

(Aus dem histologischen Institut der Staatsuniversität Smolensk. — Direktor:
Prof. Dr. *Michalowsky*.)

Über die Wirkung des Pituitrins auf das Wachstum und die Hoden der weißen Ratten.

Von

Assist. Dr. **S. Belawenetz.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Mai 1929.)

In den letzten Jahren beschäftigten sich zahlreiche Forscher mit dem Studium der Hypophysenwirkung auf verschiedene Organe, ihre Arbeiten enthalten aber soviel Widersprüche, daß dadurch gewissermaßen einigen wie *Arwie* und *Bogomoletz* ein Recht gegeben wird, die Frage der Hypophysenwirkung als noch ungelöst zu betrachten.

Es wurden Versuche mit Hypophysenfütterung, deren Verpflanzung und Einspritzungen ihrer Extrakte vorgenommen. Da die Größe der Hypophyse sehr gering ist, so bietet der Versuch mit Hypophysenfütterung große Schwierigkeiten, weil nach *Fissingers* Meinung für die Erzeugung einer Heilwirkung die Hypophysen dreier Ochsen täglich erforderlich sind.

Hypophysenüberpflanzungen wurden nur in den letzten Zeiten vorgenommen (*Schäfer, Clairmont, Ehrlich, Exner, Smith, Zondek, Aschheim, Siegmund, Herman*) und hatten höchst widersprechende Ergebnisse. Dies wird durch technische Schwierigkeiten erklärt, die bei der Erzeugung völlig frischer Hypophysen geschaffen werden, aber auch durch die Notwendigkeit täglicher Überpflanzungen infolge derer raschen Resorption.

Ich machte tägliche Pituitrineinspritzungen zur Erforschung der Hypophysenwirkung. Das Pituitrin A (anter.) ist ein Hypophysenvorderlappenextrakt, das im Institut der experimentellen Endokrinologie in Moskau angefertigt und in Ampullen eingeschlossen wird (0,1 g). Die Versuche wurden an weißen Ratten verschiedenen Alters angestellt, von 3 Wochen bis ganz alten mit weißen Augen. Sowohl Vergleichs- wie auch Versuchstiere waren eines und desselben Wurfes. Es wurden im ganzen 33 Ratten verwendet. Die Versuche wurden in zwei Reihen eingeteilt: Einspritzungen mit kleineren Mengen von 0,1—0,3 für den Tag und Versuche mit größeren Mengen von 0,5—0,9.

Die Pituitrinwirkung wurde auf Wachstum, Gewicht, Temperatur und spermiogene Tätigkeit der Hoden untersucht. Die Injektionen verursachten offenbar Schmerzen, denn die Zahmratten schrien und versuchten sich aus der Hand loszureißen, sie erwiesen sich aber als völlig unschädlich. Die Tiere erkrankten nicht und blieben bis zum Ende der Versuchszeit am Leben. Sie wurden durch Ätherisierung getötet, die Organe nach *Stieve* fixiert und teils in Paraffin, teils in Celloidin eingebettet. Die Färbung geschah mit Eisenhämatoxylin (oder nach Hämatox. *Grotti*), mit Eosin oder nach *Dominici*.

Die Hypophysenwirkung aufs Wachstum und Gewicht ist nach den Schrifttumangaben sehr verschieden.

Robertson, Evans, Smith, Simpson, Wagenen stellten nach Einspritzung des Hypophysenextraktes eine Wachstumsförderung und Gewichtszunahme sowohl bei normalen als auch bei den kastrierten Ratten fest. *Whith* und *Titcomb Landri* beobachteten entweder keine Wachstumsbeeinflussung oder gar dessen Hemmung. Diese widersprechenden Ergebnisse finden eine Erklärung wohl darin, daß die Tiere zur Untersuchungszeit verschiedenen Alters waren. In vielen Versuchen beobachtete man bei den ganz erwachsenen, geschlechtsreifen Ratten nach den Einspritzungen sowohl kleinerer als auch größerer Mengen keine Wachstumsbeeinflussung in förderndem Sinne, hinsichtlich des Gewichts wiesen die Versuchstiere im Vergleich mit den Vergleichsratten manchmal sogar eine Gewichtsabnahme auf.

Bei den jungen heranwachsenden Ratten beobachtete man eine entgegengesetzte Wirkung: durch Einspritzung kleinerer und besonders größerer Mengen wurde das Wachstum der Ratten im Vergleich mit den Kontrolltieren deutlich gefördert. So war z. B. eine fünfwöchige Ratte 2 cm länger, eine 8—10wöchige $1\frac{1}{2}$ cm länger als ein Vergleichstier. Je jünger das Tier war, desto auffallender nahmen sie an Umfang zu. Was das Gewicht anbetrifft, so nahm es entsprechend der Wachstumssteigerung zu, obwohl die Tiere äußerlich eine deutliche Abmagerung aufwiesen. Ich beobachtete niemals eine Wachstumshemmung in den ersten Wochen nach den Einspritzungen, wie es *Robertson* in seiner Arbeit betont. In meinen Versuchen zeigte sich ein rascheres Wachstum im Vergleich zu den Kontrolltieren schon gleich in der 2. bis 3. Woche nach den Einspritzungen.

Was die Temperatur anbetrifft, so wurde sie im Mastdarm während der ganzen Versuchszeit gemessen, und in allen Fällen hatten die Versuchstiere die Temperatur $0,8$ — $1,0^{\circ}$ niedriger als die Vergleichstiere, die der Versuchstiere betrug $37,2$ — $37,8^{\circ}$, die der Vergleichstiere 38 — $38,3^{\circ}$.

Das stimmt nicht mit den Ergebnissen von *Archangelsky* überein, bei dessen Ratten die Temperatur im Mastdarm nach der Hypophysenextirpation 1° fiel.

Meine Versuche zeigten ganz deutlich die Wirkung des Hypophysenhormons auf das Haarwachstum, wovon schon früher *Olivet Jeannot* und *Pulay* berichtet haben. 7—8 Tage nach dem Beginn der Einspritzungen wurde das Fell der Tiere sichtbar länger, die Haare spröder und glanzlos, und das Versuchstier ließ sich sofort ganz leicht von einem Vergleichstier unterscheiden. Als ich aber ganz alte schon haarlose Männchen zu spritzen anfang, bekamen sie auch 7—8 Tage nach der Einspritzung wieder Fell, welches auf den 21. Einspritzungstag seine normale Länge erreichte, aber etwas matt und spröde aussah. Leider konnten die Ratten aus rein zufälligen Gründen nicht vor und nach der Einspritzung photographiert werden. *Olivet Jeannot* stellte auch die Wirkung des Hypophysenhormons auf das Haarwachstum fest. Er beschreibt einen Fall, wo bei einer Frau angeborenes Fehlen beider Eierstöcke beobachtet wurde, die aber gleichzeitig einen normalen Haarwuchs am Schamhügel und in der Achselhöhle aufwies, was er eben durch Hypophysenhormoneinwirkung erklärt.

Jetzt gehe ich zur Beschreibung der Hypophysenhormoneinwirkung auf die samenbildende Tätigkeit der Hoden über.

Die Versuche über die Wirkung des Hypophysenhormons auf die Samenbildung im Hoden wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Versuche mit Einspritzung kleinerer und solche mit Einspritzung größerer Mengen, die scharf entgegengesetzte Ergebnisse hatten.

Die Versuche mit kleinen Pituitrinmengen (von 0,1, die allmählich je nach dem Alter des Tieres bis 0,3 erhöht wurde) wurden an Ratten verschiedenen Alters angestellt, von dreiwöchigen bis ganz alten Männchen, deren samenbildende Tätigkeit allen Zeichen nach (fehlendes Fell, Apathie und kein Geschlechtstrieb, sogar brünstigen Weibchen gegenüber) gänzlich aufgehört hatte. Bei den kleinen dreiwöchigen Männchen erzeugte man durch Pituitrineinspritzungen nicht nur das oben erwähnte stärkere Wachstum, sondern auch eine frühzeitige Geschlechtsreife. Bei unseren Ratten erscheinen die ersten Spermien bei der Verwendung unserer Fütterungsmethode und Haltung gewöhnlich erst nach dem Ablaufe zweier Lebensmonate. Durch Pituitrineinspritzungen traten bei den dreiwöchigen Männchen die ersten Spermien 2 Wochen nach dem Beginn der Einspritzung auf, bei 4wöchigen erschienen diese 7—9 Tage, bei 5wöchigen 5—7 Tage nach dem Anfang der Einspritzung. Also, offenbar, je älter das Tier ist, je mehr es sich der Reife nähert, um so weniger brauchen samenbildende Zellen Hormone, um reif zu werden.

Auf dem beiliegenden Mikrophotogramm 1 und 2 sind die Hoden der 2 dreiwöchigen Ratten eines Wurfes dargestellt — eines Versuchs- und eines Vergleichstieres (Abb. 1, 2). Die Samenkanälchen der Vergleichsratte sind eng und völlig mit mehrschichtigen Spermiogonien und Spermatoocyten ausgefüllt. Spermiden sind nirgends zu sehen. Zahlreiche Mitosen.

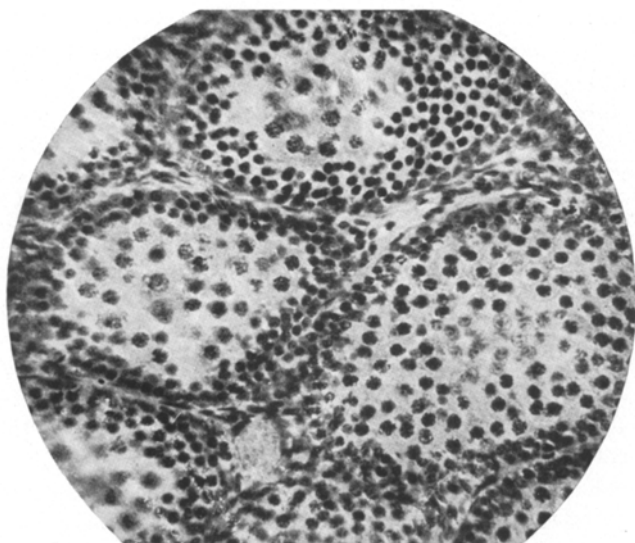


Abb. 1. Der Hoden einer 37 Tage alten Vergleichsratte. Mikr. Leitz. Obj. 6. Okul. 2.

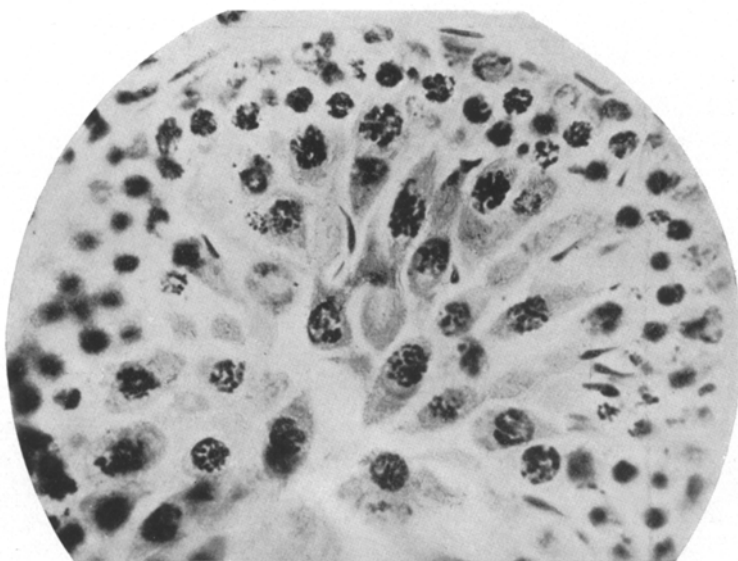


Abb. 2. Der Hoden einer 37 Tage alten Versuchsratte nach den Kleindosen Pituitrininjektion
Mikr. Leitz. Obj. 8. Okul. 2.

Bei einer 37 Tage alten Versuchsratte findet man eine starke Hyperämie des Hodens, alle Gefäße sind erweitert, die Kanälchen zeigen zahlreiche Mitosen und alle Arten der Samenbildungszellen — einzelne erste Spermien sind sichtbar.

Ich habe auch die Zeugungsfähigkeit dieser frühgereiften Ratten auf die Probe gestellt. Bei nicht 2 Monate alten Ratten erwies sie sich als negativ, aber beim Zusammenpaaren eines 2 Monate alten Männchens wurde ein Nachwuchs geschaffen, während das Vergleichstier den Weibchen noch keine Beachtung schenkte.

Smith, Zondek und Aschheim erzeugten bei den Weibchen durch tägliche Hypophysenüberpflanzungen irgendeines Tieres eine frühzeitige Geschlechtsreife, wobei ihre Weibchen viel früher Geschlechtsreife erreichten als meine Versuchsmännchen, bei ihnen trat nämlich diese nach Ablauf von 22 Tagen, die Brunstzeit sogar nach 80, 100 Stunden auf. Es wird damit erklärt, daß trotz aller Wirksamkeit der Extrakte sie doch den Überpflanzungen nicht gleichwertig sind. Hier ist auch nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß Männchen und Weibchen ein ganz verschiedenes Verhalten gegen die reizende Wirkung der Hypophysenhormone aufweisen. Durch Einspritzung kleiner Mengen wurden bei den erwachsenen Rattenmännchen keine Veränderungen in den Hoden hervorgerufen. Dieselben Einspritzungen veränderten bei den alten, gebrechlichen Männchen, deren Geschlechtstätigkeit offenbar völlig verschwunden war (weiße Augen, Fellfehlen, Apathie, Teilnahmslosigkeit den Weibchen gegenüber), schon nach 10—12 Tagen ihr ganzes Benehmen. Sie wurden lebhafter, bewegten sich energischer, bekamen Haarwuchs, wovon oben die Rede war und fingen an, sich mit den Weibchen zu beschäftigen, aber die Befruchtungsfähigkeit war offenbar nicht wieder hergestellt. Die histologische Untersuchung der Hoden ergab eine normale Samenbildung. Ich wage nicht, irgend einige Schlüsse daraus zu ziehen, da ich mit Kleinmengen nur zwei alte Männchen gespritzt habe.

Bei Einspritzung großer Mengen von 0,5—0,8 erhielt ich ganz unerwartete Ergebnisse. Bei jungen Rattenmännchen (3, 5, 8 Wochen alt) wurde eine ganz bestimmte Entwicklungshemmung des samenbildenden Epithels beobachtet. Ungeachtet dessen, daß, wie es oben erwähnt wurde, sie am Gewicht und Umfang zunahmen, wogen ihre Hoden weniger als die der Vergleichstiere. Allerdings war der Unterschied ziemlich gering, aber groß genug, um mit dem Auge sichtbar zu sein, von 0,3 bis 0,7 g.

Die Geschlechtsreife, die gewöhnlich schon Ende des 2. Monats auftritt, erschien jetzt erst nach 3 Monaten. Während das Vergleichstier die Samenbildung in vollem Gange hatte, zeigte das Versuchsmännchen (Abb. 3) eine Hemmung in der Spermienentwicklung bei

Anwesenheit teilweiser Degenerationerscheinungen. Einige Kanälchen sind nur mit Sertolizellen und mehrschichtigen Spermiogonien und Spermatocyten ausgefüllt, andere enthalten nur Sertolizellen und Spermiogonien, und diese haben bei Membrana propria keine Spermacyten, aber in der Kanälchenlichtung sind homogene Kügelchen (zugrundegegangene Spermatocyten) und abgestoßene Spermatoocyten sichtbar, die stellenweise pyknotische Kerne aufweisen, aber manchmal auch mehrkernig sind, was als Folge einer Verschmelzung und Degeneration anzusehen ist. Die Samenbildung tritt erst am Anfang des 4. Mo-

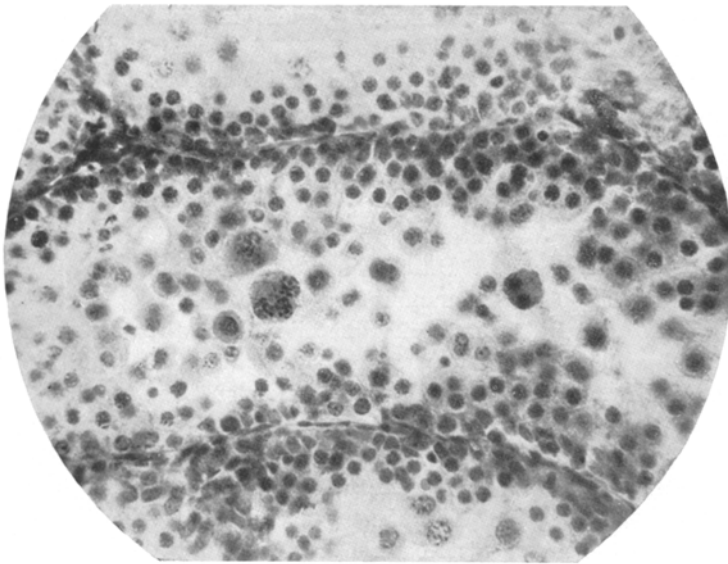


Abb. 3. Der Hoden einer 3monatigen Ratte nach den Großdosen von Pituitrininjektionen.
Mikr. Obj. 6. Okul. 2.

nats auf und verläuft sehr träge. Bei der Untersuchung der Zeugungskraft erwiesen sich die Versuchstiere als vollkommen impotent, obwohl sie mit den Weibchen zusammengebracht waren, deren Geschlechtsreife festgestellt wurde.

Bei Einspritzung großer Mengen (von 0,5—0,7) wiesen erwachsene Männchen (von 3—7 Monaten) keine Veränderungen im Laufe der drei ersten Wochen auf. Aber am Anfang der 4. Woche trat eine deutliche Entwicklungshemmung des germinativen Anteiles auf. Hinsichtlich der Größe und des Gewichts stehen die Versuchshoden denen der Vergleichstiere nach. Mikroskopisch sind (Abb. 4) Hemmungserscheinungen des samenbildenden Epithels festgestellt. Degenerative Erscheinungen sind nirgends sichtbar. Protoplasmazerfall, Vakuolisierung,

massenhafte Kernpyknose fehlen, aber die Samenbildung vollzieht sich nicht richtig und zur Spermienbildung kommt es nicht. In einzelnen Kanälchen sieht man nur Sertolizellen und kleine Spermiogonien, die der Membrana propria anliegen. Stellenweise ist das Lumen der Kanälchen außer Sertolizellen und kleinen Spermiogonien noch mit Spermiogonien älteren Ursprungs angefüllt, — großen vieleckigen Zellen mit dunklen Kernen. Hier und da sieht man in der Kanälchenlichtung auch Spermatocyten — große vieleckige Zellen mit hellen Kernen. Spermoiden sind nirgends zu sehen. Manchmal kommen Spermatocyten-

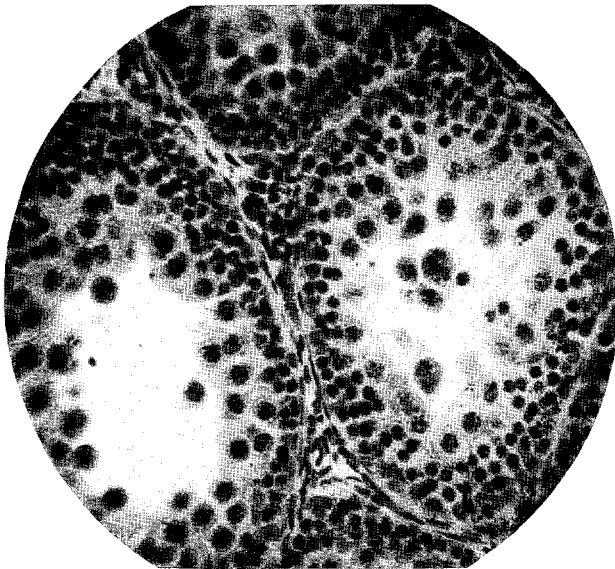


Abb. 4. Der Hoden einer erwachsenen Ratte nach den im Laufe von 4 Wochen ausgeführten Großdosen von Pituitrininjektionen. Mikr. Leitz. Obj. 6. Okul. 2.

anhäufungen mit pyknotischen Kernen vor. Offenbar geht ein Teil von ihnen zugrunde, ohne volle Entwicklung zu erreichen.

Es wird das interstitielle Bindegewebe öfters getroffen und es werden zahlreichere Leydig'sche Zellen gefunden.

Bei der Fortdauer der Einspritzung bleibt die Entwicklungshemmung etwa einen Monat bestehen, aber dann wird die samenbildende Fähigkeit sehr rasch hergestellt und Spermatocyten treten auf. Ebenso rasch entwickelt sich die Samenbildung nach Aufhören der Einspritzung.

Unmittelbar nach dem Aufhören der Einspritzungen wurden 2 Männchen mit 2 brünstigen Weibchen in einem Käfig zusammen eingesperrt. 23—28 Tage darauf haben sie einen gesunden, lebensfähigen Nachwuchs geschaffen. Da die Brunstzeit bei den Weibchen 6—8 Tage

und die Trächtigkeit 17—19 Tage andauert, so waren für die Herstellung der samenbildenden Tätigkeit offenbar nicht mehr als 6 bis 9 Tage nötig.

Durch Einspritzung größerer Mengen wurden bei den alten gebrechlichen Männchen keine Veränderungen hervorgerufen, sie schenken nämlich den Weibchen keine Beachtung. Die histologische Untersuchung ergab Fehlen der Samenbildung und Degeneration des samenbildenden Epithels.

Auf Grund meiner Versuche kann ich widersprechende Angaben erklären, die von *Zondek*, *Aschheim*, *Siegmund* und *Herman* erhalten wurden. *Zondek* und *Aschheim* erzeugten durch Überpflanzung des Hypophysenvorderlappens eine Beschleunigung der Geschlechtsreife und halten die Hypophyse für den einen Sexualitätmotor, während *Siegmund* u. *Herman* bei gleichartiger Überpflanzung weder eine Beeinflussung der Geschlechtstätigkeit, noch eine Beschleunigung der Reifezeit feststellen konnten. Offenbar hängt alles von der Menge des in den Organismus einverleibten Hormons ab. Durch Einführung kleiner Hormonmengen wird die Geschlechtsreife gefördert, durch Einverleibung größerer wird deren Entwicklungshemmung hervorgerufen.

Durch diese große Dosierung erkläre ich auch die Hemmung in der Geschlechtsentwicklung nach Einspritzungen in die Bauchhöhle in Versuchen von *Evans* und *Lang*.

Schlüsse, die aus meiner Arbeit gezogen werden können, sind:

1. Die Hypophysenvorderlappenextrakte beeinflussen in förderndem Sinne nur das Wachstum der jungen heranwachsenden Tiere. Das Wachstum der erwachsenen Ratten bleibt durch die Wirkung der Hypophysenvorderlappenextrakte unbeeinflusst.

2. Die Hypophysenvorderlappenextrakte haben auf den Haarwuchs einen sichtbaren Einfluß.

3. Einspritzungen kleiner Mengen von Hypophysenvorderlappenextrakten wirken beschleunigend auf die Geschlechtsreife der jungen Männchen und rufen eine frühzeitige Spermienbildung hervor. Die Hoden der erwachsenen Ratten bleiben dagegen völlig unbeeinflusst. Bei alten Ratten wird der allgemeine Lebenstonus erhöht.

4. Einspritzung größerer Mengen von Hypophysenvorderlappenextrakten hemmen bei den jungen Männchen die Reifezeit — sie tritt erst im 4. Lebensmonat auf — und stört die normale Samenbildung bei erwachsenen Männchen; auf alte Männchen haben sie keinen Einfluß.

Zum Schluß bringe ich hier den herzlichsten Dank meinem hochgeehrten Lehrer, Prof. *I. I. Michalowsky*, für stetigen Rat und Hilfe.

Schrifttum.

- ¹ Biedl, Innere Sekretion. — ² Zondek, Die Krankheit der endokrinen Drüsen. 1923. — ³ Weil, Die innere Sekretion. 1925. — ⁴ Falta, Erkrankung der endokrinen Drüsen. 1916. — ⁵ Peritz, Einführung in die Klinik der Krankheiten der endokrinen Drüsen (russisch). — ⁶ Smith, Philip, The induction of precocious sexual maturity by pituitary homeotransplantats. Amer. J. Physiol. 1927. — ⁷ Evans Herberts, M. Simpson Miriam, E., Effects of anterior hypophyseal extracts on the male. Anat. Rec. 1926. — ⁸ Siegmund, Herman, Über den Einfluß des Hypophysenvorderlappens auf den Ablauf der Sexualfunktion. Zbl. Gynäk. 1928. — ⁹ Zondek, B. u. Aschheim, Ovulation in der Gravidität ausgelöst durch Hypophysenvorderlappenhormon. Endokrinol. 1928. — ¹⁰ Smith, Philip, Genital Systems responses to daily pituitary transplantats P. Soc. exper. biol. Med. 1927. — ¹¹ H-Archangelsky, Über den Einfluß einer partiellen und völligen Hypophysenexstirpation auf den Tierorganismus. — ¹² Below, N. A., Physiologie der Typen (russisch). — ¹³ Bogomoletz, Die Krise der Endokrinologie (russisch). — ¹⁴ Waggenen, Gertrude, The weight and dimensional effects of anterior hypophyseal extracts of the male rat. Anat. Rec. 1927. — ¹⁵ Olivet, Jeannot, Die sekundäre weibliche Behaarung — ein Hypophysenmerkmal. Z. ges. Anat. 1927. — ¹⁶ Zondek, B. u. Aschheim, Hypophysenvorderlappen und Ovarium. Arch. Gynäk. 1927. — ¹⁷ Pulay, Erwin, Zur spezifischen Ernährung der Haare. Med. Klin. 1922. — ¹⁸ Robertson-Brailsford, Ray Experimental Studies on growth. Austral. exper. Biol. 1926. — ¹⁹ Evans, Herbert, Simpson, Miriam, Experimental Gigantism-differential effects of anterior hypophyseal extract of normal and gonadectomised male. Anat. Rec. 1927.
-