

Werk

Titel: Über die Technik des ALLEN- DOISY- Tests

Jahr: 1931

PURL: https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?251726223_1931_0002|log17

Kontakt/Contact

[Digizeitschriften e.V.](#)
SUB Göttingen
Platz der Göttinger Sieben 1
37073 Göttingen

✉ info@digizeitschriften.de

treten die zyklischen Veränderungen wieder ein, es findet Proliferation der Uterusschleimhaut statt, und man beobachtet ein Wachstum der Epithellage in der Vagina. Im Stadium des „Proöstrus“ zeigt das mikroskopische Abstrichbild keine Leukozyten mehr, sondern kernhaltige Epithelzellen (Bild 15, Tafel V).

Aus diesem Stadium entwickelt sich dann das Brunststadium, der „Östrus“. Die obere Epithellage der Vagina verhornt, das mikroskopische Bild zeigt kernlose Schollen („Schollenstadium“, Bild 16, Tafel V).

Das Abklingen des Zyklus zum Ruhestadium überschreitet den „Metöstrus“, gekennzeichnet durch das Nebeneinander von Schollen, Leukozyten und Epithelzellen im Abstrichbild (Bild 17, Tafel V).

Die Bilder gleichen ganz denen von normalen, unkastrierten Mäusen, bei denen sich dieser Zyklus regelmäßig wiederholt, während er bei kastrierten Tieren nach einer Injektion zum Ruhestadium zurückkehrt und sie für weitere Versuche brauchbar macht.

Diejenige Substanzmenge an Hormon, die bei weiblichen kastrierten Mäusen nach subkutaner Injektion gerade ausreichend ist, damit innerhalb von 2—3 Tagen im Vaginalausstrich das Schollenstadium erreicht wird, bezeichnet man als eine „Mäuseinheit“ (ME), bei Verwendung von Ratten spricht man entsprechend von „Ratteneinheit“ (RE); 1 RE enthält durchschnittlich 4 ME.

Der ALLEN-DOISY-Test hat sich bei der neueren Bearbeitung des weiblichen Sexualhormons ausgezeichnet bewährt, er wurde zur Grundlage für erfolgreiche Anreicherung und Reindarstellung des Hormons und somit für jede physiologische, pharmakologische und chemische Erkenntnis der Folgezeit.

Über die Technik des Allen-Doisy-Testes⁸⁾.

Entsprechend der Wichtigkeit für die wissenschaftliche Untersuchung des Hormons, für die Auswertung pharmazeutischer Präparate und für die praktisch-medizinische Dosierung, sind die physiologischen Grundlagen des ALLEN-DOISY-Testes, seine Fehlerquellen und die Art seiner technischen Handhabung Gegenstand vielseitiger, umfangreicher Arbeiten geworden (ALLEN, DOISY und Mitarbeiter, E. LAQUEUR, A. LIPSCHÜTZ, S. LOEWE, COWARD und BURN, E. C. DODDS, G. F. MARRIAN und A. S. PARKES u. a.). Obwohl diese Arbeiten in ihren wesentlichen Ergebnissen übereinstimmen, hat

8) AUS A. BUTENANDT und E. v. ZIEGNER, „Über die physiologische Wirksamkeit des kristallisierten weiblichen Sexualhormons im ALLEN-DOISY-Test“. HOPPE-SEYLER'S Z. f. physiol. Chemie 188, Heft 1—2, Seite 1 (1930).

man sich bislang nicht auf eine einheitlich festgelegte Technik geeinigt.

Die ursprünglich vorgeschlagene Methode zur Auswertung hormonhaltiger Präparate besteht darin, daß man einer Reihe von Tieren die auf ihre Wirkung zu prüfende Substanz in steigender Dosierung zuführt, und diejenige Substanzmenge als Einheit anspricht, welche gerade ausreichend ist, um in der Scheide die typische Brunstreaktion auszulösen.

Es ist vielseitig übereinstimmend festgestellt worden, daß der Einfluß von individuellen Schwankungen der Versuchstiere entweder ein sehr geringer ist, oder durch geeignete Methodik weitgehend vermieden werden kann. Die Größe einer Einheit ist aber in sehr weitem Maße abhängig von 3 wesentlichen technischen Handhabungen:

1. Von der Art des mikroskopischen Abstrichbildes, das einer Grenz dosis zugeordnet wird, z. B. ob „Vollöstrus“ (ALLEN und DOISY, ZONDEK, DODDS, COWARD und BURN, MARRIAN und PARKES) oder „Verschwinden der Leukozyten“ (LAQUEUR, LOEWE) im Abstrichbild gefordert wird;

2. von der Anzahl der Tiere, die zu einer Auswertung verwandt werden und von der Forderung, wieviel % der Versuchstiere positive Reaktion zeigen müssen;

3. von der Art der Injektionstechnik.

Die Eichung der Präparate auf Vollbrunst (Schollenstadium) ist das weitgehendste, aber sicherste Verfahren. — Die Zahl der Versuchstiere soll nach LAQUEUR mindestens 12 pro Auswertung, 3 pro Dosis betragen, damit dürfte die unterste Grenze des Erlaubten gekennzeichnet sein; positive Reaktion wird von den Autoren unterschiedlich an 50—75 % der Versuchstiere gefordert.

Von großer Bedeutung ist die Art der Injektionstechnik. Schon ALLEN und DOISY haben darauf hingewiesen, daß man bei Verteilung der injizierten Hormonmenge auf mehrere Einzelgaben mit einer wesentlich geringeren Gesamtmenge die gleiche Wirkung erzielt, wie bei Zuführung in einmaliger Injektion. Auswertungsergebnisse, die durch Injektion in einmaliger Dosis ermittelt sind, ergeben zumeist Wirksamkeitszahlen, die um ein Vielfaches kleiner sind, als die mit protrahierter Technik ermittelten. Die Unterschiede in den Resultaten sind bedingt durch die verschieden große Geschwindigkeit, mit der die Resorption des Hormons im Organismus erfolgt, sie sind daher abhängig von der Anzahl der Injektionen, von der Zeit, über die sie verteilt werden, vom verwendeten Lösungsmittel (Wasser oder Öl), vor allem aber von der Reinheit des in-

jizierten Hormons. Viele Bearbeiter des weiblichen Sexualhormons haben sich einer protrahierten Injektionstechnik bedient, andere grundsätzlich nur in einmaliger Dosis injiziert. Häufigkeit und Zeitdauer der Darreichung und die übrigen Kriterien der Wirksamkeit sind von den verschiedenen Autoren so unterschiedlich verwendet, daß ein direkter Vergleich ihrer erzielten Reinheitsgrade nach den ermittelten Wirksamkeiten nicht immer möglich ist.

BUTENANDT und VON ZIEGNER bedienten sich bei ihren Anreicherungsversuchen, die zur Reindarstellung des Hormons führten, ausschließlich der einfachsten Methodik, nachdem ihre Brauchbarkeit erwiesen war: Die auszuwertende Fraktion wurde in Sesamöllösung in einmaliger Dosis subkutan injiziert; die Prüfung erfolgte auf Vollbrunst bei 75—80 % der Versuchstiere.

Technik: Zur Kastration werden nur ausgesuchte weiße Mäuse (10—15 Wochen alt, etwa 20 g schwer) verwandt. Die Kastration erfolgt vom Rücken aus, es werden die Ovarien und ein Teil der Uterushörner entfernt. Vom 8. Tage nach der Kastration an werden täglich einmal Kontrollabstriche mit einer Platinöse gemacht. Die Färbung der Abstriche erfolgt nach ROMANOWSKY-GIEMSA. 3—4 Wochen nach der Kastration wird allen Tieren, welche konstant Ruhestadium zeigten, eine Testlösung bekannten Gehaltes injiziert, nicht reagierende Tiere erhalten 14 Tage später eine gleiche Dosis; auf beide Testversuche nicht genügend ansprechende Tiere werden nicht mehr verwendet. Zuverlässig reagierende Tiere werden 6 Wochen nach der Kastration in die Versuchsreihen eingeordnet. Um den Einfluß der Kastrationsdauer auf die Reaktionsbereitschaft der Tiere auszuschließen, wird in regelmäßigem Abstand von 14 Tagen möglichst eine wirksame Dosis verabreicht. Die Tiere, denen 4 Wochen lang keine ausreichende Dosis zugeführt wurde, werden vor weiterer Verwendung einer „Überdosierungskur“ unterworfen. —

Die zu prüfende Substanz wird in alkoholischer Lösung in 50° warmes Sesamöl eingebracht, die geringen Spuren des im Öl gelöst verbleibenden Alkohols schaden nicht. Injiziert werden einmalig 0,1—0,2 ccm; die Menge des injizierten Öls, also der Grad der Verdünnung, ist ohne Einfluß. Scheidenabstriche werden von sämtlichen Tieren einmal täglich, in der Zeit von 36—90 Stunden nach einer Injektion zweimal täglich im Abstände von 12 Stunden vorgenommen. Geprüft wird auf Vollbrunst, das Schollenstadium erscheint bei richtiger Dosierung etwa 40—60 Stunden nach der Injektion. Ein Schollenstadium mit wenigen Epithelzellen wird noch als positiv bezeichnet. Für eine Auswertung werden pro Dosis