

Physiology. — *Over den invloed van groeihormoon op den skeletspiergroei en op de stikstofuitscheiding.* By J. H. GAARENSTROOM and A. KRET. (Uit het Pharmacologisch Laboratorium der Rijksuniversiteit te Leiden, Beheerend directeur: Dr. S. E. DE JONGH.) (Communicated by Prof. J. VAN DER HOEVE.)

(Communicated at the meeting of November 24, 1945.)

Reeds eenige malen berichtten wij over onze onderzoekingen betreffende het aangrijpingspunt van groeihormoon. De mogelijkheid dat groeihormoon den groei van organen of orgaangroepen afzonderlijk, dus door meer dan één aangrijpingspunt (al dan niet gecoördineerd), zou regelen, werd door ons systematisch nagegaan. Daarbij kwam aan het licht, dat voor het aannemen van een directen invloed op den groei van de *ingewanden* geen enkele reden aanwezig was (GAARENSTROOM a) en dat zelfs een bijzondere werking op den *skelet*groei wel is waar niet uit te sluiten was, maar toch wel als onbewezen moest worden beschouwd (BOERÉ en GAARENSTROOM, GAARENSTROOM b).

Wij onderzochten verder den invloed van groeihormoon op den groei van de *skeletspieren*, en wel de daarbij door ons vroeger ook voor skelet en ingewanden gestelde, min of meer principieele, vraag: is groei van skeletspieren mogelijk bij afwezigheid van groeihormoon?

De methode bij deze proeven was als volgt. Een aantal ratten van 100—130 gram lichaamsgewicht werd gehypophysectomeerd. Een week (deze periode werd ingeschakeld om het spierstelsel gelegenheid te geven tot de na hypophysectomie gebruikelijke atrophie) na deze operatie werd aan den linkerpoot de m. gastrocnemius aan zijn insertie doorgesneden, waarvan het gevolg was, dat aan de Achillespees nu nog slechts de kleine m. soleus insereerde. Laatstgenoemde spier moest daardoor de functie van eerstgenoemde overnemen, wat een prikkel moet zijn tot hypertrophie. Tien dagen na de doorsnijding werd sectie verricht en het eventueele ontstaan van zulk een hypertrophie beoordeeld, door het gewicht van den m. soleus aan de geopereerde zijde te vergelijken met dat aan de andere zijde.

Deze proef, die met verschillende series ratten werd verricht, en waarbij niet gehypophysectomeerde ratten, bij welke dezelfde doorsnijding werd gedaan, als contrôle dienden, leverde de in tabel I neergelegde resultaten op. In alle gevallen was de m. soleus aan de doorgesneden zijde zwaarder dan die aan de niet geopereerde. Het gemiddelde gewichtsverschil bedroeg 24 %. Dat beteekent dus een hypertrophie, althans in relatieven zin. Deze kan bij de hypophyselooze dieren niet geheel als werkelijke *spiergroei* worden beschouwd, daar de m. soleus aan de contrôlezijde gedurende de betreffende periode waarschijnlijk in gewicht achteruitging.

Daar, zooals vroeger werd vastgesteld, deze daling parallel met die van het lichaamsgewicht verloopt, zou zij ongeveer 8 % hebben bedragen. Het grootste deel van het gewichtsverschil tusschen den linker en rechter m. soleus moet dan dus toch op *groei* van de spier aan de geopereerde zijde hebben berust. Dit beteekent, dat dezelfde aanleiding, die bij normale dieren groei van de spieren veroorzaakt, dit ook nog doet bij afwezigheid van groeihormoon. Het gewichtsverschil was zelfs niet minder bij de niet gehypophysectomeerde dieren, hoewel hierbij overwogen moet worden, dat bij de laatste de contrôlespijeren tijdens de proef groeiden, terwijl deze bij de hypophyselooze dieren achteruitging.

Het groeihormoon blijkt dus geen onontbeerlijke factor voor groei van skeletspieren te zijn, wat ons inziens, vooral omdat andere, op den groei van speciale organen aangrijpende (organotrope) hypophysehormonen dit, voor het betreffende orgaan, wèl zijn, tegen zulk een aangrijpingspunt voor het groeihormoon pleit. Hetzelfde en andere argumenten maakten vroeger reeds een directen invloed op den groei van het skelet en de inwendige organen onwaarschijnlijk en de uitkomsten van het bovenbeschreven onderzoek sterkt ons in de meening, dat het groeihormoon een algemeenen, niet tot afzonderlijke organen gericht, invloed heeft, die tot lichaamsgroei leidt. Voortbouwende hierop, komt men er, zooals ook vroeger reeds beschreven (BOERÉ en GAARENSTROOM) toe, voor het groeihormoon een plaats te zoeken onder de niet-organotrope hypophysaire hormonen, dus bij de groep, die aangrijpt in de stofwisseling.

TABEL I.

Aantal dieren	Hyp. of norm.	Gem. lich. gew. (gr.)			Gem. gewicht m. soleus (mgr.)				% verschil
		Bij hypoph.	Bij spierdoorsnijding	Bij sectie	Geoper. zijde		Niet geop. zijde		
					Gem.	Uitersten	Gem.	Uitersten	
5	hpl	128	115	103	53	46—64	40	35—47	24
8	..	129	118	107	57	49—64	47	42—54	
7	..	144	126	119	62	49—82	46	37—57	
10	..	149	137	128	65	50—81	52	43—66	
10	norm.		115	123	56	39—82	42	35—54	24

Zonder op dit punt stelling te nemen ten gunste van de door sommige Amerikaansche onderzoekers (LEE en SHAFFER, GAEBLER) geuite hypothese, dat het groeihormoon een eiwitstofwisselingshormoon zou zijn, kan hierbij toch worden opgemerkt, dat deze meening de tot nu toe bekende feiten op aangename wijze zouden kunnen verklaren. LEE en SHAFFER vinden, dat de door hen en anderen (GAEBLER, HARRISON en LONG) gevonden vermindering van de stikstofuitscheiding en het gehalte aan aminozuren in het bloed vóór hun opvatting pleiten; deze verschijnselen kunnen echter even goed het indirecte gevolg van een dieper schuilenden invloed van het groeihormoon zijn. Toch lijkt deze vondst als uitgangspunt

voor verder onderzoek van belang. Wij meenden daarom, dat het nuttig was, enkele der betreffende proeven te herhalen en uit te breiden. Wat dit laatste betreft, ten eerste waren de vroegere experimenten verricht met vrij weinig gezuiverde groeihormoonpraeparaten, terwijl wij met een sterk gezuiverd praeparaat ¹⁾ praktisch vrij van andere bekende hypophysehormonen werkten. Ten tweede hebben wij ook proeven gedaan met dieren (ratten van ca. 100 gram), die een *eiwitloos dieet* (bestaande uit 64 % koolhydraten, 6 % vet, 27 % water, wat vaseline e.d.) ontvingen. Het daarnaast gebruikte eiwithoudende dieet had dezelfde samenstelling, behoudens dat 25 % in plaats van uit koolhydraten uit eiwit bestond. Drie groepen van te voren gehypophysectomeerde dieren werden vergeleken; één groep ontving eiwithoudend dieet, een tweede groep eiwitloos dieet, een derde eiwitloos dieet en tevens 20 E groeihormoon per dag. De voedseltoediening was beperkt tot 6 gram van het juist beschreven voedsel per dag, welke hoeveelheid door alle dieren praktisch geheel werd gegeten. Nagegaan werd de stikstofuitscheiding in de urine van elke rat afzonderlijk in 3 perioden, n.l. de eerste 48 uur na hypophysectomie, de daarop volgende 72 uur en de daar weer op volgende 48 uur. Het stikstofgehalte werd bepaald met de methode van KJELDAHL.

De resultaten beantwoorden, gelijk tabel II laat zien, in belangrijke

TABEL II.

Aantal dieren	Lich. gewicht (gr.)			Voedsel en behandeling		N uitsch. in urine (gem.) (mgr.)				Orgaangew. (gem.) (mgr.)		
	Bij hypoph.	Na een week	% toename	Gegeven (per week)	Gegeven p. w.					Lever	Nieren (2)	M. gastrocnemii
						48 uur	72 uur	48 uur	Totaal			
7	140	108	-23	42 gr. E.H. voer	37	145	197	109	451	3870	780	1260
7	139	111	-20	42 gr. E.L. voer	35	116	157	85	358	3800	814	1266
6	134	112	-16	42 gr. E.L. voer + Gr. ³⁾	38	97	99	50	246	3960	840	1260
9	111	90	-19	42 gr. E.H. voer	40					3550	711	984 ²⁾
7	112	90	-20	56 ⁴⁾ gr. E.L. voer	47					3520	693	1010 ²⁾
9	113	93	-18	56 ⁴⁾ gr. E.L. voer + Gr. ³⁾	39					3450	713	1072 ²⁾
6	120	94	-22	42 gr. E.H. voer	41					3660	732	1132
8	120	98	-18	42 gr. E.L. voer	38					3870	674	1130
6	118	94	-20	42 gr. E.L. voer + Gr. ³⁾	37					3480	770	1130
3	128	110	-14	42 gr. E.H. voer	38					4190	924	1306
4	127	105	-17	42 gr. E.L. voer	38					3610	838	1280

opzichten aan de op grond van de literatuur gestelde verwachtingen. De stikstofuitscheiding is minder bij de met groeihormoon behandelde

¹⁾ 1 E = 50 γ . Welwillend afgestaan door Dr. E. DINGEMANSE.

²⁾ Eiwitgehalte spier resp.: 192, 196 en 204 mg.

³⁾ Groeihormoon, dosis altijd 20 E per dag.

⁴⁾ Deze 56 gram waren (dit was de eerste proef) oriënterend; het bleek, dat de dieren van het eiwitloose voer niet meer dan gemiddeld 42 gram aten, daarom werd later niet meer dan 42 gr gegeven.

ratten, dan bij de eveneens eiwitloos gevoede contrôles. Bij de eiwit-houdend gevoede, niet ingespoten dieren was de uitscheiding nog grooter, wat in verband met de eiwitopneming geen verwondering behoeft te wekken. Verscheidene andere conclusies, b.v. ten aanzien van den invloed van groeihormoon op den opbouw en de afbraak van eiwit, zouden aan de uitkomsten kunnen worden vastgeknoopt, ware het niet, dat zich hierbij een moeilijkheid vóórdeed: De hoeveelheid uitgescheiden stikstof was n.l. belangrijk minder dan men op grond van het eiwitverlies (geschat met behulp van lichaams- en orgaangewichten) zou verwachten. Een bij benadering volledige stikstofbalans geleek ons voor vèrgaande conclusies noodzakelijk. Pogingen om tot dit doel te geraken met behulp van nieuwe proeven, moesten door de oorlogsomstandigheden worden gestaakt. Dit laatste is ook de reden waarom het onderzoek in dit vroege stadium reeds wordt gepubliceerd.

De stikstofretentie, welke wel niet anders dan een eiwitretentie be-teekent, veroorzaakt door groeihormoon, zou zich tenslotte moeten uiten in een grooter orgaangewicht. De orgaangewichten van de drie groepen en van nog andere series op dezelfde wijze behandelde dieren verschil-den, zooals tabel II eveneens laat zien, niet belangrijk. Bij één der proeven werden ook de eiwitgehalten der m. gastrocnemii bepaald volgens een vroeger beschreven methode (KRET en DE JONGH); ook wat dit betreft werden geen verschillen tusschen de groepen gevonden. Vermoedelijk was de duur van de proef te kort en de maatstaf te weinig gevoelig om dergelijke verschillen aan den dag te doen treden.

Samenvatting.

Doorsnijding van de insertie van den m. gastrocnemius heeft tot gevolg, dat de kleine, daaronder gelegen m. soleus de functie van beide spieren overneemt en hypertrophieert. Deze operatie werd door ons aan één zijde verricht bij te voren gehypophysectomeerde ratten. Het bleek, dat ook onder deze omstandigheden de hypertrophie, dus de groei van spier-weefsel, nog plaats vond. Het hypophysaire groeihormoon is daarvoor dus niet noodzakelijk.

De toediening van groeihormoon aan gehypophysectomeerde, eiwit-loos gevoede dieren, doet de uitscheiding van stikstof in de urine, ten opzichte van niet ingespoten contrôledieren, dalen.

Zusammenfassung.

1) Durchtrennung der Insertion des M. gastrocnemius ruft hervor, dass der kleine, darunten gelegene, Soleusmuskel die Gesamt-Funktion übernimmt und hypertrophiert. Wir übten diese Operation einseitig bei vorher hypophysektomierten Ratten. Es ergab sich, dass auch unter diesen Verhältnissen die Hypertrophie, also ein Wachstum von Skeletmuskel-gewebe, stattfindet. Das Wachstumshormon der Hypophyse ist dabei nicht erforderlich.

2) Zufuhr von Wachstumshormon an hypophysenlose, eiweissfrei ernährte Ratten, gab eine Senkung des Harn-Stickstoffs, bezogen auf nicht gespritzte, ebenfalls eiweisslos ernährte, hypophysenlose Kontrolltiere.

Summary.

After cutting the m. gastrocnemius at the place of insertion, the underlying m. soleus takes over the task of the former muscle and becomes hypertrophic. When this operation is performed upon hypophysectomized rats, the hypertrophy still arises. So the pituitary growth hormone is not necessary for the growth of muscle tissue.

When growth hormone is administered to hypophysectomized rats, fed on a diet free from protein, the output of nitrogen in the urine decreases.

Résumé.

Après le détachement de l'insertion du muscle gastrocnémien, le muscle solaire, se trouvant en dessous, prend la fonction des deux muscles en hypertrophiant. Nous avons fait cette opération unilatéralement chez des rats hypophysectomisés d'avance. Sous ces circonstances l'hypertrophie (donc la croissance du tissu musculaire) se manifesta encore; alors elle n'a pas besoin de l'hormone de croissance hypophysaire.

L'administration de l'hormone de croissance à des rats hypophysectomisés étant nourris sans protéine, fait diminuer l'excrétion d'azote dans l'urine à l'égard des rats de contrôle non injectés.

LITERATUUR.

- BOERÉ, J. M. en J. H. GAARENSTROOM, Versl. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, **52**, 453 (1943).
- GAARENSTROOM, J. H., Versl. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, **52**, 373 (1943). a.
- GAARENSTROOM, J. H., Versl. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, ter perse. b.
- GAEBLER, O. H., J. exper. Med. **57**, 349 (1933).
- HARRISON, C. en C. N. H. LONG, Am. Journ. Physiol. **126**, 526 (1939).
- KRET, A. en S. E. DE JONGH, Versl. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, **53**, 78 (1944).
- SHAFFER, N. K. en M. LEE, J. biol. Chem. **108**, 355 (1935).