

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Concepcion [Chile]. — Direktor:
Prof. Dr. A. Lipschütz.)

Weitere Untersuchungen über die Überpflanzung getrockneter Eierstöcke*.

Von

Dr. Helmut Kallas,

Sub-Direktor d. Physiol. Inst. d. Univ. Concepcion.

(Eingegangen am 11. November 1928.)

I. Einleitung.

Lipschütz¹ hat in einer Reihe von Versuchen sicherstellen können, daß das keimfrei entnommene Meerschweinchenovarium wochenlang außerhalb des Körpers überleben, und was besonders beachtenswert ist, seine Fähigkeit zu endokriner Leistung erhalten konnte. Hatte es sich herausgestellt, daß eine Reihe von Organen, wie Herz, Gefäß- und Muskelsystem, nach ihrem Ansprechen auf gewisse Pharmaca wie Adrenalin, Coffein u. a. bewertet, außerhalb des Zusammenhanges mit dem Organismus, auch unter ungünstigen Bedingungen, längere Zeit an ihrer eigenartigen Leistung festhalten und überleben konnten, so war andererseits doch auch die große Hinfälligkeit epithelialer Parenchyme bekannt, und die Tatsache, daß der Eierstock ohne Nährboden wochenlang in funktionsfähigem Zustand aufbewahrt werden konnte, um dieses Überleben durch seine endokrine Tätigkeit nach Überpflanzung in einen fremden Wirtsorganismus augenscheinlich werden zu lassen — diese Tatsache mußte darum von ganz besonderer wissenschaftlicher und auch praktischer Bedeutung sein.

Es hatte sich ferner ergeben, daß Temperaturen wenige Grade über Null für die Erhaltung am günstigsten waren. Schon bei Zimmertemperatur schien das Organ schneller zu leiden und unausgleichbaren Störungen zu unterliegen. Diese Beobachtungen decken sich mit ähnlichen Erfahrungen verschiedener Forscher an anderen Organen². Man wird wohl nicht fehlgehen, die Erklärung für diese, das Überleben begünstigende Wirkung niedrigerer Temperaturen hauptsächlich

* VII. Mitteilung der Reihe „Transplantation von konserviertem Ovarium“
— Eine kurze Anzeige erscheint in den C. r. Soc. Biol.

in der Herabsetzung des Stoffwechsels zu suchen, wodurch einer Anhäufung von schädigenden Stoffwechselprodukten entgegengearbeitet wird. *Lipschütz*¹ hat zeigen können, daß in der Tat der Sauerstoffverbrauch des bei niedrigerer Temperatur gehaltenen Eierstockes um mehrfache gegenüber demjenigen des bei Zimmertemperatur gehaltenen Eierstockes herabgesetzt war. Auch *Fischer*³ berichtet über ähnliche Erfahrungen: Gewebekulturen, bei niedriger oder Zimmertemperatur gehalten, können bis 3 Wochen ohne Umpflanzung weiterleben, während bei Körpertemperatur gehaltene Kulturen alle 2 Tage umgesetzt werden müssen, um der Anhäufung von Stoffwechselprodukten entgegenzuwirken.

War einmal die begünstigende Rolle niedrigerer Temperaturen für das funktionstüchtige Überleben des isolierten Eierstockes festgestellt, so ergab sich in folgerichtiger Weise die Frage, wie sich dieses Organ einem zweiten Verfahren gegenüber verhalten würde, das gestattete, Gewebe und Organe lange Zeit isoliert und lebend bzw. funktionsfähig zu erhalten. Wies doch die Natur selber in der Erscheinung der Anabiose einen Weg, der Leben unter ungünstigsten Verhältnissen über Jahre hinaus möglich macht und hochorganisierte Organismen (Tardigraden, Rotatorien) vor dem Absterben bewahrt. Neuere Untersucher (*Rahm*, *Schulz*, *Singol*⁴) neigen auf Grund experimenteller Untersuchungen zu der Annahme, daß in diesem latenten Lebenszustande der Stoffwechsel völlig stillsteht. Andere Forscher halten daran fest, daß ein wenn auch sehr geringfügiger Stoffwechsel noch statthatt. Wie dem auch sei, durch Trocknung schienen hochentwickelte Organismen sich lange Zeit lebensfähig erhalten zu lassen; hochdifferenzierte Gewebe, Kaninchenohren (*Krawkow*, *Morosow*⁵), menschliche Finger (*Krawkow*, *Anitschkow*) zeigten nach monatelangem Aufbewahren in getrocknetem Zustande Lebenserscheinungen; getrocknete Hautstückchen von Menschen kamen bei Überpflanzung zur Anheilung und zeigten regelmäßig am 4. Tage Mitosen (*Wentscher*, zitiert nach *Morosow*). Durfte man vielleicht vermuten, daß, trotz der durch Trocknung gesetzten Schädigung aus diesem Eingriff für zu konservierende Gewebe und Organe ein Vorteil floß, der durch eine gewollt erzeugte *Vita minima* dem Organ ein längeres Überleben ermöglichte; eine *Vita minima*, die durch Übertragen in einen geeigneten feuchten Nährboden sich wieder zu voller Lebenstätigkeit anfachen ließe? Kurz, wie antwortet der Eierstock auf Trocknung? Wird bei nachfolgender Implantation in ein kastriertes Wirtstier seine endokrine Tätigkeit noch zur Auswirkung kommen? Diese Frage behandelt *Lipschütz* in seiner Arbeit über „Transplantation von getrocknetem Ovarium“ in diesem Archiv. Seine Versuche beweisen, daß der Meer-schweincheneierstock weitgehende Trocknung verträgt und doch funk-

tionstüchtig bleiben kann. Die nachstehende Arbeit will diese wichtigen Befunde nachprüfen. Sie schließt sich daher in Fragestellung und Methodik eng an die genannte Arbeit an und entstand auf Veranlassung von Herrn Prof. *Lipschütz*, dem auch an dieser Stelle für die wichtigen Winke tiefster Dank ausgesprochen sei.

II. Methodik.

Sie war dieselbe wie in den entsprechenden Versuchen von *Lipschütz*. Es sei daher nur das Wichtigste angeführt und für alle Einzelheiten auf diese Arbeit verwiesen.

Nach lumbaler Entnahme, Reinigung und Wägung der Meerschweinchen-eierstöcke kamen sie in den Exsiccator, woselbst bei Zimmertemperatur im luftverdünnten Raum über CaCl_2 die Trocknung vollzogen wurde. Erneute Wägung gestattete, aus dem Gewichtsverlust den prozentuellen Wasserverlust zu ermitteln. Die Wirkung der männlichen kastrierten Meerschweinchen, die *Steinach*-sche Überverweiblichung, galt als Zeichen funktionsfähigen Überlebens des getrockneten in die Niere überpflanzten Eierstockes.

Da die so leicht zu handhabende Überpflanzungstechnik in die Niere von *Lipschütz*, wie ich mich selbst überzeugen konnte, bei Anwendung frischer Eierstöcke in fast 100% der Fälle Erfolg gewährt, so gibt sie die Möglichkeit ein etwa abweichendes Verhalten des nach Trocknung überpflanzten Eierstockes mit großer Sicherheit zu beurteilen.

Dem Einwande, es könnte sich lediglich um Wirkung *vorgebildeter* Hormone handeln, wurde u. a. in der Überpflanzung *jugendlicher*, endokrin noch nicht wirksamer Eierstöcke in erwachsene Meerschweinchen begegnet. Vollständige Trocknungen wurden unterlassen; ihre verderbliche Wirkung auf Eierstöcke war durch die Versuche von *Lipschütz* bereits erwiesen. Größtes Gewicht wurde auf keimfreies Arbeiten gelegt.

III. Ergebnisse.

Die Ergebnisse sind in den folgenden 4 Tabellen zusammengefaßt.

Von insgesamt 20 männlichen kastrierten Meerschweinchen, denen getrocknete Eierstöcke in die Niere verpflanzt wurden, zeigten 8 Tiere voll ausgebildet die Erscheinung der Hyperfeminierung (+) bzw. einen Erfolg an den Brustwarzen, der über die beim trächtigen Weibchen zu beobachtende Entwicklung dieses Organes hinausreichte (++).

In der ersten Versuchsreihe (Tab. 1) wurden erwachsenen Tieren jugendliche getrocknete Eierstöcke eingepflanzt. Der Gewichtsverlust durch Trocknung reichte bis zu 40%. Von 6 Tieren zeigten 5 volle bzw. über das Gewöhnliche hinausreichende endokrine Wirkung, die in 2 Fällen 5 Monate lang beobachtet wurde. *Lipschütz* hatte in einer entsprechenden Reihe auf 5 Tiere 3 positive Ausfälle; bei den 2 negativen Fällen seiner Versuchsreihe handelte es sich um Trocknung mit einem Gewichtsverlust von 61 und 70%.

Tab. 2 und 3 umfassen Versuche mit stärker getrockneten erwachsenen Ovarien. Der durch Trocknung verursachte Gewichtsverlust

Tabelle 1.

	Gewicht des ♂ in g	Gewicht des ♀ in g	Gewicht des frischen Eierstockes in mg	Gewichts- verlust des Eierstockes durch Trocknung in %	Weib- licher Effekt	Latenz- zeit in Wochen	Dauer der Beob- achtung in Monat.	Bemerkung
I/441	760	150	7	10	++	2	1½	In voller Entwickl.
II/442	720	170	8	21	+	2	3½	getötet
III/436	560	150	5	25	++	2	1½	Rückbild. n. 3 Mon.
IV/437	600	150	6	30	++	2	1½	In voller Entwickl.
V/438	720	140	5	32	++	< 4	5	getötet
VI/439	680	140	4	40	0	—	5	desgl.

Tabelle 2.

	Gewicht des ♂ in g	Gewicht des ♀ in g	Gewicht des frischen Eierstockes in mg	Gewichts- verlust des Eierstockes durch Trocknung in %	Weib- licher Effekt	Latenz- zeit in Wochen	Dauer der Beob- achtung in Monat.	Bemerkung
I/566	240	320	25	48	0	—	1½	Rückbild. n. 1 Mon.
II/452	620	270	27	51	+	4	4	
III/563	300	260	31	51	0	—	4	
IV/451	780	300	23	52	0	—	4	
V/564	300	320	12	62	0	—	4	
VI/565	280	270	8	62	0	—	4	
VII/567	280	270	17	62	0	—	4	
VIII/450	800	270	17	67	0	—	4	

Tabelle 3.

	Gewicht des ♂ in g	Gewicht des ♀ in g	Gewicht des frischen Eierstockes in mg	Gewichts- verlust des Eierstockes durch Trocknung in %	Weib- licher Effekt	Latenz- zeit in Wochen	Dauer der Beob- achtung in Monat.	Bemerkung
I/447	510	650	53	37	++	5	5	lebt
II/446	640	650	61	41	++	2½	5	Nach 3 Mon. Rückb.
III/449	680	650	64	44	0	—	4¾	
IV/448	600	650	57	50	0	—	4½	
V/444	620	630	36	55	0	—	5	
VI/445	710	630	31	66	0	—	3½	

des Eierstockes reichte hier bis zu 67%. Es fällt die starke Abnahme der positiven Fälle auf. Von 14 implantierten Tieren zeigten nur 3 das *Steinachsche* Phänomen. In diesen 3 Fällen war der Gewichtsverlust nicht oder nur unbedeutend über 50% hinausgegangen. Dabei kam es

in einem Falle schon nach einem Monat zur Rückbildung. *Lipschütz* hat in zwei entsprechenden Reihen an insgesamt 16 Tieren 6mal endokrine Wirkung des nach Trocknung verpflanzten Eierstockes beobachtet. Bei Trocknungen, die einen Gewichtsverlust über 57% verursachten, hat auch er keinmal ein Wurzelfassen des Transplantates gesehen. So scheint die Grenze, nach deren Überschreiten auf ein funktions-tüchtiges Überleben des Eierstockes kaum zu hoffen ist, bei einer Trocknung von etwa 60% Gewichtsverlust gelegen zu sein.

Tab. 4 soll das Gesagte veranschaulichen. Die Zahlen in den Klammern entsprechen den *Lipschütz*schen Ergebnissen. Wir machen diese *zahlenmäßigen, prozentuellen* Angaben mit allem Vorbehalt und sind uns ihres bedingten Wertes voll bewußt. Kommt es uns doch hier

Tabelle 4.

Gewichtsverlust des Eierstockes durch Trocknung: über 60%		Gewichtsverlust des Eierstockes durch Trocknung: unter 60%	
Gesamtzahl der Tiere 5 (6)		Gesamtzahl der Tiere 15 (15)	
Positiv . . . 0 (0)	Negativ . . . 5 (6)	Positiv . . . 8 (9)	Negativ . . . 7 (6)

in erster Linie darauf an, zu zeigen, daß der Eierstock weitgehende Trocknung überleben und bei Verpflanzung zu voller, anhaltender, endokriner Wirksamkeit gelangen kann. Daß die Zahl der negativen Fälle dabei von anderen Einflüssen mitbestimmt sein kann, daß die Berechnung des Gewichtsverlustes infolge der Trocknung, besonders bei kleinen Eierstöcken, nur bedingte Genauigkeit gestattet, ist uns voll gegenwärtig. Beachtenswert ist aber, in quantitativer Beziehung der Vergleich mit den Ergebnissen *Morosows* fürs Herz: Trocknungen mit Gewichtsverlust von etwa 25—60% gestatteten keinerlei Wiederbelebung, die bei Trocknung bis zu 25% immer möglich war.

IV. Mikroskopie.

Das mikroskopische Verhalten der nach Trocknung eingepflanzten Eierstöcke sei nur kurz berührt. Das histologische Bild entsprach hier weitgehend demjenigen „frischer“ Implantate, wie es von zahlreichen Untersuchern eingehender Beschreibung unterzogen worden ist.

In den mikroskopierten Fällen haben wir zweimal die bemerkenswerte Bildung von *Blutfollikeln* im ovariellen Transplantat beobachten können. Von bindegewebiger Kapsel umhüllt, prall mit roten Blutkörperchen angefüllt, fanden sie sich bis zu 5 in einem Eierstock. Granulosaellen und Eireste ließen sich in ihnen manchmal nachweisen. Auch *Lipschütz* fand in Transplantaten von aufgehobenen oder getrockneten Eierstöcken Blutfollikel. Es liegt aber keine Veranlassung vor, sie als spezifische Schädigung der Konservierung oder Trocknung zu betrach-

ten, da wir sie in gleicher Form auch im Transplantat von frischen Meerschweincheneierstöcken beobachten konnten. *Hammond*⁶, der sie für den Kanincheneierstock beschrieben hat, führt ihre Bildung auf eine Blutung aus den Thekagefäßen eines aus irgendeinem Grunde erhaltenegebliebenen Follikels zurück.

Größere Beachtung verdienen die mikroskopischen Befunde an den getrockneten Eierstöcken vor der Überpflanzung. Vor allem gehen uns die Primärfollikel an, da ja von ihnen die Wiederherstellung der endokrinen Leistung eines Eierstockes nach Überpflanzung ausgeht.

In Schnitten von getrockneten Eierstöcken erweisen sich die Primärfollikel auf den ersten Blick an Zahl äußerst verringert. Bei näherem Zusehen überzeugt man sich jedoch, daß die Primärfollikel in größerer Zahl vorhanden sind, daß sie aber eine weitgehende Schrumpfung erfahren haben. Ich kann die Angaben von *Lipschütz* hierüber nur bestätigen. Es wirkt fast überraschend, daß trotz der weitgehenden Veränderung, die die Primärfollikel aufweisen, es in einer so großen Anzahl von Fällen noch zu einer andauernden endokrinen Wirkung kommt. *Lipschütz* spricht die Vermutung aus, daß es sich um eine Auswahl unter den Primärfollikeln handeln könnte, wobei die widerstandsfähigeren funktionstüchtig überleben und so als Ausgangsmaterial für die endokrin wirksamen Follikel dienen könnten; er wirft ferner die Frage auf, ob nicht auch geschädigte Primärfollikel noch in follikuläre Entwicklung eintreten könnten. Aber auch die Frage, wie weit die durch Trocknung gesetzten Schädigungen ausgleichbar sind, dürfte in Betracht zu ziehen sein. *Morosow* fand bei der mikroskopischen Untersuchung getrockneter und durch nachträgliches Einlegen in Ringersche Lösung „wiederbelebter“ Kaninchenohren nur geringfügige Unterschiede gegenüber dem normalen histologischen Verhalten. *Polovzeva* (angeführt nach *Morosow*) beobachtete an Zellen des Endosperms trockener Samen tiefgreifende pathologische Veränderung der Kerne (Kernpyknose, eckige, unregelmäßige Form der Kerne); die Gewebe schienen tot. Nach Aufquellen in Wasser nahmen sie aber völlig normales Aussehen an.

V. Zusammenfassung.

1. Die Nachprüfung der Angaben von *Lipschütz* über die Möglichkeit, den Meerschweincheneierstock nach Trocknung als endokrin voll und anhaltend wirksames Transplantat zur Anheilung zu bringen, ergab vollkommene Übereinstimmung mit diesen Befunden.

2. Es wurden in insgesamt 8 Fällen positive Ergebnisse erzielt, d. h. in 8 Fällen waren die Eierstöcke, die eine Trocknung bis 51% erfahren hatten, zur Anheilung gelangt und konnten bisher über 5 Monate in voller endokriner Wirksamkeit beobachtet werden.

3. Zusammen mit den von *Lipschütz* mitgeteilten 9 positiven Versuchen steigt die Gesamtzahl der positiven Befunde auf 17, was etwa 60% aller Fälle mit Trocknung bis etwa 60% ausmacht.

4. Die Grenze, bis zu welcher der Gewichtsverlust des Eierstockes nach Trocknung reichen darf, damit das Organ noch funktionstüchtig überleben könne, scheint somit bei einem Gewichtsverlust von 50 bis 60% zu liegen.

5. Die mikroskopische Untersuchung der Transplantate gestattete, zweimal die Bildung von Blutfollikeln zu beobachten. Sie stehen zu der vorausgegangenen Trocknung in keiner Beziehung, da sie sich auch in Transplantaten von frischen Meerschweincheneierstöcken finden. Die Transplantate von getrockneten Ovarien bieten nach Monaten dasselbe Bild dar wie die Transplantate frischer.

* * *

Zum Schluß sei den Herren *S. Vešňjakov*, *F. Meyer* und *E. Vinals* für ihre wertvolle Mitarbeit aufrichtiger Dank ausgesprochen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ Vgl. die hierhergehörige Literatur bei *A. Lipschütz*, Virchows Arch. — ² *Rössle, R., F. Klinge, A. Werthemann*, Das Überleben menschlicher Organe. Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden **1927** VIII, T. I, 1247. — ³ *Fischer, A.*, Technik der Gewebezüchtung. Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden **1927** V, T. I, 637. — ⁴ *Rahm, G.*, Die Trockenstarre (Anabiose) der Moostierwelt. Biol. Zbl. **46**, 452 (1926). — ⁵ *Morosow, B.*, Zur Physiologie und Histologie der mumifizierten Kaninchenohren. (Original russisch.) J. de Biol. et de Méd. exper. **6**, 509 (1927). — ⁶ *Hammond, J.*, and *F. H. A. Marshall*, Reproduction in the Rabbit. Edinburgh-London 1925.