen Veränderungen erreicht etwa 2 Std nach dem Tode ihren Höhepunkt; dann ändert sich das morphologische Bild bis zum Auftreten der späten postmortalen proteolytischen Veränderungen nicht mehr. Das Maximum der durch experimentelle Hydrolyse mit Hyaluronidase erzielbaren Veränderungen wird nach etwa 45 min erreicht.

Bei einem kleinen Teil unserer Präparate fiel auf, daß die hydrolytischen Zellveränderungen nicht in dem von uns im allgemeinen beobachteten Ausmaße und auch merkbar verzögert auftraten, obwohl die äußeren Bedingungen die gleichen waren wie bei den übrigen Hypophysen. Eine Erklärung für diese Beobachtungen könnte in dem von uns „physiologische Komponente“ genannten Faktor liegen. Man kann sich z. B. vorstellen, daß der Hypophysenhinterlappen zum Zeitpunkt

des Todes gerade wenig Hyaluronidase enthält. Es besteht auch die Möglichkeit, daß das Gleichgewicht zwischen Ferment und Hemmkörper gestört ist und der eine oder andere Teil überwiegt. In diesem Punkte sind unsere Kenntnisse über die vitalen Vorgänge in der Hypophyse noch zu gering, so daß nur Vermutungen geäußert werden können.

Als Stütze für unsere Auffassung betrachten wir, abgesehen von unseren experimentell gewonnenen Befunden, die Tatsache, daß amerikanische Autoren in der Hypophyse eine weit größere Menge von Hyase gefunden haben als in irgendeinem anderen Körperteil. Wir erwähnten bereits, daß wir aus Hypophyse von Rindern nach der Methode, wie sie für die Gewinnung aus Stierhoden angegeben wurde, Hyase herstellten. Die damit erzielten Hydrolyseeffekte entsprachen völlig jenen, die durch Kinetin und Hyalase hervorgerufen worden waren.

Um die Richtigkeit unserer Auffassung weiter zu überprüfen, versuchten wir nun in Tierexperimenten die Hyase schon intravital zu hemmen. Es ist bekannt, daß, abgesehen von den Serumhemmkörpern, auch eine Reihe chemischer Verbindungen, wie Formaldehyd, Salicylsäure und Jod die Aktivität der Hyaluronidasen stark herabsetzen. Wir spritzten deshalb Kaninchen 20 cm^3 einer wäßrigen Jod-Jodkalilösung in die Ohrvene, töteten die Tiere nach 10—20 min, dekapitierten sie und ließen den Kopf jeweils 3 Std bei Zimmertemperatur liegen. Hierauf wurden die Hypophysen entnommen, in üblicher Weise fixiert, eingebettet und gefärbt. Als Vergleichspräparate dienten die 3 Std postmortal veränderten Hypophysen von Kaninchen, die ohne Vorbehandlung getötet worden waren. Es zeigte sich, daß an den Hypophysen der mit LUGOLScher Lösung vorbehandelten Tiere keine oder nur ganz geringe (wahrscheinlich mehr auf der Einwirkung proteolytischer Fermente beruhende) postmortale Veränderungen auftraten, während diese an den Hypophysen der Kontrolltiere deutlich ausgeprägt waren.

Daß an der postmortalen Zerstörung des Plasmas der γ -Zellen auch andere Fermente beteiligt sind, wird aus den Unterschieden zwischen postmortalen und experimentell hydrolysierten Präparaten deutlich. Die Plasmolyse ist bei den letztgenannten nie ganz vollständig, es bleiben immer Plasmareste in den Zellen zurück. Insbesondere scheint der sogenannte „juxtanucleäre Fleck“ gegenüber der Hyase sehr resistent zu sein. Diese Unterschiede sind unseres Erachtens so zu erklären, daß nach dem Tode nicht nur die Hyase auf die Zellen einwirkt, sondern daß noch andere Fermente beteiligt sind. Hier kommen wohl in erster Linie eiweißabbauende Enzyme in Frage. Wir stellen uns den Vorgang in der Weise vor, daß die Hypophysenhyaluronidase infolge ihrer Fähigkeit, die Hyaluronsäure des Bindegewebes zu hydrolyseren, den anderen Wirkstoffen das Eindringen erleichtert. Gleichzeitig aber

ruft sie selbst die ausgedehntesten und am meisten ins Auge fallenden Veränderungen an den Zellen hervor. Die frühen postmortalen Erscheinungen an der Hypophyse werden daher nach unserer Ansicht durch ein Gemisch muco- und proteolytischer Fermente bewirkt, wobei der Hyase die weitaus größte Bedeutung zukommt.

Letzten Endes resultiert aus unseren Beobachtungen nicht nur, daß der Hyase eine wesentliche Bedeutung bei der Entstehung der frühen postmortalen Veränderungen zukommt, sondern auch, daß im Plasma der angegriffenen *chromophoben Zellen* ein *Mucopolysaccharid vom Typus der Hyaluronsäure* vorhanden sein muß. Wir sind uns bewußt, daß diese Ansicht, die auf Grund einer rein morphologischen Betrachtungsweise gewonnen wurde, der Ergänzung durch den Nachweis der chemischen Abbaustoffen bedarf. Sollten diese Untersuchungen unser Ergebnis bestätigen, so wäre damit unseres Erachtens die Möglichkeit gegeben, mit Hilfe der Histoenzymatik zunächst wenigstens etwas über die Natur bestimmter Zelltypen im Hirnanhang auszusagen. Damit wäre gleichzeitig eine Überprüfung der vielfältigen und sich oft konträr gegenüberstehenden Auffassungen über die Zellentstehung und den intravitalen Zelluntergang in der Hypophyse möglich, auf die wir in dieser I. Mitteilung bewußt nicht eingegangen sind.

Zusammenfassung.

Zur Aufklärung der postmortalen Veränderungen an der Hypophyse, die schon kürzeste Zeit nach dem Tode entstehen und damit nicht als durch Fäulnis bedingt aufgefaßt werden können, wurden histoenzymatische Versuche mit verschiedenen Fermenten durchgeführt. Dabei ergab sich eine auffällige Ähnlichkeit zwischen den morphologischen Bildern, die durch Verdauung mit Hyaluronidase und durch einfaches Liegelnlassen nach dem Tode zustande gekommen waren. Die Hypothese, daß die erwähnten frühen Veränderungen als Wirkung der in der Hypophyse vorhandenen Hyaluronidase aufzufassen seien, wurde nach verschiedenen Richtungen überprüft und diskutiert.

Literaturverzeichnis kann beim Verfasser angefordert werden.

Dr. HELMUT LATKA, Deggendorf, Landgericht.