

Werk

Label: Article

Jahr: 1931

PURL: https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?251726223_1931_0002|log9

Kontakt/Contact

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

✉ info@digizeitschriften.de

I.

Die Lehre, daß in der Reihe der Wirbeltiere die Geschlechtsdrüsen neben der Produktion der Keimzellen eine zweite Aufgabe erfüllen, daß sie für normale Entwicklung, für Wachstum und Funktion der Genitalorgane, sowie für die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale sorgen, hat schon in der Mitte des vorigen Jahrhunderts ihre Anfänge.

Sie ging aus von Experimenten BERTHOLDS in Göttingen (1849), der erstmalig im Tierversuch zeigte, daß die nach Kastration von Hähnchen einsetzenden Ausfallserscheinungen durch Wiedereinpflanzung von Hoden zu beheben sind. Diese Versuche waren grundlegend für die Lehre von der inneren Sekretion, die erst 40 Jahre später nach den Arbeiten von BROWN SÉQUARD (1889) Beachtung fand; ihnen folgten dann eine große Reihe von Versuchen, durch Transplantationen männlicher Keimdrüsen Aufschluß über die neuartigen Fragestellungen zu erlangen.

Entsprechende Versuche an der weiblichen Keimdrüse sind wesentlich später begonnen worden. Nachdem im Jahre 1895 MORRIS die Transplantation eines Ovariums an einer Frau durchgeführt hatte, begann mit den Arbeiten von KNAUER und HALBAN um 1900 die eigentliche experimentelle Inangriffnahme des Problems im Tierversuch.

Um Klarheit über die Aufgaben einer Drüse im Organismus zu erhalten, hat man zunächst die Ausfallserscheinungen nach Extirpation, sodann ihre Behebung durch Wiedereinpflanzen des betreffenden Organs zu studieren. Sind auf diesem Wege die Aufgaben der Drüse experimentell festgestellt, so ergibt sich als zweite Fragestellung diejenige nach der Art, wie die Organleistung erfüllt wird. Transplantationsversuche der Drüsen und der Versuch, Ausfallserscheinungen durch Injektion der Organextrakte zu vermeiden oder zu beheben, entscheiden hier über das Wesen, wie ein Organ die ihm zufallende Aufgabe löst.

Über die Ausfallserscheinungen am lebenden weiblichen Organismus nach Extirpation der Ovarien.

Während es nach den bisher vorliegenden Experimenten den Anschein hat, daß in der Reihe der Wirbellosen die Beeinflussung der Körperbildung und des psychischen Verhaltens durch die weibliche Keimdrüse nur eine sehr geringe ist¹⁾, konnte eine solche Leistung des Ovariums in der Reihe der Wirbeltiere in fast allen Tierklassen wahrscheinlich gemacht oder experimentell sichergestellt werden²⁾.

Bei den Wirbeltieren beobachtet man nach völliger Kastration weiblicher Tiere eine Atrophie ihrer Genitalorgane, bei den Säugetieren insbesondere einen starken Rückgang des Wachstums an Uterus, Vagina und Brustdrüse. Alle zyklischen Vorgänge an den Genitalorganen (Brunst- und Menstruationserscheinungen) hören auf, der Geschlechtstrieb erlischt zumeist, die Tiere werden träge, sie „altern“ und werden von den Männchen nicht mehr beachtet. Da an Wirbeltieren nach einer Kastration auch die sekundären Geschlechtscharaktere wenig oder garnicht zur Entwicklung gelangen, treten bemerkenswerte Änderungen in Gestalt, Aussehen und Gebaren der Tiere ein; so ist z. B. die Körpergestalt kastrierter Hühner eine vom normalen Tier sehr verschiedene („neutraler Kapaumentyp“), Sporen und Gefieder nehmen fast männliche Formen an, während Bartlappen und Kamm sehr geringes Wachstum zeigen (PÉZARD 1914); auch ist bekannt, daß man bei vielen horntragenden Sängern die Ausbildung der Gehörne zu unterdrücken imstande ist.

Der Einfluß der Kastration auf den Grundumsatz und Stickstoffstoffwechsel ist zwar vielseitig studiert worden³⁾, jedoch sind die Ergebnisse umstritten; vielleicht tritt nach Kastration eine sehr geringe Erniedrigung des Grundumsatzes ein.

1) Literatur s. bei HARMS, J. W., Körper und Keimzellen, Berlin 1926. — In neuerer Zeit hat nur LOEWE über einen qualitativen, aber nicht gesicherten Nachweis des weiblichen Sexualhormons in einigen Würmern berichtet (1929).

2) FELLNER (1925) wies durch Wachstumswirkung an Uterus und Mamma das Vorkommen des weiblichen Sexualhormons in den Eiern von Hühnern und Fischen nach; SERENI, ENRICO und RIVKA bestätigten das Vorkommen in Fisch-eiern, während LOEWE (1929) mit Sicherheit im weiblichen Frosch (*Rana temporaria*), also in einem Amphibium, Brunsthormon nachzuweisen vermochte.

3) Literatur siehe bei TRENDELENBURG, P., Die Hormone, Bd. 1, Berlin 1929.

Transplantationsversuche weiblicher Keimdrüsen und über die Behebung der Ausfallserscheinungen durch Wiedereinpflanzen von Ovarien.

Allgemein sind die Feststellungen gültig, daß man den größten Teil der geschilderten Ausfallserscheinungen durch Transplantation der Keimdrüsen vermeiden, oder im kastrierten Tier durch Wiedereinpflanzen der Ovarien beheben kann.

An Kaltblütern (Tritonen) sind zwar eine Reihe entsprechender Versuche mit Erfolg angestellt worden (HARMS 1913), die größten und bedeutendsten Arbeiten innerhalb dieser Fragestellung sind aber an Vögeln und Säugetieren durchgeführt; in ihren Ergebnissen haben wir die ersten Beweise für die hormonale Tätigkeit der Ovarien zu erblicken.

Der neutrale Kapaunentyp ist durch Einpflanzen von lebenden Ovarien wieder zur normalen Form umwandelbar, der Kamm wächst, Sporen und Gefieder bilden sich zur Norm zurück. In diesen, wohl zuerst von GUTHRIE (1907) und später von PÉZARD ausgeführten Versuchen erblicken wir das Seitenstück zu den ersten experimentellen Arbeiten von BERTHOLD (1849) am männlichen Tier.

Mit den wichtigen Arbeiten von KNAUER und HALBAN (1900), die später von LIPSCHÜTZ, STEINACH u. a. fortgesetzt wurden, begann die eigentliche experimentelle Forschung am Säugetier. Die nach Transplantation von Ovarien an Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten beobachtete Behebung von Ausfallserscheinungen stellte seinerzeit den ersten exakten Beweis für die Bedeutung der Keimdrüse und für ihre hormonale Tätigkeit dar: Tuben, Gebärmutter und Scheide wachsen wieder normal unter Wirkung des Implantates, die Geschlechtszyklen stellen sich wieder ein und das geschlechtliche Verhalten der Tiere kehrt zur Norm zurück; ihre Trägheit und die „künstliche Alterung“ verschwinden.

Diese Versuchsreihen sind später nach zwei Seiten erweitert worden: an jugendlichen Tieren vermochte man vor eingetretener Geschlechtsreife durch Implantation reifer Ovarien frühzeitig Brunst zu erzeugen und das Wachstum der Genitalorgane zu fördern; andererseits sind senile Tiere, deren Geschlechtsfunktion erloschen ist und welche deshalb im wesentlichen die Ausfallserscheinungen einer Kastration zeigen, durch Implantation von reifen Ovarien zu „verjüngen“, jedenfalls ist in ihrem Aussehen und in ihren Geschlechtsinstinkten ein deutlicher Einfluß des Implantates spürbar (E. STEINACH, KOLB, PETTINARI u. a.).

Über die Behebung von Ausfallserscheinungen durch Injektion von Ovarialextrakten.

Durch die Ergebnisse der Transplantationsversuche war bereits mit Sicherheit gezeigt, daß die dem Ovarium zuerkannten Aufgaben von diesem nicht auf dem Wege der nervösen Korrelation, durch Wirkung über Nervenbahnen, gelöst werden. Der einwandfreie Beweis für die innersekretorische Tätigkeit der Keimdrüse war aber nur erbracht, wenn es gelang, die durch Implantation des Ovariums gewonnenen Ergebnisse auch durch Injektion von Ovarialextrakten (gewonnen aus den Ovarien größerer Säugetiere) zu erzielen. Die Bedeutung dieser Aufgabe ist sofort erkannt (JENTZER und BEUTNER 1900, BUCURA 1907), ihre einwandfreie Lösung erfolgte aber erst einige Jahre nach den erfolgreichen Arbeiten von KNAUER und HALBAN. So erzeugten MARSHALL und JOLLY (1906) durch Ovarialextrakt Brunst an einer Hündin; ADLER, SCHICKELE (1912) und ASCHNER (1913) wiesen auf die nach Injektion von Ovarialextrakt auftretende Hyperämisierung von Uterus und Vagina hin, und in den Arbeiten von FELLNER, ISCOVESCO und OKINTSCHITZ (1914) ist die wichtige Beobachtung gemacht, daß Ovarialextrakte das Wachstum der Genitalorgane, insbesondere von Uterus, Vagina und Brustdrüse⁴⁾ stark erhöhen. Sie arbeiteten mit jungen Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen und vermochten an kastrierten Tieren nicht nur die Atrophie der Genitalorgane aufzuheben, sondern diese zu einem Größenwachstum anzuregen, welches die Norm weit übertraf. E. STEINACH untersuchte Extrakte auf ihre Wirkung am senilen Rattenweibchen und bestätigte auch hier die Erfahrungen der Drüsenimplantation⁵⁾.

Da auch die Geschlechtsinstinkte der behandelten Tiere zur Norm zurückkehren, ist mit der gesamten Untersuchungsfolge, welche später vielseitig nachgeprüft, bestätigt und erweitert wurde (HERRMANN, SEITZ, FRANK, SCHRÖDER u. a.), sichergestellt, daß alle

4) Der Einfluß des Follikelhormons auf die Milchsekretion ist noch heute umstritten; es darf angenommen werden, daß sie einer anderen — vielleicht fötalen — Hormonwirkung unterliegt (STARLING und FOA).

5) LOEWE hat 1926 über den Einfluß von Extrakten auf Vögel berichtet; ganz kürzlich sind interessante Arbeiten von JUHN und GUSTAVSON und von E. LAQUEUR über den Einfluß des weiblichen Sexualhormons auf Hühner, Hähne und Kapaune erschienen, in denen besonders die Beeinflussung des Federwachstums unter Hormonwirkung besprochen wird; E. LAQUEUR und Mitarbeiter vermochten durch gleichzeitige Gaben von männlichem und weiblichem Hormon echten Gynandromorphismus zu erzielen.

erkannten Aufgaben der weiblichen Keimdrüse — naturgemäß mit Ausnahme der Produktion von Eizellen — auch durch Injektion von Ovarialextrakten auszulösen sind.

Über die Wirkung von Hormonextrakten auf Uterus, Vagina, Brustdrüse, sowie auf senile Ratten sollen die beigefügten Bilder auf den Tafeln I—IV ein anschauliches Bild vermitteln.

Die geschilderten Arbeitsergebnisse erbrachten den Beweis, daß im Ovarium zur Lösung seiner vielseitigen Aufgaben eine chemische Substanz, ein Sexualhormon, erzeugt wird, dessen physiologische, pharmakologische und chemische Eigenschaften nunmehr zum Gegenstand der Forschung wurden.

Über quantitative Erkennungsreaktionen des Hormons.

Für die exakte physiologische und pharmakologische Analyse eines Stoffes ist seine Darstellung in weit gereinigter Form, für die chemische Bearbeitung seine vollständige Isolierung und Reindarstellung unerlässlich. Um eine Erfolg versprechende Anreicherung eines Hormons in Rohextrakten und seine Trennung von Begleitstoffen durchführen zu können, bedarf es einer quantitativ auszugestaltenden Erkennungsreaktion, eines Testes. Der Bearbeiter des Problems hat an einen Test die Anforderung seiner Eindeutigkeit, seiner Spezifität, und die einer einigermaßen handlichen Durchführbarkeit zu stellen.

Für das weibliche Sexualhormon gibt es bisher keine chemische oder physikalische Nachweisreaktion, sondern man ist an die Durchführung eines physiologischen Testes gebunden. Grundsätzlich kann man jede spezifische physiologische Wirksamkeit eines Stoffes für seinen Nachweis heranziehen, sofern diese sich quantitativ messen läßt. Zwei seiner physiologischen Wirkungen haben in erster Linie als Testreaktion für das Follikelhormon Verwendung gefunden: die Wachstumswirkung auf die Genitalorgane, insbesondere den Uterus, und die Beeinflussung der zyklischen Genitalvorgänge des weiblichen Organismus; als spezielle Nachweisreaktion, die besonders exakte quantitative Resultate liefern soll, aber für die chemische Bearbeitung des Hormonproblems ohne praktische Bedeutung geblieben ist, wurde als dritter Test die Vermehrung chromaffiner Zellen im Ganglion cervicale uteri vorgeschlagen („Chromtest“).

1. Der Uteruswachstumstest.

Der Uteruswachstumstest hat als erste Nachweisreaktion des weiblichen Sexualhormons den weitaus meisten älteren Arbeiten (1900—1923) zugrunde gelegen. Entweder wurde der nach einer Kastration atrophierte Uterus durch Injektion wirksamer Extrakte wieder zu normalem (auch ungewöhnlich starkem) oder aber der noch nicht entwickelte Uterus juveniler Tiere zu vorzeitigem Größenwachstum angeregt. Gemeinsam mit histologischen Schnittuntersuchungen an Uterus und Vagina und einer Verfolgung hyperämischer Erscheinungen an der Brustdrüse wurden dann die Größenverhältnisse der Genitalorgane behandelter Tiere mit denen unbehandelter Kontrolltiere verglichen. (Vergl. hierzu besonders die Bilder auf Tafel I.)

Der Uteruswachstumstest war nicht ausreichend, um einer erfolgreichen systematischen Reinigung der Hormonextrakte zu dienen. Seine Spezifität wurde — vielleicht zu Unrecht — bestritten, vor allem aber fehlten ihm die genauen, quantitativ durchführbaren Vergleichsgrundlagen.

2. Der „Chromtest“ von BLOTEVOGEL, DOHRN und POLL.

Der Chromtest trägt den Charakter eines besonders fein abstufbaren, quantitativen Testes. Er beruht auf der experimentell gefundenen Tatsache, daß im Ganglion cervicale uteri zur Zeit größeren Hormonreichtums des weiblichen Organismus (besonders also in der Gravidität) ein mit dem Hormonspiegel parallel gehendes Zunehmen der chrombraunen Zellelemente gegenüber dem nervösen Anteil des Ganglions zu beobachten ist. Diese Erscheinung ist rein lokal auf das Ganglion cervicale uteri beschränkt, ihre Abhängigkeit von der Anwesenheit des Sexualhormons konnte sichergestellt werden; an der kastrierten Maus sinkt der Gehalt der chrombraunen Zellen von der Norm ($2,5\% \pm 0,24$) auf einen Wert unter 1% herab, durch Hormongaben ist der Prozentgehalt an chrombraunen Elementen direkt proportional der verabreichten Dosis zu erhöhen.

Diese Erscheinungen werden für einen quantitativen Test folgendermaßen nutzbar gemacht: „Bei Anwendung der Formel: x mg einer zu untersuchenden Substanz reichen hin, um innerhalb von t Stunden das Zahlenverhältnis des p ten Schwangerschaftstages herbeizuführen, hat man die Möglichkeit, durch Einsetzen der betreffenden Zahlenwerte pharmoko-dynamisch jeden Saft und jeden

Stoff auf seine Wirksamkeit auf das Genitalsystem im hormonalen Sinne zu untersuchen⁶⁾.

Der Chromtest, der für manche exakt quantitativen Versuche von großer Bedeutung sein mag, hat für die systematische Auswertung von Hormonölen zum Zweck der Reindarstellung des Follikelhormons keine Bedeutung erlangt, da der etwas ältere Brunst-Zyklus-Test nach ALLEN und DOISY allen Anforderungen der Praxis in vollstem Umfange gerecht wurde. Da dieser Test für die Bearbeitung des Hormonproblems von besonderer Bedeutung wurde, sollen seine Grundlagen ausführlicher erörtert werden.

3. Der Brunst-Zyklus-Test nach ALLEN und DOISY.

Es wurde bereits erwähnt (Seite 3 u. 5), daß auch die zyklischen Vorgänge am weiblichen Genitalapparat, wie die Erscheinungen der tierischen Brunst und die der Menstruation der Frau, hormonal bedingt sind. An der Gesamtheit der zyklischen Erscheinungen ist nach neueren Arbeiten nicht nur das Follikelhormon beteiligt; man vermag verschiedene Phasen der Geschlechtszyklen zu unterscheiden, die durch mehrere Hormone beherrscht werden; eine dieser Phasen verläuft in Abhängigkeit vom Follikelhormon.

Die Geschlechtszyklen sind histologisch im allgemeinen durch einen parallel mit der Eireifung stattfindenden Aufbau und Wiederabbau der Gebärmutter Schleimhaut gekennzeichnet. Das erste Dickenwachstum des Endometriums, die „Proliferationsphase“, verläuft gleichzeitig mit der Entwicklung der GRAAFSchen Follikel unter Wirkung des im Follikel gebildeten weiblichen Sexualhormons, dem hierdurch neben dem Einfluß auf die Ausbildung und das Wachstum der Genitalorgane eine besondere Aufgabe zufällt. Wenn das Ei gereift ist und nach dem Follikelsprung in die Uterustube wandert, bildet sich aus dem Follikelrest das Corpus luteum, welches nunmehr zur Bildungsstätte eines zweiten weiblichen Sexualhormons wird, unter dessen Wirkung ein Umbau des Endometriums erfolgt („Sekretionsphase“⁷⁾).

6) Zitiert nach BLOTEVOGEL, DOHN und POLL, Med. Klin. 1926, Nr. 35.

7) Die Erkenntnis der Funktion des Corpus luteum als Bildungsstätte eines zweiten weiblichen Sexualhormons ist neueren Datums; man betrachtete den gelben Körper lange Zeit ebenfalls als Ursprungsstätte des Follikelhormons und benutzte Corpora lutea als Ausgangsmaterial für dessen Darstellung (ISCOVESCO, SEITZ, FELLNER, FRANK u. a.), während von anderer Seite (OKINTSCHITZ, BROUHA, PARKES u. a.) das Vorhandensein von Follikelhormon im Corpus luteum angezweifelt wurde. Durch systematische Arbeit hat man die Funktion des Corpus luteum erst allmählich klären können (L. FRÄNKEL, R. SCHRÖDER, LOEB, WIESNER, BENCAN u. a.); bahnbrechend für die Idee, daß im Corpus luteum ein zweites

Dieser Prozeß ist als Vorbereitung einer zu erwartenden Schwangerschaft zu deuten, die geschilderte Umbildung der Uterusschleimhaut erfolgt zur Aufnahme eines befruchteten Eies. Findet keine Befruchtung statt, so stirbt das Ei ab, das Corpus-luteum-Gewebe bricht zusammen, und die aufgebaute Uterusschleimhaut wird abgestoßen (Menstruation). Mit der Ausbildung eines neuen Follikels wiederholen sich diese Vorgänge. Follikelreifung, Ausbildung und Rückbildung des Corpus luteum sind wahrscheinlich ihrerseits durch hormonale Reize bedingt, die wohl von der Hypophyse oder auch vom Ei selbst ausgehen (ZONDEK, KNAUS u. a.).

Die Geschlechtszyklen verlaufen in einzelnen Tierklassen unterschiedlich und innerhalb verschiedener Zeiträume, sie sind aber doch in wesentlichen Phasen vergleichbar.

Für die Bearbeitung des Follikelhormons ist es von besonderer Bedeutung geworden, daß STOCKARD und PAPANICOLAOU (1917) eingehend den Geschlechtszyklus am Nagetier studierten; sie verwandten Meerschweinchen, während LONG und EVANS (1922) die Verhältnisse an der Ratte untersuchten. Es konnte durch diese Arbeiten gezeigt werden, daß der unter Wirkung des Follikelhormons erfolgende Aufbau der Uterusschleimhaut sich am lebenden Nagetier durch eine einfache mikroskopische Untersuchung der Zellen aus dem Vaginallumen verfolgen läßt; diese ändern sich mit dem Aufbau des Endometriums in charakteristischer Weise. Da dieser periodische Vorgang, der bei den kleinen Nagern 5—7 Tage währt, in direkter Abhängigkeit von der Gegenwart und der Menge des vorhandenen Hormons steht, aufhört, wenn kein Hormon zugegen ist, also auch wenn das Ovarium entfernt wird, und andererseits am kastrierten Tier durch Injektion von wirksamer Substanz in vollem Umfang wieder hervorgerufen wird, konnten ALLEN und DOISY (1923) auf diesen Erkenntnissen einen brauchbaren Test zum Nachweis des Follikelhormons aufbauen.

Als Versuchsobjekt benutzt man kastrierte weibliche Mäuse oder Ratten. Der Vaginalausstrich solcher Tiere zeigt nach geeigneter Färbung im mikroskopischen Bild dauernd sogenanntes „Ruhestadium“, das durch Vorherrschen von Leukozyten gekennzeichnet ist (Bild 14, Tafel V).

Wird Ovarialhormon injiziert (oder per os verabreicht), so

weibliches Sexualhormon produziert wird, wurde besonders die französische Schule (COURRIER, CHAMPY, GLEY, JOUBLOT, BROUHA u. a.), aber experimentell gesichert wurde das Vorhandensein des Corpus-luteum-Hormons erst in neuster Zeit, vor allem durch CORNER und ALLEN, deren Arbeit nunmehr vielseitig bestätigt und erweitert wurde (KNAUS, CLAUBERG u. a.).

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

mindestens 5—6 Tiere verwandt, bei genauerer Auswertung etwa 12. 75—80% der Versuchstiere müssen positive Wirkung zeigen, damit die injizierte Dosis als Einheit angesprochen wird.

Eine solche Technik vermittelt nicht die Kenntnis des Maximalwertes einer Wirksamkeit, doch erwies sie sich in ihrer einfachen Handhabung als absolut zuverlässiger Führer, um erzielte Anreicherungen zu erkennen; für die chemische Bearbeitung des Hormonproblems sind die „absoluten“ Gehaltszahlen an wirksamer Substanz von geringerem Interesse, als leicht zu ermittelnde, praktisch vergleichbare Maßzahlen. Daß die einfachste Methode zuverlässig ist, haben Erfahrungen an fast 2000 Versuchen mit einem Tiermaterial von 1000 Stück gezeigt und ist durch die Reindarstellung des Hormons erwiesen.

Über die Produktionsstätten des Follikelhormons und über seine physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften.

Mit dem ALLEN-DOISY-Test setzte eine ganz neue Entwicklung in der Bearbeitung des Follikelhormons ein; fast alle gesicherten Ergebnisse über die Bildungsstätten des Hormons, über seine physiologischen Aufgaben und pharmakologischen Eigenschaften sind erst durch Anwendung des neuen Testes erzielt worden, überdies wurde er zur Grundlage für klinisch-therapeutische Verwendung von dosierbaren Hormonpräparaten; daß mit seiner Auffindung außerdem die erste Voraussetzung für eine exakte chemische Bearbeitung erfüllt wurde, ist schon betont worden.

Erst nach der Einführung des ALLEN-DOISY-Testes konnte mit Sicherheit erwiesen werden, daß es sich bei dem betrachteten weiblichen Sexualhormon um das im Follikel erzeugte Hormon handelt. Die quantitative physiologische Auswertung einzelner Gewebsteile des Eierstocks führte einwandfrei zur Feststellung, daß im Follikelinhalt der größte Hormonanteil zu finden ist (FRANK (1922), ALLEN und DOISY (1923), LAQUEUR (1925) u. a.); außerdem ist durch die lange bekannten Erscheinungen der Dauerbrunst bei persistierendem Follikel und der Parallelität von Eireifung und Brunstzyklus bei den Säugetieren, die nur jahreszeitliche Brunstzyklen zeigen, weitgehend gesichert, daß das Zyklushormon in erster Linie dem Follikel entstammt. Allerdings ist auf Grund einiger Befunde nach Schädigung der Follikelreifung durch Röntgenstrahlen ein Teilhaben des interstitiellen Gewebes im Ovarium an der Hormon-

sekretion nicht ganz auszuschließen, da eine Zerstörung des Follikelapparates allein nicht immer Kastrationsatrophie zur Folge hat (HALBERSTÄDTER (1905), BOUIN (1906), PARKES (1926), VON SCHUBERT (1927) u. a.).

Die physiologische Aufgabe des Follikelhormons ist durch die früher gekennzeichneten Versuche klargelegt: es bewirkt normale Ausbildung und normales Wachstum der Genitalorgane und beeinflusst die sekundären Geschlechtsmerkmale, einschließlich vieler psychischer Erscheinungen; als spezielle Aufgabe fällt ihm die Ausbildung der Proliferationsphase im zyklischen Aufbau der Uterusschleimhaut zu.

In der Schwangerschaft scheint das Follikelhormon eine besonders bedeutsame Aufgabe zu erfüllen, die im stark gesteigerten Größenwachstum der Genitalorgane zum Ausdruck kommt. Während dieser Zeit findet eine beträchtliche Steigerung der Hormonproduktion statt. Da während der Gravidität eine Neubildung von Follikeln nicht erfolgt, übernimmt in diesem Zeitraum die Plazenta die Hormonproduktion. Die ursprünglich (auf Grund klinischer Befunde) von HALBAN (1905) erkannte innersekretorische Tätigkeit der Plazenta ist gegenwärtig als gesichert anzusehen. Zwar ist die Zahl der von ihr bereiteten Hormone noch nicht bekannt, jedoch gilt als erwiesen, daß in ihr eine zweite Produktionsstätte des Follikelhormons vorliegt. Nach den Arbeiten von FELS soll im zweiten Monat der Schwangerschaft noch kein Follikelhormon in der Plazenta nachweisbar sein, in späteren Stadien ist sein Vorhandensein von allen Bearbeitern erwiesen (FELLNER (1913), ALLEN und DOISY (1924) u. a.). In 1 kg Plazenta sind etwa 500 bis 1000 ME an Follikelhormon vorhanden, dieser große Hormonreichtum der Plazenta führte dazu, ihre Extrakte als höchstwirksames Ausgangsmaterial für die Bearbeitung des Hormons heranzuziehen.

Für die weitere Entwicklung der Untersuchungen ist die Feststellung von Bedeutung gewesen, daß während der Schwangerschaft ein beträchtlicher Überschuß an Follikelhormon im Harn zur Ausscheidung kommt. LOEWE (1925) hatte schon gezeigt, daß außer im Blut der normalen Frau auch im Harn Follikelhormon nachweisbar ist. Sowohl im Blut wie auch im Harn der Frau findet man eine ausgesprochene Abhängigkeit des Hormongehaltes vom normalen Zyklus (LOEWE, FRANK, SIEBKE); der Hormonspiegel des Blutes ist etwa am 3. Tage vor dem Eintritt der Menstruation am größten, während er im ersten Teil des Zyklus auffallend niedrig ist. Im Harn findet man vor und während der Menstruation wenig Hormon, viel dagegen in der Mitte des Intermenstrums. Während

der Schwangerschaft ist der Hormonspiegel im Blute erhöht (FRANK, FELS, ASCHHEIM), die stark gesteigerte Hormonausscheidung im Harn der schwangeren Frau entdeckten B. ZONDEK und S. ASCHHEIM (1927); sie machten damit eine Beobachtung, die der chemischen Erforschung des Follikelhormons ein neues Ausgangsmaterial darbot.

Von besonderem biologischen Interesse sind die Feststellungen gewesen, daß auch im Hoden und im Harn des erwachsenen Mannes ein Stoff nachweisbar ist, der im ALLEN-DOISY-Test Brunstreaktion auszulösen vermag (FELLNER (1921), DOHRN, ZONDEK (1927), LOEWE, LAQUEUR, BROUHA (1928) u. a.). In 1 kg Hoden finden sich etwa 30 ME, in 1 l Harn 100—200 ME an wirksamer Substanz (E. LAQUEUR; PARKES).

Bemerkenswerterweise haben LOEWE, sowie DOHRN (1926), später auch GLIMM und WADEHN zeigen können, daß man aus pflanzlichen Keimlingen, aus weiblichen Blüten, Hefe, Mehl, Kartoffeln und vielen Pflanzenölen im unverseifbaren Anteil Stoffe mit sexualhormonartiger Wirksamkeit anreichert darstellen kann. Über ihre Beziehungen zum Follikelhormon der Frau ist gegenwärtig noch nichts bekannt, ebenfalls ist die Beziehung dieser Stoffe zum Antisterilitäts-Vitamin E (EVANS und BURR) nicht geklärt (BISCEGLIE, DINGEMANSE). Der biologischen Forschung und der chemischen Analyse ist nach dieser Richtung hin ein interessantes Feld geöffnet.

Die physiologische und pharmakologische Analyse hochgereinigter und mit Hilfe des ALLEN-DOISY-Testes standardisierter Hormonextrakte hat über die bisher geschilderten Eigenschaften des Stoffes hinaus zur Erkenntnis geführt, daß dem Follikelhormon als Antagonisten des männlichen Sexualhormons „antimaskuline“ Wirkungen zukommen. Durch Behandlung eines juvenilen männlichen Tieres mit weiblichem Sexualhormon vermag man die Ausbildung seiner Genitalorgane zu unterdrücken, geschlechtsreife männliche Tiere können durch große Hormongaben sterilisiert werden, während gleichzeitig ein Größenwachstum ihrer Zitzen zu beobachten ist (HERRMANN (1920), FELLNER (1921), STEINACH, LAQUEUR (1926), BEUTHNER und FELS (1928) u. a.).

Auf Herz, Blutdruck, Atmung, Stoffwechsel und auf die Uterusbewegung haben gereinigte Hormonpräparate keinen Einfluß, sie scheinen auch bei hoher Überdosierung frei von jeder Giftwirkung zu sein (LAQUEUR, DOISY (1927) u. a.).

Die Kenntnisse der physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften des weiblichen Sexualhormons haben dazu geführt, standardisierte Hormonpräparate in die therapeutische Praxis ein-

zuführen; sie finden Verwendung zur Behebung von Ausfallserscheinungen, die als Folge einer Hypofunktion des Ovariums eintreten, zur Behandlung von vegetativer oder generativer ovarieller Insuffizienz und klimakterischer Störungen (FRAENKEL, SIEBKE u. a.). Die Darreichung der Hormonpräparate kann durch subkutane Injektion geschehen, da jedoch die früher noch umstrittene Wirksamkeit des Hormons per os durch die ausführlichen Arbeiten von SCHOELLER, DOHRN und HOHLWEG (1930) sichergestellt ist, erscheint auch die perorale Darreichung zweifellos möglich.

Für eine Erfolg versprechende Therapie sind genaue Hormonbilanzmessungen in Abhängigkeit vom Zyklus notwendig, eine Aufgabe, der sich SIEBKE in letzter Zeit mit viel Erfolg zugewandt hat. Zum anderen erscheint nach neueren Ergebnissen in vielen Fällen eine kombinierte Therapie mit den Hormonen des Corpus luteum und der Hypophyse unerlässlich; die wissenschaftlichen Grundlagen der hormonalen Therapie sind in dieser Hinsicht noch nicht geklärt. —