

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Concepcion [Chile].)

## Transplantation von konserviertem Ovarium.

IV. Mitteilung:

### Transplantation von getrocknetem Ovarium\*.

Von

Alexander Lipschütz.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Oktober 1928.)

#### Inhalt.

- I. Einleitung (S. 244).
- II. Neue Fragestellungen (S. 247).
- III. Methode (S. 249).
- IV. Ergebnisse der Versuche (S. 250).
  - A. Versuche mit vollständig getrockneten Ovarien (S. 250).
  - B. Versuche mit unvollkommen getrockneten Ovarien (S. 251).
- V. Diskussion der Versuche (S. 255).
- VI. Mikroskopisches Verhalten der Transplantate (S. 256).
- VII. Mikroskopisches Verhalten der getrockneten Ovarien (S. 259).
- VIII. Zusammenfassung (S. 262).

#### I. Einleitung.

*Lipschütz* und *Üprus*<sup>1</sup> haben gezeigt, daß Eierstock vom Meerschweinchen nach Konservierung bei Temperaturen *unter Null* niemals als Transplantat Wurzel zu fassen vermag. Der Eierstock wird durch die niedrige Temperatur augenscheinlich weitgehend geschädigt, wie schon früher *Biedl*, *Peters* und *Hofstätter*<sup>2</sup> auf Grund einer histologischen Untersuchung von Kanincheneierstöcken geschlossen hatten, die durch Chloräthyl zum Gefrieren gebracht wurden. Mit den histologischen Befunden von *Biedl*, *Peters* und *Hofstätter* und den negativen Transplantationsbefunden von *Lipschütz* und *Üprus*, stehen die Versuche von *Lipschütz* und *Vešnjakov*<sup>3</sup> über den Sauerstoffverbrauch des überlebenden Eierstocks in Einklang. Wird dieses für kurze Zeit bei Temperaturen *unter Null* gehalten und wird darauf sein Sauerstoffverbrauch bei Zimmertemperatur gemessen, so kann dieser wohl noch einige

\* Eine kurze Anzeige erscheint in den C. r. Soc. Biol. — Mitteilung I, II und III erschienen in Pflügers Arch. 220 u. 221 (1928).

Stunden auf bestimmter Höhe bleiben, sinkt aber dann innerhalb 24 Stunden weitgehend oder auf Null ab; von diesem Gesetz gibt es keine Ausnahme. Im Gegensatz dazu weist ein Ovarium, das bei Zimmertemperatur oder bei der Temperatur des schmelzenden Eises (einige Zehntel Grad über Null) isoliert wird, noch *tagelang* einen Sauerstoffverbrauch auf, der erst ganz allmählich an Stärke abnimmt<sup>3</sup>.

Wohl gelang es *Zondek* und *Wolff*<sup>4</sup> durch Überpflanzung eines Ovariums, das 2 Wochen bei Temperaturen *unter* Null aufbewahrt wurde, eine Besserung in den ovariellen Ausfallserscheinungen bei der Frau zu erzielen. Da jedoch die Patientin ihre Eierstöcke *in situ* besaß, so ist wahrscheinlich, daß es sich um eine Anregung der eigenen Eierstöcke durch Stoffe gehandelt hat, die bei der Aufsaugung des zugrunde gehenden überpflanzten Organs gebildet wurden. Ein Überleben des Transplantats ist durch diesen Versuch nicht bewiesen.

*Zondek* und *Wolff*<sup>5</sup> haben jedoch auch über Versuche berichtet, in denen es ihnen gelang, menschliche Eierstöcke im Plasmanährboden am Leben zu erhalten. Diese Versuche von *Zondek* und *Wolff* zusammen mit denjenigen von *Kravkov*<sup>6</sup> und seinen Mitarbeitern, namentlich von *Anitschkov*, am Kaninchenohr und an menschlichen Fingern<sup>7</sup>, gaben mir bereits 1925 die Veranlassung, die Frage der Erhaltung von Eierstöcken auf breiterer Grundlage im Tierversuch zu untersuchen.

Wir haben gefunden<sup>8</sup>, daß Ovarium, das bis 16 Tage auf Eis, bei etwa +1 bis +3°, aufbewahrt wird, noch als Transplantat Wurzel zu fassen vermag. Dasselbe gilt für Eierstöcke, die bis 8 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden<sup>9</sup>. Nach 1—16 tägiger Aufbewahrung auf Eis hatten wir in 11 von 33 operierten Fällen Erfolg, d. h. die überpflanzten Eierstöcke kamen zur endokrinen Wirkung<sup>10</sup>. Nach 1—14 tägiger Aufbewahrung der Eierstöcke bei +7 bis +20° kam es in 7 von 27 Fällen zur endokrinen Wirkung<sup>11</sup>. Am ungünstigsten werden die Verhältnisse, wenn man gesondert die Fälle berücksichtigt, wo bei +13 bis +20° aufbewahrt wurde; nach 1—14 tägiger Aufbewahrung zeigten von 21 Tieren bloß 3 eine endokrine Wirkung des überpflanzten Eierstocks<sup>11\*</sup>.

Wir haben auch den Nachweis führen können, daß es sich nicht etwa um die Wirkung von solchen Hormonen handeln kann, die bereits bei der Überpflanzung im Eierstock vorhanden waren, sondern um eine *Neubildung* von Hormonen, um eine *endokrine Tätigkeit* eines Organes, das nach langdauernder Isolierung aufs neue, im Wirtstier Wurzel gefaßt hat. Die endokrine Wirkung setzt erst nach einer bestimmten *Latenzzeit* ein, wie bei Benutzung normalen Materials, und die Latenzzeit kann bei Benutzung aufgehobenen Materials sogar bis 2 Monate betragen. Die endokrine Wirkung kann viele Monate anhalten, derart, daß beim männlichen Träger des überpflanzten Organs die Hyper-

\* *Anmerkung bei der Korrektur.* In neuen Versuchen mit Herrn Dr. H. Kallas haben wir unter 11 Tieren, die mit Eierstöcken versehen wurden, nachdem diese 11 Tage bei 12—18° aufbewahrt wurden, zweimal Erfolg gehabt.

feminierung mit Milchabsonderung zustandekommt, wie sie *Steinach*<sup>12</sup> beschrieben hat; diese Hyperfeminierung beruht nun, wie ich gezeigt habe<sup>13</sup>, auf einer *Dauerbrunst*, d. h. der Eierstock ist histologisch wochen- und monatelang in einem follikulären Zustand, der für den Höhepunkt der Hormonbildung in der Brunst kennzeichnend ist. Wir erzielten dieselben Ergebnisse auch dann, wenn wir Eierstöcke von *infantilen* Weibchen isolierten und nachträglich verpflanzten; in diesen Fällen waren im überpflanzten Organ Hormone noch nicht vorhanden, sie müssen erst *nach* der Verpflanzung gebildet worden sein. Das alles ist ausreichend, um zu zeigen, daß das wochenlang isolierte Organ als Transplantat wirklich Wurzel faßt und seine endokrine Tätigkeit wieder aufnimmt. Aber wir haben auch durch die *vergleichende mikroskopische Untersuchung von Eierstöcken vor und nach der Überpflanzung*<sup>14</sup> unmittelbar vor Augen führen können, daß ein Ovarium, das bei der Entnahme aus der infantilen Spenderin nur die Anfänge follikulärer Entwicklung aufweist und in diesem Zustand während der Aufbewahrung verharrt, im Wirtstier in follikuläre Entwicklung eintritt, um die Entwicklungshöhe des hormonal tätigen Eierstocks zu erreichen. Wir haben Transplantate von vorher isolierten Eierstöcken *viele Monate* nach der Überpflanzung untersucht; sie wiesen mikroskopisch dieselben Verhältnisse auf wie nach Überpflanzung frischen Materials<sup>14</sup>.

Wir haben schließlich auch die Störungen untersucht, die der isolierte Eierstock erfährt und die sich auch in seinem Verhalten als Transplantat offenbaren. Das Verhalten der Tiere nach Überpflanzung von aufgehobenen Eierstöcken und der mikroskopische Befund am isolierten Ovarium vor der Überpflanzung ergaben in übereinstimmender Weise, daß eine große Anzahl von Primärfollikeln bei der Konservierung weitgehend geschädigt wird oder zugrunde geht<sup>14</sup>. Das Überleben des Transplantats beruht augenscheinlich darauf, daß eine Anzahl von Primärfollikeln während der Isolierung überlebt; es findet sozusagen eine Auswahl unter den Primärfollikeln statt.

## II. Neue Fragestellungen.

*Krawkow*<sup>6</sup> hat über Versuche berichtet, in denen verschiedene Organe, wie Kaninchenohren und menschliche Finger, der Austrocknung im Exsiccator unterworfen wurden und in 2—3 Wochen vollständig mumifizierten. Wurden mumifizierte Organe durch Wasserdämpfe bei Zimmertemperatur erweicht und in warme Ringer-Locke'sche Lösung gebracht, so nahmen sie ihr früheres Aussehen an. Die Gefäße reagierten noch 5 Monate nach der Isolierung auf Adrenalin; Pilocarpin rief nach subcutaner Einspritzung Schweißabsonderung hervor. *Dormann*<sup>7</sup>, im Institut von *Borst*, hat die Befunde nachgeprüft. Die von ihm ausgeführte histologische Untersuchung ergab

keine Spur von Kernfärbung, derart, daß er die nach *Krawkow* aufgehobenen Gewebe für tot erklärte. Aber auch *Dormann* konnte noch an einem 20 Tage im Exsiccator getrockneten Finger die Coffein- und Adrenalinwirkung feststellen; er führt sie auf kolloid-chemische Umwandlungen, wie Quellung, Entquellung und Fällung in einem toten Gewebe zurück. *Pentmann*<sup>7</sup> hat an absterbenden tierischen und menschlichen Schlagadern gefunden, daß die „Funktionstüchtigkeit“ (Contractilität) trotz starker Pyknose der Muskelkerne der Gefäßwand nicht völlig aufgehoben ist.

Eine eingehende Nachprüfung der *Krawkowschen* Versuche, mit histologischer Überprüfung, hat *Morosov*<sup>15</sup> vorgenommen. Er trocknete Kaninchenohren bis 2 Monate und fand, daß die Gefäße nach der Erweichung noch auf Adrenalin, Nicotin und andere Gifte reagierten, wenn auch die Reaktion weniger ausgesprochen war als im normalen Ohr. Auf gefäßweiternde Gifte wie Chloralhydrat und Coffein trat keine Reaktion ein. Die getrockneten Organe büßten 54—73 % ihres Gewichtes ein, so daß niemals alles Wasser entfernt war. Wird die Trocknung länger als 70 Tage fortgesetzt, so kommt eine Wiederbelebung nicht zustande. Die histologischen Veränderungen sind nach *Morosov* nicht so tiefgehend, als man vermuten möchte, wenn auch stellenweise Pyknose vorkommt. Die Blutgefäße sind besser erhalten als die übrigen Gewebsteile.

Vor kurzem hat *Morosov*<sup>16</sup> Versuche ausgeführt, in denen er die Funktions-tüchtigkeit des getrockneten Froschherzens prüfte. Die Wiederbelebung gelingt nicht, wenn das Organ etwa 60 % seines Gewichtes im Exsiccator verloren hat. Beträgt der Gewichtsverlust nach 3ständiger Trocknung bis 25%, so kann das Herz durch Ringerlösung wieder zum Schlagen gebracht werden; auf das *Haberlandt*-sche Hormon reagiert es mit Beschleunigung. Auf Grund der Beobachtungen und der mikroskopischen Befunde von *Morosov* wird man annehmen dürfen, daß bestimmte Teile des Herzens bei der Trocknung weniger geschädigt werden als die übrigen.

Auch an Sarkomgewebe (*Nakahara*<sup>17</sup>) und schließlich auch an ganzen Organismen (Regenwürmer, junge Frösche und Kröten; *P. Schmidt*<sup>17</sup>) sind Austrocknungs-versuche gemacht worden; leider waren mir diese Arbeiten im Original nicht zugänglich.

Die Angaben der russischen Forscher lassen jedenfalls vermuten, daß auch bei weitgehendem Wasserverlust eines Organes bestimmte Teile desselben überleben und nach Erweichung des Organes wieder funktionstüchtig werden.

Nachdem wir nun gezeigt hatten, daß der isolierte Eierstock trotz wochenlanger Aufbewahrung in der Kälte und auch bei Zimmertemperatur die Fähigkeit beibehält, als Transplantat Wurzel zu fassen (siehe Einleitung), fragten wir uns, ob die *Krawkowschen* Befunde sich nicht am Eierstock durch Überpflanzung nachprüfen ließen. Da aber bereits bei Aufbewahrung eines *unbeeinflußten* Ovariums die Aussichten Wurzel zu fassen um so geringer werden, je länger die Aufbewahrung dauert, schien es am Platze, die Versuche zunächst in der Weise zu gestalten, daß die Überpflanzung gleich nach der Trocknung vorgenommen werde.

Auch hielten wir es für notwendig, den Grad der Trocknung in jedem einzelnen Fall durch Wägung zu vergleichen.

Wenn die Trocknung oder richtiger die *unvollkommene* Trocknung ein Überleben nach Überpflanzung nicht ausschließt, so entsteht die weitere Frage, ob die Aussichten eines Eierstocks, nach langdauernder Isolierung auf Eis als Transplantat im Wirtskörper zu überleben, gesteigert werden können, wenn das Ovarium *in getrocknetem Zustande aufbewahrt* wird. Dieser Frage kommt eine sehr große biologische Bedeutung zu. Wir haben sie noch nicht angreifen können\*, da gleich nach der Lösung der grundsätzlichen, an erster Stelle aufgeworfenen Frage, ob ein Eierstock nach der Trocknung überhaupt noch befähigt ist, als Transplantat Wurzel zu fassen, sich verschiedene Einzelfragen ergaben, die nicht aufgeschoben werden konnten. Wie weit darf die Trocknung gehen, wenn Eierstock überleben soll? Welcher Art sind die funktionellen Schädigungen, die an einem nach Trocknung überpflanzten Eierstocke sich aufweisen lassen? Wie ist es überhaupt möglich, daß ein Ovarium die gewaltige, durch Trocknung gesetzte Schädigung zu überwinden vermag? Welche Mechanismen sind hier im Spiele?

### III. Methode.

Sämtliche Versuche wurden an Meerschweinchen ausgeführt. Die Eierstöcke wurden durch Lumbalschnitt aseptisch entnommen und von allem umliegenden Gewebe (Fett, Eileiter) freipräpariert. Namentlich bei Ovarien von jüngeren Tieren habe ich die Zeiss'sche Brillenlupe benutzt, um ganz sicher alles umliegende Gewebe zu entfernen. Der gereinigte Eierstock wurde darauf in ein Wägegläschen gebracht; dieses wurde vorher bei  $120^{\circ}$  trocken sterilisiert und nach Abkühlung gewogen. Nach Wägung des Eierstocks wurde es im offenen Wägegläschen in den Exsiccator über  $\text{CaCl}_2$  gestellt und für einige Stunden im luftverdünnten Raum belassen. Dann wurde wieder gewogen. Sämtliche Wägungen wurden mit der analytischen Wage gemacht. Bei größeren Eierstöcken, die 17—31 mg wogen (vgl. Tabelle 1 und 2), ist der Fehler bei der Berechnung des Prozentwertes des Wasserverlustes sehr gering, auch wenn man Zehntelmilligramme bei der Wägung nicht berücksichtigt. Bei kleineren, die etwa 10 mg wiegen, muß man mindestens mit einer Genauigkeit von 0,5 mg wägen; bei nur 3—5 mg schweren muß der Fehler bei der Berechnung des Prozentwertes des Wasserverlustes sehr groß werden; wir haben nur 2 Versuche mit so kleinen Eierstöcken ausgeführt und beide Versuche verliefen negativ (vgl. Tabelle 3).

\* Anmerkung bei der Korrektur. Wir haben mit Herrn Dr. H. Kallas solche Versuche unterdes ausgeführt und werden später darüber berichten.

In manchen Versuchen ist das Ovarium gleich nach der Trocknung überpflanzt worden. In anderen Versuchen ist es weitere 18 Stunden im *geschlossenen* Wägegläschen belassen worden, um nach wieder vorgenommener Wägung überpflanzt zu werden.

Die Überpflanzung wurde intrarenal ausgeführt, nach der Technik, die ich seit 1923 angewendet und in *Abderhaldens* Handbuch beschrieben habe<sup>18</sup>, und die unterdes von zahlreichen Mitarbeitern mit Erfolg angewendet worden ist. Mit *frischen* Eierstöcken kann man in den einzelnen Reihen mit 80—100% Erfolg rechnen, d. h. das Transplantat faßt Wurzel und kommt zur endokrinen Wirkung. Diese Technik, die mit so großer methodischer Sicherheit zu arbeiten gestattet, hat uns die Möglichkeit gegeben, verschiedene Fragen in Angriff zu nehmen, die sich auf die ovariellen und außerovariellen Bedingungen der erfolgreichen Eierstocksüberpflanzung beziehen.

Die Überpflanzung wurde stets an kastrierten *Männchen* vorgenommen, bei denen nach Transplantation von *frischem* Material die Erscheinungen der von *Steinach*<sup>11</sup> beschriebenen Hyperfeminierung sich mit großer Regelmäßigkeit am Brustdrüsenapparat abspielen. Die Latenzzeit und die ganze Entwicklung der Erscheinungen schwanken in Dauer und Ausmaß nur innerhalb enger Grenzen, wenn bestimmte methodische Bedingungen eingehalten werden, die ich an anderer Stelle erörtert habe<sup>18, 19</sup>. Beim Weibchen sind die Erscheinungen nach Eierstocksüberpflanzung nicht so einförmig wie beim Männchen. So haben wir in den Versuchen, die wir 1923—1925 über die außerovariellen Faktoren der Eierstocks-funktion ausgeführt haben (Gesetz der Pubertät, Gesetz der Follikelkonstanz), und ebenso in unseren Versuchen mit aufbewahrten Eierstöcken stets dem *Männchen* den Vorzug gegeben.

Die Tiere wurden in der Regel viele Monate beobachtet. Einige Tiere wurden auf der Höhe der Entwicklung der Erscheinungen am Brustdrüsenapparat getötet, um Material für die mikroskopische Untersuchung des Transplantates und der Brustdrüsen zu gewinnen.

Die Trocknung der Eierstöcke besorgte Herr *S. Vešnjakov*; die zahlreichen Wägungen machten wir zum Teil gemeinsam, um einander zu kontrollieren. Bei den Operationen halfen die Herren stud. med. *E. Viñals* und *F. Meyer-Klaar*, bei der Herstellung der mikroskopischen Präparate halfen Fräulein *G. Hempel* und Herr stud. med. *E. A. Wilckens*. Die Mikrophotographien verdanke ich Herrn *S. Vešnjakov*.

Herr Dr. *Helmut Kallas* aus Dorpat hat die Untersuchungen über das Verhalten des getrockneten Eierstocks im hiesigen Institut fortgesetzt und auch die im folgenden mitzuteilenden Befunde in einer Reihe von neuen Versuchen nachgeprüft. Herr Dr. *Kallas* hat die Befunde in ihrem ganzen Umfang bestätigt; er wird über seine Versuche in diesem Archiv berichten.

#### IV. Ergebnisse der Versuche.

##### A. Versuche mit vollständig getrockneten Eierstöcken.

Die erste Versuchsreihe haben wir im August 1927 ausgeführt. Die Trocknung der Ovarien wurde in dieser Reihe anders vorgenommen als sonst; die Eierstöcke wurden 5 Tage lang in geschlossenen Gefäßen

über starker Natronlauge gehalten. Bei der Überpflanzung waren sie glashart.

Die Eierstöcke wurden 4 Weibchen entnommen, die 330—440 g wogen. Nach der Trocknung wurden sie in 8 Männchen verpflanzt, die 430—600 g wogen und vor 4 Tagen kastriert wurden. Die Tiere wurden vom 16. VIII. bis 2. XII. beobachtet. Bei keinem der Tiere konnte jemals eine Veränderung am Brustdrüsenapparat festgestellt werden.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden Eierstöcke verpflanzt, bei denen durch Wägung vor und nach der Trocknung festgestellt wurde, daß die Trocknung eine vollständige war. Die frischen Eierstöcke, die Weibchen von 260—340 g entnommen wurden, wogen 17—26 mg; sie befanden sich 5 Stunden im Exsiccator über  $\text{CaCl}_2$  im luftverdünnten Raum (25 cm Druck). Darauf wurden sie aus dem Exsiccator genommen und in geschlossenen Wägegläschchen bis zum nächsten Morgen aufbewahrt. Der Gewichtsverlust betrug 79—83 %. In 6 Vergleichsversuchen wurde ermittelt, daß bei Trocknung bis zum konstanten Gewicht (zunächst 18—48 Stunden im Exsiccator, darauf mehrere Stunden im Trockenschrank bei 110°) ein Gewichtsverlust von 77—81 % eintritt. Der Gewichtsverlust, den die Eierstöcke in der zweiten Versuchsreihe erfahren hatten, zeigt, daß die Trocknung eine vollkommene war.

Die Eierstöcke wurden in 8 Männchen verpflanzt, die 700—815 g wogen. Die Tiere wurden 3—5 Monate beobachtet. Niemals konnten Veränderungen am Brustdrüsenapparat beobachtet werden.

Bei kastrierten Männchen, die 430—815 g wiegen, tritt die Umwandlung des Brustdrüsenapparates in der Regel 2 Wochen nach der Überpflanzung ein; in seltenen Fällen vergehen bis 4 Wochen. Nur bei Wirtstieren vor dem Alter der Geschlechtsreife kann die Latenzzeit bis 6 Wochen betragen, wie ich seinerzeit gezeigt habe<sup>20</sup>. Aus den beiden mitgeteilten Versuchsreihen mit insgesamt 16 Tieren, in die vollkommen getrocknete Eierstöcke verpflanzt wurden, können wir somit den Schluß ziehen, daß das Ovarium nach Verlust seines Wassers die Fähigkeit einbüßt, als Transplantat Wurzel zu fassen.

#### B. Versuche mit unvollkommen getrockneten Ovarien.

Nach dem negativen Ergebnis der ersten Versuchsreihe vom August 1927 glaubte ich, daß die Hoffnung, einen getrockneten Eierstock zur Anheilung in einem Wirtstier zu bringen, aufzugeben sei. Nachdem mir aber die in der Einleitung erwähnte russische Arbeit von Morosov<sup>16</sup> über die unvollkommene Trocknung des Froschherzens bekannt wurde, nahmen wir die Versuche wieder auf.

Den Tieren der ersten Versuchsreihe (siehe A), die sämtlich weiblich negativ geblieben waren, wurden am 2. XII 1927 in die zweite Niere unvollkommen getrocknete Eierstöcke verpflanzt. Sie wurden

3 Stunden im Exsiccator getrocknet. In der Tabelle sind alle Angaben zusammengefaßt, die sich auf diese Versuchsreihe beziehen. Es sei bemerkt, daß ++ in allen Tabellen einen Zustand der Brustwarzen

bezeichnet, der über das normale Verhalten in der Trächtigkeit hinausgeht. Die Brustwarzen haben eine Länge von 5—8 mm, sie sind geschwollen, dick (Abb. 1); die Brustdrüsen sind entwickelt und es kommt in manchen Fällen zu Milchsekretion. In den positiven Fällen unterschieden sich diese Erscheinungen in nichts von denjenigen, die Steinach seinerzeit als Hyperfeminierung beschrieben hat.



Abb. 1. Endokrine Wirkung eines Ovariums, das einen Tag vor der Transplantation im Exsiccator getrocknet wurde und 56% seines Gewichtes eingebüßt hatte (vgl. Tab. 3, Tier III/428). 5½ Monate nach der Transplantation, die am 11. IV. 1928 ausgeführt wurde.

Tabelle 1.

|          | Ge-<br>wicht<br>des ♂<br>g | Ge-<br>wicht<br>des ♀<br>g | Gewicht<br>des frischen<br>Ovariums<br>mg | Gewichts-<br>verlust des<br>Ovariums<br>durch<br>Trocknung<br>% | Weib-<br>licher<br>Effekt | Latenz-<br>zeit<br>Wochen | Dauer<br>der Beob-<br>achtung<br>Monate | Bemerkungen |
|----------|----------------------------|----------------------------|---|---|---------------------------|---------------------------|---|-------------|
| I/254    | 670                        | 360                        | 81  | 34  | ++                        | 1½                        | 5½                                      |             |
| II/253   | 700                        | 360                        | 85  | 36  | 0                         | —                         | 6                                       |             |
| III/256  | 930                        | 545                        | 35  | 47  | 0                         | —                         | 6                                       |             |
| IV/251   | 830                        | 320                        | 25  | 56  | ++                        | 2                         | 5½                                      | Milch       |
| V/252    | 740                        | 320                        | 28  | 57  | 0                         | —                         | 8                                       |             |
| VI/249   | 770                        | 230                        | 18  | 59  | 0                         | —                         | 6                                       |             |
| VII/255  | 940                        | 545                        | 23  | 61  | 0                         | —                         | 6                                       |             |
| VIII/250 | 790                        | 230                        | 17  | 62  | 0                         | —                         | 6                                       |             |

In 2 Fällen ist eine Höchstwirkung zustande gekommen. In einem Fall war auch Milchabsonderung vorhanden. Die Latenzzeiten waren in beiden positiven Fällen von derselben Dauer wie bei Benutzung frischen Eierstockes. Die Tiere wurden über 5 Monate beobachtet, ohne daß eine Rückbildung sich bemerkbar machte. Bei der Sektion konnten in beiden Fällen im Eierstock schon makroskopisch die charakteristischen großen Follikel des hormonal aktiven Ovariums erkannt werden.

Der Wasserverlust betrug in den positiven Fällen 34 bzw. 56%. Rechnen wir mit einem normalen Wassergehalt von 83%, um den höchsten überhaupt beobachteten Wassergehalt zu wählen (vgl. oben), so lag ein Verlust von 40 bzw. 67% vom Gesamtwasser vor.

Ein Teil dieses Wasserverlustes könnte auf Kosten oberflächlich gelegener Follikel geschehen sein; derart, daß „Trocknung“ gleichbedeutend wäre mit Ausschaltung einer Anzahl reifender Graafscher Follikel, einem für die ovariale Dynamik wenig bedeutungsvollen Eingriff. Bevor wir die histologische Untersuchung getrockneter Eierstöcke vorgenommen hatten, mußten wir uns natürlich diesen Einwand machen. Daß jedoch die Trocknung keinesfalls bloß auf Ausschaltung einzelner reifender Graafscher Follikel hinausläuft, geht schon daraus hervor, daß von 8 Versuchstieren nur 2 positiv wurden; es muß die Trocknung tiefer gegriffen haben, wenn eine so weitgehende Herabsetzung der Zahl der positiven Fälle zustande kam. Aber der Einwand läßt sich nicht von der Hand weisen, daß bei schnellerer Trocknung im Exsiccatore sich eine oberflächlich getrocknete Kruste bilde, während zentral ein unbeeinflußter Anteil zurückbleibe. Um diesem Einwand zu begegnen, wurde folgende Abänderung bei der Trocknung getroffen. Die Eierstöcke wurden zunächst für mehrere Stunden in offenen Wägegläschen im Exsiccatore gehalten; darauf wurden sie gewogen und in geschlossenen Wägegläschen bis zum nächsten Morgen an der Luft stehen gelassen. Wir hofften auf diese Weise eine gleichmäßige Verteilung des zurückbleibenden Wassers im Organ zu erzielen. Da der Verschluß der Wägegläschen kein vollkommener ist, so kann allerdings ein weiterer Wasserverlust eintreten; er war jedoch in der Regel nur geringfügig.

Im folgenden seien die Ergebnisse einer solchen Versuchsreihe mitgeteilt.

Tabelle 2.

|          | Gewicht des ♂<br>g | Gewicht des ♀<br>g | Gewicht des frischen Eierstocks<br>mg | Gewichtsverlust des Eierstocks durch % | Weiblicher Effekt | Latenzzeit<br>Wochen | Dauer der Beobachtung<br>Monate | Bemerkungen   |
|----------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|--|-------------------|----------------------|---------------------------------|---|
| I/317    | 480                | 770                | 80                                    | 45                                     | 0                 | —                    | 9                               |   |
| II/319   | 440                | 800                | 68                                    | 45                                     | ++                | 6                    | 9                               | Colostrum u. Milch noch 9 Mon. nach d. Überpflanzung      |
| III/216A | 670                | 730                | 58                                    | 46                                     | ++                | 9 $\frac{1}{2}$      | 9                               | Rückbildung 2 Mon. nach beginnender Umwandlung            |
| IV/211A  | 670                | 730                | 63                                    | 49                                     | ++                | 9 $\frac{1}{2}$      | 9                               | Rückbild. $2\frac{3}{4}$ Mon. nach beginnender Umwandlung |
| V/316    | 470                | 770                | 46                                    | 56                                     | 0                 | —                    | 9                               |   |
| VI/315   | 500                | 730                | 45                                    | 57                                     | +*                | 10—12                | 9                               | Rückbild. 1 Mon. n. beg. Umwandlung                       |
| VII/314  | 500                | 730                | 37                                    | 67                                     | 0                 | —                    | 9                               |   |
| VIII/318 | 520                | 800                | 47                                    | 68                                     | 0                 | —                    | 9                               |   |

\* + bezeichnet einen Zustand, wo die Brustwarzen das Schwangerschaftsstadium erreicht haben. Vgl. <sup>10</sup>.

Die 4 Stunden getrockneten und bis zum nächsten Morgen aufgehobenen Eierstöcke wiesen vor der Überpflanzung einen Gewichtsverlust von 45—68% auf, d. h. sie hatten etwa 54—82% ihres Wassers eingebüßt. In 4 Fällen kam eine weibliche endokrine Wirkung zustande. Volle ++-Wirkung war in 3 Fällen, in denen der Gewichtsverlust weniger als 50% betrug, vorhanden. Jenseits dieses Gewichtsverlustes ist nur 1 Fall von 4 positiv geworden.

Der Verlauf dieser Versuchsreihe verdient in mehrfacher Beziehung große Beachtung. Vor allen Dingen ist bemerkenswert, daß die Latenzzeit in sämtlichen Fällen sehr in die Länge gezogen war: an Stelle der normalen 2—3, höchstens 3 Wochen, haben wir hier Latenzzeiten von  $9\frac{1}{2}$  und mehr Wochen! Wir haben schon gelegentlich unserer früherer Untersuchungen mit Überpflanzung längere Zeit außerhalb des Körpers aufbewahrter Eierstöcke ungewöhnlich lange Latenzzeiten beobachten können<sup>10</sup>; wir hatten damals die Vermutung ausgesprochen, daß diese verlängerten Latenzzeiten auf einer Verringerung der Zahl der entwicklungsfähigen Primärfollikel im durch Aufbewahrung geschädigten Eierstocke beruhen. Hatten wir doch schon vor Jahren festgestellt, daß ein *sehr* kleines Eierstockstückchen erst nach verlängerter Latenzzeit zur endokrinen Wirksamkeit gelangt<sup>21</sup>, obwohl die Menge der gegenwärtigen Ovarialmasse innerhalb weiter Grenzen schwanken kann, ohne daß Störungen des ovariellen Rhythmus zustandekommen. Meine Vermutung, daß im aufbewahrten Eierstock die Zahl der entwicklungsfähigen Primärfollikel durch Schädigung herabgesetzt wird, habe ich durch die mikroskopische Untersuchung vollauf bestätigen können<sup>14</sup>. Augenscheinlich liegt der gleiche Mechanismus auch in den Versuchen mit getrockneten Eierstöcken vor: durch die Trocknung wird die große Mehrzahl der Primärfollikel geschädigt, wenige entwicklungsfähige Primärfollikel bleiben zurück und die Latenzzeit wird in die Länge gezogen. Selbstverständlich braucht sich dies nicht in jedem Einzelfall geltend zu machen; es wird vornehmlich dann zur Geltung kommen, wenn Eierstöcke von *älteren* Weibchen getrocknet werden (Tabelle 2), da die Zahl der Primärfollikel hier von vornherein geringer ist als bei *jüngeren* Weibchen (Tabelle 1).

Der Mechanismus, der der Verlängerung der Latenzzeit zugrunde liegt, ist in einem größeren Zusammenhang beachtenswert: es ist augenscheinlich derselbe Mechanismus, der ein Überleben eines durch Aufbewahrung oder durch Trocknung geschädigten Eierstocks ermöglicht. Es findet eine *Auswahl* unter den Primärfollikeln statt; durch die Primärfollikel, die der Schädigung widerstehen, rettet sich sozusagen das Organ hinüber.

Wenn diese Beweisführung zutreffen soll, dann müssen die Aussichten, daß ein überpflanzter Eierstock Wurzel faßt, größer sein,

wenn es sich um Eierstöcke von sehr jugendlichen Tieren handelt. In Tabelle 3 sei nun eine Versuchsreihe mitgeteilt, in der Eierstöcke von neugeborenen oder ganz jungen Weibchen benutzt wurden.

Tabelle 3.

|         | Gewicht des ♂<br>g | Gewicht des ♀<br>g | Gewicht des frischen<br>Ovariums<br>mg | Gewichtsverlust des<br>Ovariums<br>durch Trocknung<br>% | Weiblicher<br>Effekt | Latenzzeit<br>Wochen | Dauer<br>der Beobachtung<br>Monate | Bemerkungen            |
|---------|--------------------|--------------------|--|---|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------|
| I/429   | 500                | 100                | 9                                      | 52  | ++                   | >6½                  | 5                                  | Milch i. groß. Tropfn. |
| II/423  | 510                | 150                | 18                                     | 56  | ++                   | <2½                  | 5                                  | Milch                  |
| III/428 | 550                | 100                | 8                                      | 56  | ++                   | <4                   | 5½                                 | Milch                  |
| IV/425  | 560                | 90                 | 4                                      | 61  | 0                    | —                    | 5½                                 |                        |
| V/426   | 780                | 90                 | 3                                      | 70  | 0                    | —                    | 5½                                 |                        |

Von 5 Versuchen, in denen die Trocknung stets mehr als 50% betrug, waren 3 positiv. In 2 Fällen lag die Latenzzeit innerhalb normaler Grenzen; in Versuch 1 war sie verlängert.

Die kurze Latenzzeit namentlich in Versuch 2, aber auch in Versuch 3, ist im Zusammenhang mit dem Gesetz der Pubertät<sup>20</sup> beachtenswert. Der Eierstock eines so jugendlichen Tieres ist 2 Wochen nach Verpflanzung endokrin tätig geworden, um die für die Trächtigkeit kennzeichnende Umwandlung des Brustdrüsenaapparates auszulösen. Es liegt eine vorzeitige endokrine Wirkung vor, die darauf beruht, daß das ältere Milieu eine vorzeitige folliculäre Entwicklung ermöglicht hat (*C. Foà, Long und Evans, Lipschütz und Voss<sup>21</sup>, Wiesner*). Die verantwortlichen außerovariellen Körpereinflüsse oder X-Faktoren sind nicht geschlechtsspezifisch<sup>22</sup>. Nach den Untersuchungen von *Zondek* und *Aschheim<sup>23</sup>* und von *P. E. Smith<sup>24</sup>* müssen wir annehmen, daß es sich um Stoffe aus der Vorderhypophyse handelt.

Es fällt schwer zu sagen, ob die Ergebnisse, wie sie in Tabelle 3 dargestellt sind, im Sinne der oben ausgesprochenen Vermutung zu deuten sind, daß die Aussichten des getrockneten Eierstocks, Wurzel zu fassen, um so größer seien, je jünger die Spenderin ist. Die große Zahl der positiven Fälle trotz weitgehender Trocknung und die im Vergleich zu Tabelle 2 kürzeren Latenzzeiten sprechen allerdings zugunsten dieser Auffassung.

#### V. Besprechung der Versuche.

Überblicken wir die mitgeteilten Versuchsreihen, so ergibt sich, daß in keinem einzigen Versuch, wo eine vollkommene Trocknung der Eierstöcke stattgefunden hatte, das Organ zur endokrinen Wirkung gelangt war. Dagegen waren von 21 Versuchen mit unvollkommener Trocknung 9 positiv, d. h. nach einer bestimmten Latenzzeit nahm der überpflanzte Eierstock seine endokrine Wirkung auf.

Man wird sich hier zunächst fragen, welcher Art diese endokrine Wirkung gewesen ist: waren Hormone im Spiel, die im Organ bereits vorgebildet waren, oder handelte es sich um Hormone, die in einem Transplantat neugebildet wurden, nachdem dieses Wurzel gefaßt hatte? Es sind das dieselben Fragen, die wir uns stellen mußten, als wir die Ergebnisse unserer Versuche mit Eierstöcken erörterten, die vor der Überpflanzung längere Zeit außerhalb des Körpers aufbewahrt waren<sup>10</sup>. Und auch hier wieder kann die Antwort nur lauten, daß die Wirkung auf Hormonen beruht, die in einem gefäßversorgten Transplantat neugebildet worden sind. Zwischen dem Augenblick der Überpflanzung und der einsetzenden endokrinen Wirkung, an der Brustwarze beurteilt, liegt eine Latenzzeit von vielen Wochen, unter Umständen sogar von 10 Wochen. Nach allem, was wir über die Latenzzeit nach Eierstocksüberpflanzung beim Meerschweinchen wissen<sup>25</sup>, beträgt die Reaktionszeit, d. h. die Zeit, die die Brustwarze braucht, um eine Wirkung offenbar werden zu lassen, nur wenige Tage, wie vor allem der Entriegelungsversuch gezeigt hat<sup>26</sup>. Dasselbe lehrt auch die Einspritzung von Follikelflüssigkeit oder von Hormonauszügen; man kann die Rötung der Brustwarze beim Meerschweinchen bereits 24 Stunden nach der Einspritzung feststellen. Daß nun in unseren Versuchen mit getrockneten Eierstöcken die Latenzzeit von so großer Dauer war, kann nur dadurch erklärt werden, daß das Organ zunächst Wurzel faßte (Vascularisierungszeit, etwa 1 Woche), um darauf viele Wochen lang in unvollkommener follikulärer Entwicklung zu verharren, bis schließlich endokrin wirksame Follikel reiften (follikuläre Reifungszeit von wechselnder Länge, je nach den außerovariellen Einflüssen oder, wie im gegebenen Fall, je nach den durch Trocknung bedingten ovariellen Faktoren). Die Tatsache, daß eine hyperfeminierende Wirkung mit mächtiger Ausbildung des Brustdrüsenaapparates zustande kam, deutet ferner darauf hin, daß die Hormonbildung längere Zeit ohne Unterbrechung im Eierstock anhielt (Dauerbrunst). Schließlich ist in Betracht zu ziehen, daß in vielen Fällen *jugendliche* Eierstöcke verpflanzt wurden, die vor der Transplantation noch gar nicht die bezüglichen Hormone bildeten, derart, daß die wirksamen Hormone erst im Transplantat entstehen konnten.

So ist schon aus dem ganzen Verlauf der Versuche der Schluß zu ziehen, daß die unvollkommen getrockneten Eierstöcke als Transplantate Wurzel faßten und monatelang im Wirtstier Hormone bildeten.

Dieser Schluß wird durch die mikroskopische Untersuchung vollkommen bestätigt.

#### VI. Mikroskopisches Verhalten der überpflanzten Eierstöcke.

Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, muß auf Grund des Verhaltens des Brustdrüsenaapparates angenommen werden, daß das unvollkommen

getrocknete Ovarium nach der Überpflanzung bis 9 Monate endokrin wirksam verbleiben kann (vgl. Versuch II/319). In den Fällen, die wir bisher mikroskopisch untersucht haben, handelte es sich um Transplantate, die  $5\frac{1}{2}$  Monate alt waren. Es sind das die Versuche I und IV der Tabelle 1, mit einem Wasserverlust von 34 und 56% des Eierstocksgewichts.

*In beiden mikroskopisch untersuchten Fällen wurde Eierstock in tollikulärer Entwicklung angetroffen.* Die Follikel hatten einen Durchmesser von höchstens etwa 1 mm in Versuch I, etwa 0,7 mm in Versuch IV. Außerdem waren Follikel von geringerem Durchmesser vor-

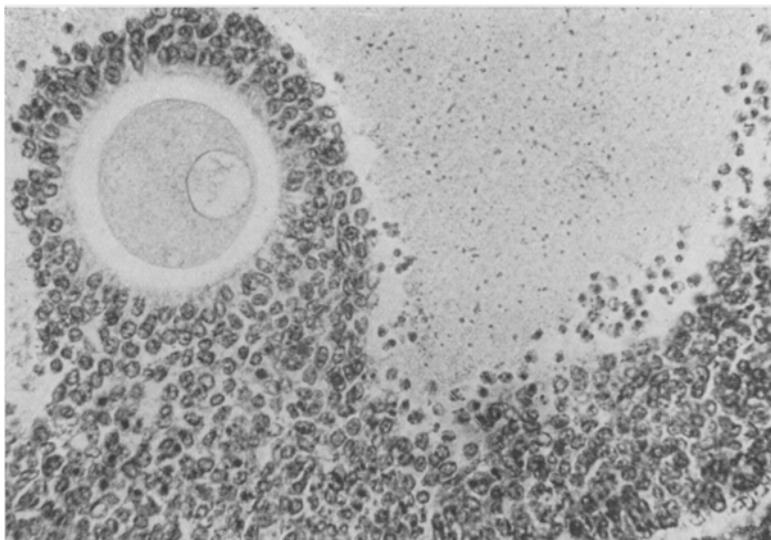


Abb. 2. Teil eines großen Graafischen Follikels (Durchmesser ca. 0,6 mm), aus einem Ovarium, das vor der Transplantation 3 Stunden im Exsicator getrocknet wurde und einen Gewichtsverlust von 56% erfuhr (vgl. Tab. 1, Tier IV/251).  $5\frac{1}{2}$  Monate nach der Überpflanzung. Beginnende Atresie. Fix. Bouin, van Gieson, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 20, Ok. Homal 3. Vergr. 510mal, Red.  $\frac{2}{3}$ .

handen. Die Granulosa war dick, mehrschichtig. In manchen Follikeln waren die ersten Anzeichen der Atresie festzustellen (Abb. 2); die nach der Follikelhöhle gerichteten inneren Schichten der Granulosa wiesen die charakteristische Auflockerung des Gefüges auf, und zahlreiche Kerne waren pyknotisch. Andere Follikel waren in der Atresie weit vorgeschritten. Es waren aber auch große Follikel fast ohne Spur von Atresie vorhanden (Abb. 3).

Soweit beschrieben, unterscheiden sich diese überpflanzten getrockneten Eierstücke nicht von in die Niere überpflanzten frischen. In Versuch I waren mehrere *Blutfollikel* vorhanden. In ein und demselben Schnitt lagen vier Blutfollikel nebeneinander (Abb. 4). In intrarenalen Trans-

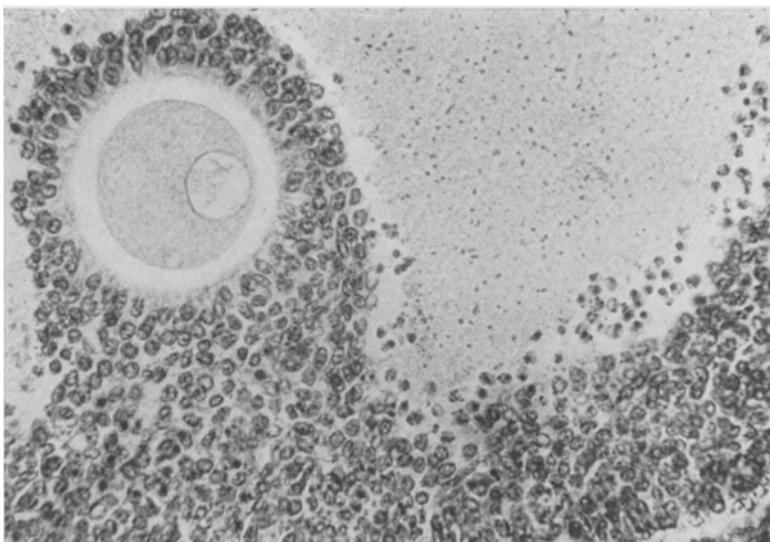


Abb. 3. Teil eines Graafschen Follikels (Durchmesser ca. 0,65 mm), aus einem Ovarium, das vor der Überpflanzung 3 Stunden im Exsiccator getrocknet wurde und einen Gewichtsverlust von 34% aufwies (vgl. Tab. 1, Tier I/254).  $5\frac{1}{2}$  Monate nach der Überpflanzung. Unversehrte Granulosa. Fix. Bouin, Hämatoxylin-Eosin, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 20, Ok. Homal 3. Vergr. 510mal, Red.  $\frac{2}{3}$ .

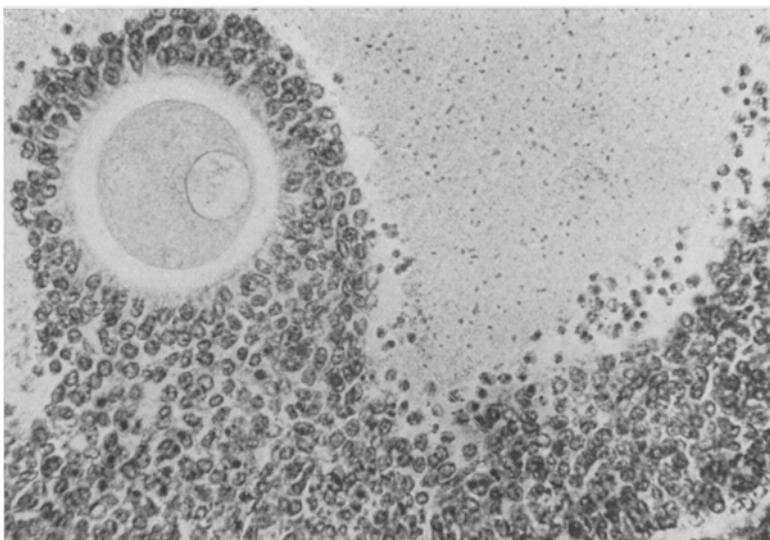


Abb. 4. Teil eines Eierstocks, der vor der Überpflanzung 56% seines Gewichtes durch Trocknung eingebüßt hatte (Tab. 1, Tier IV/251; vgl. Abb. 2).  $5\frac{1}{2}$  Monate danach. Unten 3 Blutfollikel, oben in der Mitte 1 Blutfollikel. Dicke Kapsel zwischen Ovarium und Niere. (Die Blutfollikel brechen leicht beim Schneiden der Paraffinschnitte und verunreinigen dann das Präparat.) Am linken Pol und zwischen den Blutfollikeln Graafsche Follikel in verschiedenen Stadien der Degeneration. Fix. Bouin, van Gieson, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss aa 26 mm, Komp.-Ok. mal 5. Vergr. 56 mal, Red.  $\frac{2}{3}$ .

plantaten frischer Eierstöcke hatten wir sie in Dorpat niemals gesehen, wohl aber im hiesigen Institut in einem 3 Monate alten Transplantat eines Eierstocks, der vor der Verpflanzung 16 Tage auf Eis gehalten wurde<sup>14</sup>. Solche Follikel, deren Höhle von Blut erfüllt ist, sind beim Kaninchen häufig, wie *Hammond*<sup>27</sup> gezeigt hat und wie ich auf Grund jahrelanger Beobachtungen in Dorpat bestätigen kann. In großer Anzahl habe ich Blutfollikel auch in einem Eierstocksstück beim erwachsenen Kaninchen gefunden<sup>28</sup>. Es fragt sich, ob das Vorkommen von Blutfollikeln im ovariellen Transplantat beim Meerschweinchen auf eine Schädigung des Organs bei der Aufbewahrung oder Trocknung zurückzuführen ist. Diese Frage ist zu verneinen, denn Blutfollikel können auch in überpflanzten *frischen* Eierstöcken vorkommen, wie Beobachtungen an dem hiesigen Institut zeigten (vgl. die Mitteilung von *Kallas* in diesem Archiv). Worauf es beruht, daß wir in Dorpat niemals Blutfollikel im überpflanzten Eierstock antrafen, während wir sie hier bereits mehrfach gesehen haben, können wir nicht sagen.

### VII. Mikroskopisches Verhalten der getrockneten Eierstöcke.

Obwohl die Eierstöcke trotz Trocknung die Fähigkeit beibehielten, bei der Überpflanzung Wurzel zu fassen, um viele Monate im Wirtskörper endokrin wirksam zu bleiben, so waren in diesen Versuchen auch Anzeichen dafür vorhanden, daß sie weitgehende Schädigungen erfahren hatten. Es sind dieselben Schädigungen wie bei Aufbewahrung des isolierten Organs ohne Wasserverlust<sup>10</sup>. Die Zahl der positiven Fälle, die bei Benutzung frischer Eierstöcke 80—100% beträgt, sinkt auf etwa 45%, wenn getrocknete Organe überpflanzt werden. Die Latenzzeit ist häufig stark in die Länge gezogen. Auch die Dauer des Überlebens der Transplantate, die Wurzel faßten und endokrin wirksam wurden, scheint geringer zu sein, als wenn frische Eierstöcke verpflanzt werden. Wie weit diese Schädigungen durch die eintägige Aufbewahrung bei Zimmertemperatur bedingt sind, wie weit durch den Wasserverlust durch Trocknung, läßt sich einstweilen nicht sagen; ebensowenig, ob Konservierung in unvollkommen getrocknetem Zustand bei länger dauernder Isolierung günstigere Aussichten bietet als Aufbewahrung ohne Wasserverlust. Darüber können nur weitere vergleichende Versuche Aufschluß geben.

Unsere Versuche zeigen, daß die Trocknung keine vollkommene sein darf, wenn das Organ überleben soll. Wo ist die Grenze der Trocknung gelegen? Unter 9 positiven Versuchen findet sich kein einziger, wo die Trocknung mehr als 57% betrug; der Grad der Trocknung schwankte etwa um 45—70% vom *Gesamtwasser* des Organs.

Wie schon hervorgehoben, war die Art und Weise, wie sich die Schädigung des Eierstocks in diesen Versuchen offenbarte, derjenigen,

gleich, wie man sie bei Benutzung aufbewahrten Materials schlechtweg beobachtet. Wir haben gefunden<sup>14</sup>, daß im längere Zeit ohne Wasser-verlust aufbewahrten Eierstock die Zahl der Primärfollikel abnimmt, während zahlreiche Primärfollikel starke Degenerationsmerkmale an Kern und Protoplasma aufweisen. Die mikroskopische Untersuchung läßt keinen Zweifel darüber bestehen. Das aufbewahrte Organ kommt nach der Überpflanzung zur endokrinen Wirkung, weil augenscheinlich eine Anzahl von Primärfollikeln der Degeneration widersteht und nach der Gefäßversorgung des Implantats in folliculäre Entwicklung eintritt. Ob nun dieselben Gesichtspunkte auch für die getrockneten Eierstöcke zutreffen, darüber kann allein die mikroskopische Untersuchung entscheiden.

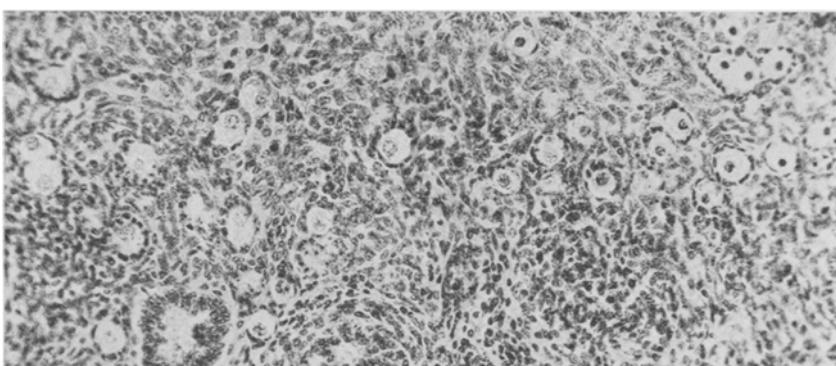


Abb. 5. Teil eines Eierstocks, das 1 Tag getrocknet wurde und einen Gewichtsverlust von 25% aufwies (Nr. 506). Links Primärfollikel von normalem Aussehen; rechts Primärfollikel mit pyknotischen Kernen. Fix. Bouin, Hämatoxylin-Eosin, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 20, Komp.-Ok. mal 5 Vergr. 225 mal.

Wir müssen es dem Pathologen überlassen, die Frage in ihren Einzelheiten mikroskopisch zu untersuchen. Wir beschränken uns hier auf die Mitteilung einiger Beobachtungen, die sich auf die oben aufgeworfene Frage beziehen, ob und in welchem Ausmaß im getrockneten Eierstock Primärfollikel durch Schädigung ausgeschaltet werden.

Wir haben in insgesamt 6 Versuchen den Zustand der Eierstöcke vor und nach der Trocknung untersucht. Der eine Eierstock wurde gleich nach der Entnahme aus dem Körper in Bouin gelegt, während der zweite bis zum nächsten Morgen getrocknet wurde. Es handelte sich durchwegs um ganz junge Tiere, die 95—110 g wogen und nur wenige Tage alt waren. Die jugendlichen Eierstöcke bieten den Vorteil größerer Einheitlichkeit im Organ. Der Grad der Trocknung betrug 25 bis fast 70%.

In 2 Fällen war der Eierstock weitgehend desorganisiert, wenn auch stark veränderte Primärfollikel noch erkannt werden konnten. In allen

übrigen Fällen war der Bau des Organs erhalten, wenn dieses auch weitgehende Veränderungen durch Schrumpfung erfahren hatte. Vor allem fiel die Verdichtung der Kerne auf, ferner die Abnahme des Durchmessers der Zellen.

Am besten war ein Eierstock (Nr. 506) erhalten, dessen ursprüngliches Gewicht 9,5 mg betrug und der 25% durch Trocknung eingebüßt hatte (Abb. 5). Aber auch hier war die Verdichtung der Kerne in den Eizellen und ihr verringelter Durchmesser sehr deutlich festzustellen (Abb. 6). Zahlreiche Primärfollikel schienen normal (Abb. 7), ohne daß ausgeschlossen werden kann, daß nicht auch diese Eizellen durch den Wasserverlust beeinflußt waren. Wie die Eizellen waren auch die Follikelzellen geschrumpft; sehr auffallend war die Verdichtung und starke Verunstaltung ihrer Kerne (Abb. 6).

In 3 Eierstöcken, die einen Gewichtsverlust von 55—70% erfahren hatten (Nr. 508—510), war die Schrumpfung der Primärfollikel ganz allgemein. Der Durchmesser der Eizellen (Abb. 8) war mehr als 2 mal geringer als im normalen Organ. In diesen 3 Eierstöcken waren sicher-

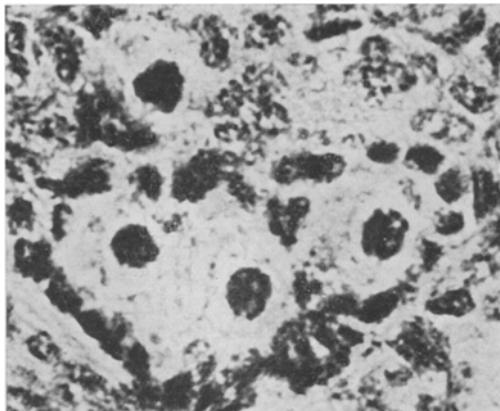


Abb. 6. Vier stark veränderte Follikel nach Trocknung bis zu einem Gewichtsverlust von 25% (dasselbe Ovarium wie Abb. 5). Pyknose der Kerne der Eizellen. Auch Pyknose und Verunstaltung der Kerne in den Follikelzellen. Fix. Bouin, Hämatoxylin-Eosin, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 40, Ok. Homal 3, Vergr. 1000 mal.

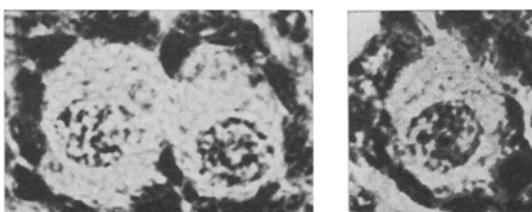


Abb. 7. Drei anscheinend normale Primärfollikel aus demselben getrockneten Eierstock wie Abb. 5 und 6; 25% Gewichtsverlust. Fix.-Bouin, Hämatoxylin-Eosin, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 40. Ok. Homal 3, Vergr. 1000 mal.

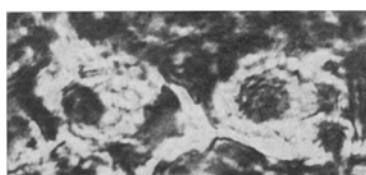


Abb. 8. Zwei stark geschrumpfte Primärfollikel aus einem Eierstock, der bis zu einem Gewichtsverlust von 55% getrocknet wurde. Sämtliche Primärfollikel waren verändert. Fix. Bouin, Hämatoxylin-Eosin, 7  $\mu$ . Obj. Zeiss Apochr. mal 40, Ok. Homal 3, Vergr. 1000 mal.

lich sämtliche Eizellen der Schrumpfung verfallen. Wie wir gesehen haben, ist ein Trocknungsgrad von 55% ungefähr die Grenze, die nicht überschritten werden darf, wenn ein Eierstock bei der Überpflanzung noch Wurzel fassen soll. So wird man die mitgeteilten Befunde wohl in dem Sinne deuten können, daß das Schicksal des nach Trocknung überpflanzten Eierstocks von dem Zustand der Primärfollikel abhängig ist. Sind sämtliche Primärfollikel so weit geschädigt, daß keine entwicklungsfähigen mehr vorhanden sind, so faßt das Organ nicht Wurzel; sind entwicklungsfähige Primärfollikel vorhanden, so kann das Organ überleben. Ist ihre Zahl sehr stark verringert, so kommt die dafür kennzeichnende Störung zustande — die Verlängerung der Latenzzeit. Dagegen lassen uns unsere bisherigen Beobachtungen darüber im unklaren, ob das Organ nur dann überlebt, wenn noch vollkommen normale Eizellen vorhanden sind, oder ob auch Eizellen in Entwicklung eintreten können, die bereits eine Schädigung erfahren haben. Der oben mitgeteilte Fall Nr. 506 mit einer Trocknung von etwa 25% ist ein gutes Beispiel dieser Unklarheit. Wir haben dieselbe Schwierigkeit der Deutung bereits angetroffen, als wir die Verhältnisse bei Aufbewahrung der Eierstöcke ohne Trocknung erörterten. Allein die cytologische Analyse isolierter und getrockneter Eierstöcke wird hier vorwärts bringen können; eine solche Analyse geht jedoch bereits über unsere eingeren Aufgaben hinaus.

Wie schon bei unseren Versuchen mit vor der Überpflanzung bis 16 Tage auf Eis gehaltenen Eierstöcken, waren wir auch bei den vorliegenden Versuchen mit getrockneten Eierstöcken fast bestürzt, zu sehen, welche tiefgehenden geweblichen Veränderungen das Organ bei der Trocknung erfährt, und daß es trotzdem imstande ist, in etwa 45% aller Fälle von Überpflanzung zu überleben.

### VIII. Zusammenfassung.

Überpflanzung *vollkommen* getrockneter Eierstöcke in die Niere kastrierter männlicher Meerschweinchen blieb in *allen* Fällen ergebnislos, *niemals* trat eine endokrine Wirkung ein.

Bei Überpflanzung *unvollkommen* getrockneter Eierstöcke 24 Stunden nach Entnahme kann eine endokrine Wirkung am Brustdrüsenapparat zustande kommen, die, wie bei Benutzung frischen Eierstocks, so weit gedeihen kann, daß Milch gebildet wird. Von 21 derartigen Versuchen fielen 9 positiv aus. Der Gewichtsverlust bei der Trocknung betrug in den positiven Versuchen 34—57%. Die Wirkung kann viele Monate in unveränderter Stärke anhalten; sie wurde in einem Fall bis fast 9 Monate nach Überpflanzung beobachtet.

Die endokrine Wirkung beruht auf einer *Neubildung von Hormonen*

*in dem überpflanzten, im Wirtstier angewachsenen Organ.* Das ergibt sich daraus, daß zwischen Transplantation und beginnender endokriner Wirkung eine sich über Wochen erstreckende Latenzzeit liegt, daß der infantile Eierstock, bevor er verpflanzt wurde, endokrin überhaupt noch nicht wirksam war, und daß die hyperfeminierende Wirkung eine sich über Wochen erstreckende Hormonbildung zur Voraussetzung hat („Dauerbrunst“).

*Die mikroskopische Untersuchung von überpflanzten Organen, die mehr als 5 Monate im Wirtstier überlebten, bestätigt, daß das unvollkommen getrocknete Organ anheilt, follikuläre Entwicklung aufweist und monatelang in endokriner Tätigkeit verharrt.*

Der Verlauf der Versuche, in denen nach Überpflanzung eines unvollkommen getrockneten Eierstocks die endokrine Wirkung eintritt, deutet darauf hin, daß das Organ vor der Überpflanzung eine Schädigung erfahren kann: die Latenzzeit ist häufig von sehr großer Dauer.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß schon bei einem geringen Grade der Trocknung, bei einem Gewichtsverlust von bloß etwa 25%, eine beträchtliche Zahl der Primärfollikel weitgehend geschädigt wird (Schrumpfung der Zellen, Verdichtung der Kerne). Bei höheren Graden der Trocknung können alle Primärfollikel geschrumpft angetroffen werden.

Es ist noch ungewiß, ob die follikuläre Entwicklung im Transplantat allein von wenigen normal verbleibenden Primärfollikeln ausgeht, oder ob auch geschädigte Primärfollikel noch in follikuläre Entwicklung eintreten können.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> Lipschütz, A., und V. Üprus, C. r. Soc. Biol. **91**, 566 (1927). — <sup>2</sup> Biedl, A., H. Peters und R. Hofstätter, Z. Geburtsh. **88**, 495 (1924). — <sup>3</sup> Lipschütz, A., und S. Vešnjakov, C. r. Soc. Biol. **99**, 535 (1928). — <sup>4</sup> Zondek, B., und E. Wolff, Zbl. Gynäk. **1924**, 2195. — <sup>5</sup> Zondek, B., und E. Wolff, Zbl. Gynäk. **1924**, 2193 — Z. Geburtsh. **88**, 474 (1924); zit. Ber. Physiol. **31** (1925). — <sup>6</sup> Kravkov, N., Z. exper. Med. **27**, 127 (1922) — Klin. Wschr. **3**, Nr 9, 368; Nr 10, 414 (1924); zit. nach Ber. Physiol. **14**, 171 (1922) und **29**, 816 (1925). — <sup>7</sup> Vgl. Rössle, R., Fr. Klinge und A. Wertheimann, Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden **8**, T. I, H. 6, 1269 (1927). — <sup>8</sup> Lipschütz, A., und S. Vešnjakov, C. r. Soc. Biol. **97**, 652 (1927) — A. Lipschütz, Rev. Chil. de Hist. Nat. **31**, 18 (1927) — Dtsch. med. Wschr. **1928**. — <sup>9</sup> Lipschütz, A., S. Vešnjakov, R. Paez und O. Soenksen, C. r. Soc. Biol. **97**, 653 (1927). — <sup>10</sup> Lipschütz, A., Pflügers Arch. **220**, 11 (1928). — <sup>11</sup> Lipschütz, A., Pflügers Arch. **220**, 29 (1928). — <sup>12</sup> Steinach, E., Pflügers Arch. **144**, 71 (1912). — <sup>13</sup> Lipschütz, A., und L. Adamberg, C. r. Soc. Biol. **93**, 1413 (1925) — A. Lipschütz und Mitarbeiter, Pflügers Arch. **211**, 697 u. 722 (1926). — <sup>14</sup> Lipschütz, A., C. r. Soc. Biol. **99**, 533 (1928) — Pflügers Arch. **220**, 321 (1928). — <sup>15</sup> Morosov, B. D., J. de Biol. et de Méd. expér. **6**, 509 (1927) (russ.). — <sup>16</sup> Morosov, B. D., J. de Biol. et de Méd. expér. **6**, 63 (1927) — Klin. Wschr. **6**, 2048 (1927). — <sup>17</sup> Zit. nach Morosov<sup>15</sup>. — <sup>18</sup> Lipschütz, A., Pflügers Arch. **207**, 548 (1925) — Ab-

derhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. V, T. 3 B, 357 (1926). —<sup>19</sup> Lipschütz, A., Pflügers Arch. **211**, 745 (1926). —<sup>20</sup> Lipschütz, A., C. r. Soc. Biol. **93**, 1066 (1927) — Pflügers Arch. **211**, 745 (1926). —<sup>21</sup> Lipschütz, A., und H. E. Voss, Pflügers Arch. **207**, 583 (1925) — A. Lipschütz, Pflügers Arch. **211**, 745 (1926). —<sup>22</sup> Lipschütz, A., J. de Biol. et de Méd. expér. **6**, 1 (1926). —<sup>23</sup> Zondek, B., und S. Aschheim, Arch. Gynäk. **130**, 1 (1927). —<sup>24</sup> Smith, P. E., und E. T. Engle, J. of Anat. **40**, 159 (1927). —<sup>25</sup> Lipschütz, A., und Mitarbeiter, Pflügers Arch. **208**, 293 (1925). —<sup>26</sup> Lipschütz, A., und H. E. Voss, C. r. Soc. Biol. **90**, 1239 (1924) — Pflügers Arch. **208**, 272 (1925). —<sup>27</sup> Hammond, J., Reproduction in the Rabbit. Edinburgh 1925. —<sup>28</sup> Lipschütz, A., Brit. J. exper. Biol. **5**, 283 (1928).

---