

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Anthropologie, menschliche Erblehre und Eugenik in Berlin-Dahlem [Direktor: Prof. Dr. E. Fischer] und der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Berlin-Spandau [Direktor: Prof. Dr. B. Zondek].)

Das Hypophysenvorderlappenhormon (Prolan) und die männliche Keimdrüse.

Experimentelle Untersuchungen an Ratten.

Von

Heinz Boeters.

Mit 29 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 16. September 1930.)

Gliederung.

- I. Einleitung.
- II. Theoretischer Teil.
 - A. Problemgeschichte und Problemstellung.
 - 1. Hypofunktion der Hypophyse.
 - 2. Hyperfunktion der Hypophyse.
 - a) Zufuhr von H.V.L.-Hormon beim weiblichen Tier.
 - b) Zufuhr von H.V.L.-Hormon beim männlichen Tier.
 - 3. Problemstellung.
 - B. Die normale Entwicklung der Ratte.
 - 1. Die Körperentwicklung.
 - 2. Die Samenbildung.
- III. Experimenteller Teil.
 - A. Methodische Bemerkungen.
 - B. Histologische Ergebnisse nach Prolanbehandlung bei männlichen Ratten.
 - 1. Versuche an unreifen Tieren.
 - 2. Versuche an reifenden Tieren.
 - 3. Versuche an erwachsenen Tieren.
 - 4. Versuche an greisen Tieren.
 - 5. Versuche an kastrierten Tieren.
 - 6. Versuche an vasoligierten und kryptorchischen Tieren.
 - C. Biologische Ergebnisse nach Prolanbehandlung.
 - 1. Versuche an reifenden Tieren.
 - a) Kreuzungsversuche mit jungen Prolanmännchen.
 - b) Kreuzungsversuche mit jungen Prolanweibchen.
 - c) Prolanwirkung auf das Körpergewicht junger Rattenmännchen.
 - 2. Kreuzungsversuche an erwachsenen Tieren.
 - 3. Kreuzungsversuche an greisen Tieren.

- IV. Besprechung der Versuchsergebnisse.
 - A. Die Entwicklungserregung am Hoden.
 - B. Schädigung am Keimgewebe.
 - C. Zusammenhänge zwischen Hypophyseninkret und dem spezifischen Hormon des Hodens.
- V. Schlußsätze.
- VI. Schriftenverzeichnis.

I. Einleitung.

Die wichtigste Frage der menschlichen Erblehre ist noch ungelöst: Die Frage nach der Neuentstehung von krankhaften Erbanlagen. Eine Reihe von Versuchen, vor allem die von *Müller* und seiner Schule, weisen in diese Richtung und sind zu diesem Zweck unternommen. Bisher sind außer Röntgenstrahlen und vielleicht Alkohol alle Einwirkungen auf tierische Organismen ohne Erfolg geblieben, wie *Fischer* (1930) kürzlich hervorgehoben hat.

Es liegt nahe, zunächst die Verhältnisse einer gestörten Keimdrüsereife zu untersuchen, um dann die Möglichkeit zu haben, in gestörtem Bildungsgang sich entwickelnde Keimzellen (Ei- wie Samenzellen) durch Gifte zu beeinflussen.

Von diesem Gedanken ausgehend, hat mir mein verehrter Lehrer, Herr Prof. Dr. *E. Fischer*, die Aufgabe gestellt, das Hypophysenvorderlappenhormon (Prolan), dessen Beziehung zum Eierstock durch die Arbeiten von *B. Zondek* weitgehend analysiert ist, in seiner Wirkung auf die männliche Keimdrüse im Tierversuch genauer zu prüfen.

An dieser Stelle möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. *E. Fischer* für die Überlassung dieses Themas, für seine unermüdlichen Anregungen und seinen vielseitigen Rat bei der Ausführung der Arbeit herzlichen Dank zu sagen.

II. Theoretischer Teil.

A. Problemgeschichte und Problemstellung.

Auf der Grundlage der bisherigen klinisch-pathologischen und biologisch-experimentellen Ergebnisse der Forschung kann man heute den Versuch machen, aus den vielerlei Einflüssen, die die Hypophyse auf den Gesamtorganismus ausübt, Wirkung und Bedeutung der Hypophysenleistung auf die Keimdrüsen herauszuarbeiten. Widersprechende Ergebnisse der früheren Zeit dürfen soweit hier wegbleiben, als sie durch die Fortschritte der neueren Forschung für widerlegt erachtet werden können.

Offensichtlich spielt die Hypophyse in verschiedenen Lebensaltern eine verschiedene Rolle. In der ersten Lebenszeit scheint sie, wie auch die anderen inkretorischen Drüsen, kaum eine merkliche Leistung zu haben (*Rößle* [1923]). Von ihrer Bedeutung für Pubertätsentwicklung, Reifezustand und Altersrückbildung der Keimdrüsen wissen wir folgendes¹.

¹ Über Einzelheiten und Schrifttumangaben vgl. vor allem *P. Trendelenburg* (1929).

1. Hypofunktion der Hypophyse.

Die hypophysären, durch Unterfunktion oder Zerstörung des Vorderlappens bedingten Krankheiten des Menschen, ebenso die Folgen der experimentellen Entfernung der Hypophyse beim Tier (*Cushing, Aschner, Ascoli und Legnani, Smith*) haben uns gelehrt:

1. Für die Reifung der Keimdrüsen und den Eintritt der Geschlechtsreife ist die Hypophyse von entscheidender Bedeutung.

Beim hypophysären (dyspituitären) Zwergwuchs (*Nanosomia pituitaria*) kommen Keimdrüsen und sekundäre Geschlechtsmerkmale nicht zur Reifung; ferner bleibt das Körperwachstum auf kindlicher Stufe stehen, die Epiphysenfugen bleiben dauernd offen (*genereller Infantilismus*).

Die Ausschneidung der Hypophyse am unreifen Säugetier (Ratte, Hund) ergibt Unterentwicklung von Keimdrüse und sekundärem Apparat, ferner verspäteten Eintritt der Geschlechtsreife. Am Skelet zeigt sich starke Wachstumshemmung, anscheinend ohne Störung der Proportionen.

2. Für den erwachsenen Organismus scheint Unterfunktion, Zerstörung oder Schwund der Hypophyse nicht von der vorher geschilderten entscheidenden Bedeutung zu sein.

Immerhin ist für Krankheitsbild der *Dystrophia adiposo-genitalis*, beruhend auf Unterfunktion der Hypophyse, charakteristisch, daß sie neben starkem Fettansatz nach Art des Kastratentyps häufig zu regressiven Störungen im Geschlechtsbereich führt, nämlich zu Unterentwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale, zum Ausfall der psychosexuellen Leistungen und zu Atrophie der Geschlechtsdrüsen. Ebenso geben eine Reihe von Untersuchern an, daß die operative Entfernung der Hypophyse am erwachsenen Tier ebenfalls, wenn auch nicht so deutlich ausgeprägt, Fettansatz und Rückbildung des Geschlechtsapparates bewirkt.

3. Über die Rolle, die die Hypophyse bei den Rückbildungerscheinungen an den Geschlechtsteilen im Greisenalter spielt, fehlen in diesem Zusammenhang nähere Kenntnisse.

Zu betonen ist hier, daß die oben beschriebenen Erscheinungen in gleicher Weise für beide Geschlechter gelten und an den *Vorderlappen* der Hypophyse¹ gebunden sind. Der Hinterlappen ist ohne Wirkung. Ob die Hirngrundfläche irgendwie beteiligt ist, ist nicht sicher.

2. Hyperfunktion der Hypophyse.

Die unmittelbar anschließende Frage, ob wir in dem H.V.L. die Bildungsstätte eines Hormones zu sehen haben, das die Geschlechtsdrüsen zur Reife bringt und im Reifezustand erhält, ist experimentell

¹ Abgekürzt H.V.L.

bis heute nur für den Eierstock durch die Arbeiten der letzten 7 Jahre eindeutig und positiv entschieden.

a) Zufuhr von H.V.L.-Hormon beim weiblichen Tier.

I. Die Wirkung am *kindlichen* Eierstock.

Zondek und *Aschheim* (1926, 1927) konnten in ausgedehnten Versuchsreihen mit Mäusen zeigen, daß weder die innersekretorischen Drüsenstoffe, noch andere Körnergewebe und -säfte, noch unspezifische Eiweißstoffe den kindlichen Eierstock zur Reife bringen mit Ausnahme des H.V.L. Innerhalb weniger Tage ruft die Einpflanzung von frischem H.V.L.-Gewebe durchgreifende Veränderungen am Eierstock des infantilen Nagetiers hervor. Diese morphologischen und physiologischen Reaktionen beschreiben die Untersucher folgendermaßen:

H.V.R.¹ 1. Follikelreifung und Ovulation, Auslösung des weiblichen Sexualhormons im folliculären Apparat und dadurch sekundär Brunstreaktion an Uterus und Scheide.

H.V.L. 2. Massenblutung in erweiterte Follikel (= „Blutpunkte“).

H.V.R. 3. Luteinisierung (Bildung von echten Corpora lutea und Corpora lutea atretica).

Goetsch hatte schon 1916 am Ratteneierstock frühzeitige Follikelreifung und vermehrte Bildung gelber Körper nach Verfütterung von H.V.L.-Extrakt beobachtet. Die Untersuchungen von *Smith* (1926) und *Smith* und *Engle* (1927) führten zu denselben Ergebnissen. Durch tägliche homo- und heteroplastische Überpflanzungen von H.V.L. ließen sich alle Zeichen der geschlechtlichen Reife auslösen. Am Eierstock fanden sich als krankhafter Befund cystische Follikel.

Die weiteren Arbeiten von *Zondek* und *Aschheim* (1928) führten zur wasserlöslichen Darstellung des H.V.L.-Hormons, das von ihnen *Prolan* genannt wurde. Schließlich gelang *Aschheim* (1929, 1930) und *Zondek* (1930) die weitere Aufspaltung in ein Follikelreifungshormon (Prolan A) und ein Luteinisierungshormon (Prolan B).

Seit der Darstellung von *Prolan* steht die experimentelle Forschung auf klarerer und exakterer Grundlage als vordem. Die Komplexität der inkretorischen Leistung des H.V.L. ist weitgehend aufgelöst, vor allem scheint der *Wachstumsstoff* des Vorderlappens ausgeschaltet zu sein, der in vielfachen Versuchen an Reptilien und Amphibien nachgewiesen ist, ferner an Säugetieren durch *Evans* und *Long* (1921, 1922), die durch langdauernde Behandlung Riesenwuchs bei Ratten erzeugen konnten.

Zusammenfassung: Der Eintritt der Geschlechtsreife und der Reifung der weiblichen Keimdrüse ist abhängig vom H.V.L.

II. Die Wirkung am *erwachsenen* weiblichen Tier.

Evans und *Long* beobachteten bei ihren Wachstumsversuchen, also nach monatelanger Einspritzung von H.V.L.-Auszug, Hemmung von

¹ Hypophysen-Vorderlappen-Reaktion.

Ovulation und Brunstzyklus. Die nicht gereiften und nicht gesprungenen Follikel entarten durch Einwanderung von Luteinzellen.

Walker (1925) beobachtete, daß nach Zufuhr von H.V.L. im Eierstock von Hühnern die größeren Follikel atretisch und luteinisiert werden. Neue Eier reifen erst wieder nach Aussetzen der Behandlung. Zondek und Aschheim (1927) beschrieben das Aufhören des östrischen Zyklus und am Ovar übermäßige Bildung gelber Körper. Bei dem behandelten Nager waren reife Follikel nicht mehr zu finden: Das Tier war „(temporär) sterilisiert“.

In dieselbe Richtung deutet auch das Krankheitsbild der *Akromegalie*, beruhend auf Hyperfunktion der Hypophyse (gewöhnlich Vorderlappadenom). Trotz starker Entwicklung der äußeren Geschlechtsmerkmale bei beiden Geschlechtern schwindet dabei oft Menstruation und Potenz.

Schließlich ist auf die Befunde von Smith (1927) hinzuweisen, daß Überpflanzung von arteigenem H.V.L. und auch Einspritzung von Extrakten bei hypophysektomierten Ratten den atrophenischen Geschlechtsapparat wiederherstellt.

Zusammenfassung: Die Tätigkeit des gereiften Eierstocks unterliegt der Regelung und Steuerung durch den H.V.L. Mehrleistung führt ebenso wie Minderleistung und Funktionsausfall zu Störungen der geregelten Tätigkeit.

III. Die Wirkung am *greisen* weiblichen Tier.

Zondek und Aschheim (1927) konnten zeigen, daß das H.V.L.-Hormon entsprechend der jugendlichen Entwicklungserregung auch die Altersdegenerationen am Mäuseeierstock behebt. Follikelreifung und Bildung von Corpora lutea wird wieder in Gang gebracht, die körperlichen Alterserscheinungen gehen zurück.

Was in der vorliegenden Untersuchung wesentlich die Aufmerksamkeit erregt, ist die Tatsache, daß nach Zufuhr von H.V.L.-Hormon an den Nagerweibchen eine deutliche, *vorzeitige Reifung* im Eierstock eintrat mit Ausbildung *gereifter* Follikel. Bei Zondek und Aschheim (1927) findet sich der Hinweis, daß es zum *Follikelsprung* kam, und in Reihenschnitten des Eileiters *reife, befruchtungsfähige Eier* nachgewiesen werden konnten, sowohl nach Einpflanzung von H.V.L. als auch nach Prolaneinspritzung.

Daneben aber wurden verschiedene *Schädigungen* des Eierstocks festgestellt. Die vorzeitig gebildeten Eier zeigten vielfach *Degenerationserscheinungen*. Nicht ausgereifte Eier gingen zahlreich in atretischen Follikeln zugrunde. Es fanden Blutungen statt in erweiterte Follikelhöhlen (Zondek). Die Follikel waren cystenartig erweitert (Smith). Bei Tauben fand sich Eibildung ohne Schale (Ehrhardt [1929]).

Die Erforschung der Hypophysensteuerung am Eierstock wurde erleichtert durch die exakte Kenntnis

1. des weiblichen Geschlechtshormons (Ovarialhormons)
 - a) nach seiner Lokalisation (*Zondek* [1927]),
 - b) nach seinem Chemismus, dessen Erforschung nach der wasserlöslichen Darstellung (*Zondek* [1926, 1927], *Laqueur* [1927]) bis zur krystallinischen Reinigung (*Doisy, Butenandt* [1929, 1930]) mit annähernder Kenntnis der molekularen Strukturformel führte,
2. eines spezifischen biologischen Tests für die Ovarialfunktion (Vaginal-Abstrich-Test nach *Allen* und *Doisy*).

Die Versuche mit Ovarial- und Hypophysenhormon ließen „die einzelnen Vorgänge der Reifung der (weiblichen) Sexualorgane experimentell bis in die einzelnen Phasen nachahmen und analysieren“ (*Zondek* [1927]).

In dieser Kette fehlt nur noch ein, allerdings sehr wichtiges Glied, nämlich die Entscheidung der Frage, ob die durch das H.V.L.-Hormon fröhreif gemachten Tiere auch tatsächlich *fortpflanzungs-* und *konzep-*
tionsfähig werden. Versuche darüber sind mir aus dem Schrifttum nicht bekannt.

b) Zufuhr von H.V.L.-Hormon beim männlichen Tier.

Für den Hoden haben wir kein annähernd gleiches Ergebnis zu verzeichnen. Die Vorbedingungen schon sind schwierig und ungelöst. Wir haben noch keine Sicherheit über das männliche Sexualhormon, weder der genauen Lokalisation — wir wissen nur, daß es im Hoden selbst gebildet wird — noch dem Chemismus nach. Schließlich fehlt uns auch ein ausreichend gesicherter spezifischer Test. Eine Untersuchung über die Wirkung des H.V.L. auf die männliche Keimdrüse ist daher fast eine Gleichung mit zwei Unbekannten.

Bisherige Arbeiten über die Wirkung des H.V.L.-Hormons auf männliche Tiere führten zu widersprechenden und zum Teil unvollständigen Ergebnissen.

Biedl (1927), der schon 1897 als erster auf die Beziehung der Hypophyse zum Hoden hinwies, konnte durch Einpflanzung von H.V.L. und durch Einspritzung von Extrakten bei Ratten nach 6–11 Tagen, bei Mäusen nach 5–6 Tagen ein Zurückbleiben im Wachstum des Hodens (bis zur Hälfte der Vergleichsgewichte) und der Samenblasen erzielen. Diese Wirkung trat bei Beibringung derselben Mengen ein, die am Eierstock eine Entwicklungsförderung gaben.

Auf dieser Beobachtung gründete *Biedl* seine Theorie, daß der H.V.L. nicht als genereller, geschlechtsunspezifischer Motor der Geschlechtsfunktion anzusehen sei, das er vielmehr *antagonistisch*, *fördernd* am Eierstock, *hemmend* am Hoden, wirke. *Biedls* Beobachtung hat indes keine Bestätigung durch andere Untersucher gefunden.

Die Versuche von *Evans* und *Simpson* (1926), bei denen Ratten vom 14. bis zum 75. Lebenstag täglich Vorderlappenauszüge erhielten, gaben Riesenwuchs bei den Versuchstieren, die außerdem verkleinertes Hodengewicht und engere Kanälchenlumina gegenüber den Vergleichstieren zeigten, aber keine Degenerationserscheinungen am Keimepithel. Die Nebenorgane waren vergrößert.

Smith (1927), und *Smith* und *Engle* (1927) berichteten über Überpflanzungsversuche an infantilen und erwachsenen männlichen Ratten. Sie überpflanzten bei kindlichen Tieren täglich, 5—21 Tage lang, arteigenen oder artfremden H.V.L. und erhielten nach 5—6 Tagen keine oder nur eine geringe, nach 10tägiger und längerer Behandlung erst in der Mehrzahl der Fälle eine deutliche Zunahme des Hodengewichtes. Die Nebenorgane waren stets bedeutend vergrößert, Samenblaschen und Prostata stark mit Sekret gefüllt. Die Samenbildung war nur in einem Fall weiter fortgeschritten als bei den Vergleichstieren, eine relative Vermehrung des Zwischenwesbes wurde nicht beobachtet. Versuche mit Mäusen hatten dieselben Ergebnisse.

An erwachsenen Tieren, bei Ratten nach 14—15 tägiger, bei Mäusen nach 15 bis 35 tägiger Behandlung, ließen sich weder Gewichtsveränderungen noch morphologische Abweichungen erkennen; die Geschlechtsbegierde schien erhöht.

Zondek und *Aschheim* (1928) und *Zondek* (1929) konnten zunächst durch einmalige Einpflanzung beim Rattenbock „keine den Ovarien entsprechenden, so in die Augen fallenden morphologischen Veränderungen“ feststellen.

Die Einspritzung von einer Einheit Prolan hatte keine sichtbare Wirkung, wohl aber zeigten die Versuchstiere nach mehr tägiger Behandlung mit je 2—4 Einheiten eine geringe Gewichts- und Größenzunahme des Hodens, ferner eine auffallende Vergrößerung der Nebenorgane, die nach 6 Tagen 2—3mal, nach 10—14 Tagen 5mal so groß waren wie bei den Vergleichstieren. Die Samenblasen zeigten das für das erwachsene Tier charakteristische hahnennkammartige Aussehen.

Fels (1927) konnte zeigen, daß die Behandlung mit Schwangerschaftsserum an infantilen männlichen Mäusen eine Wachstumshemmung der Hoden mit Degenerationserscheinungen geringeren Grades und deutlicher Wucherung der Zwischenzellen, daneben aber Wachstumssteigerung, Erweiterung und Sekretfüllung der Nebenorgane bewirkt. Da das Schwangerenserum Eierstockshormon und H.V.L.-Hormon enthält, das Ovarialhormon allein aber Zurückbleiben im Wachstum des Hodens und der Nebenorgane bedingt, wie aus früheren Untersuchungen (*Biedl*) bekannt ist, faßte *Fels* die Wachstumssteigerung der Nebenorgane als Wirkung des H.V.L.-Hormons auf. Wie das H.V.L.-Hormon auf den *Hoden selbst* wirkt, läßt sich aus dieser Versuchsanordnung nicht schließen.

In weiteren Versuchen fand *Fels* (1929), daß bei Parabiose von männlichen Ratten mit männlichen oder weiblichen Kastraten eine Hypertrophie der gesamten männlichen Geschlechtsorgane eintrat. Das H.V.L.-Hormon, mit dem der kastrierte Organismus überschwemmt ist (vgl. *Zondek*), und das hier durch die Parabiose auf den unkastrierten Partner wirken muß, wird als Ursache angenommen.

Voß und *Loewe* (1927/28) pflanzten bei 4 jungen Mäusen H.V.L. vom Schaf ein. Sie fanden nach Implantation von etwa 0,2 g 2 bzw. 9 Tage später kleine, der Altersstufe entsprechende Hoden, beginnende Samenbildung mit mehrschichtigem Epithel. Die Hilfsapparate waren infantil.

Nach Anwendung von nur 0,02 bzw. 0,04 g erhielten die Verfasser innerhalb von 12 Tagen wieder eine dem Alter entsprechende Hodengröße, in vielen Kanälchen aber vielschichtiges Epithel mit Spermiden und reifen Spermien. Die Kanälchen hatten größeren Durchmesser als bei den Vergleichstieren; vom normalen erwachsenen Tier unterschieden sie sich nur dadurch, daß sie weniger Spermien aufwiesen. Die Nebenorgane waren im ersten Falle kindlich, im zweiten in beginnender präpuberaler Umwandlung.

Da die Niederschriften von *Voß* und *Loewe* nicht vollständig sind, — es fehlen sämtliche Altersangaben sowohl der Versuchs- wie der Vergleichstiere; auch die Gewichtsbestimmungen (als möglicher Ersatz) sind nicht durchgehend angeführt — können wir die Versuchsergebnisse bei unseren Überlegungen nicht weiter verwerten.

Steinach und Kun (1928) stellten an kindlichen, eunuchoiden und greisenhaften Rattenmännchen Versuche an.

Infantile Tiere im Alter von 33—39 Tagen erhielten 9—18 Tage lang Einspritzungen von H.V.L.-Extrakten. Dadurch konnten die Verfasser bedeutende Vergrößerung des ganzen Nebenapparates und der Hoden erzielen. Histologisch trat eine mächtige Vermehrung der Leydigischen Zellen ein, in den Samenkanälchen fand sich bei längerer Behandlung und stärkerer Dosierung stellenweise Degeneration.

Entsprechend seiner Hormontheorie deutet *Steinach* das Wachstum der Nebenorgane als Ergebnis der durch den H.V.L. aktivierten und gesteigerten Hodeninkretion und glaubt, daß ein ursächlicher Zusammenhang zu der Zwischengewebswucherung bestehe.

Nähere Angaben über das *germinative* Gewebe fehlen. Für eine exakte Untersuchung zur Samenbildung in Reife- und Vorreifezeit sind *Steinachs* Versuchstiere auch viel zu alt (bei der Autopsie 42—57 Tage). Ferner sind seine Angaben über das Bild der Samenkanälchen bei den Vergleichstieren, die bei der Untersuchung 50, 50 und 54 Tage alt waren, offenbar sachlich unrichtig. Er findet „ein Bild des infantilen Zustandes: Kleine Samenkanälchen mit Sertolizellenbelag und beginnender Anhäufung von Spermatogonien“

Ich werde später genauer betonen, daß man schon am 30 tägigen Tier ein vielschichtiges endgültiges Samenepithel findet und in der Zeit vom 35. bis zum 45. Lebenstage fast regelmäßig das Auftreten reifer Spermien beobachtet. Spermiogonien, Spermiozyten und Spermiden zum mindesten sind bei der normalen Ratte dieser Altersstufe stets vorhanden. Aus diesem Grunde müssen wohl *Steinachs* Erklärungen zur Samenbildung dahingestellt bleiben.

Bei eunuchoiden und greisen Rattenmännchen fand *Steinach* ebenfalls eine auffallende Wirkung der H.V.L.-Einspritzungen auf die Ausbildung bzw. Wiederherstellung der Nebenorgane.

Eine kurze Mitteilung von *Botschkarew* (1929) bestätigt für die Maus die Befunde, die *Zondek* und *Aschheim* an männlichen Tieren erhoben hatten.

3. Problemstellung.

Man kann wie folgt zusammenfassen: Die bisherigen Arbeiten zu dem vorliegenden Thema haben sichergestellt, daß der H.V.L. dem kindlichen männlichen Geschlechtsapparat einen *Entwicklungsantrieb in der Richtung zur Geschlechtsreife* erteilt. Fast übereinstimmend (bis auf *Biedl*) hat sich Wachstum und Reifung der Nebenorgane ergeben. Nicht geklärt, vielfach nicht ausreichend beachtet oder untersucht ist:

1. Die eigentliche *Kernfrage*, wie sich die *Gewebsanteile der reifenden Keimdrüse selbst*, vor allem das *germinative Gewebe*, nach Zuführung von H.V.L.-Hormon verhalten; ob es — entsprechend der Reifung des Eierstocks — zu einer vorzeitigen Samenbildung kommt, ferner ob — ebenfalls entsprechend den Vorgängen am Eierstock — *Schädigungen* am Keimgewebe des Hodens auftreten.

2. Die Bedeutung des H.V.L.-Inkretes für den *reifen* und den *greisen* Hoden, im besonderen wieder für das *Samenenepithel*.

3. Die Art der Wirkung, d. h. die *Angriffsstelle* des Hormons.

4. Die Frage, ob durch das H.V.L.-Hormon kindliche Tiere *vorzeitig* und *greise* Tiere wieder *fortpflanzungs-* bzw. *konzeptionsfähig* werden.

Diesen Problemen an Hand eines ausreichenden Tiermaterials zunächst in der Hauptsache histologisch nachzugehen, ist die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung. Die Verwendung des von *Zondek* dargestellten Hormons *Prolan* versprach dabei von vornherein weitgehende Ausschaltung von unerwünschten Nebenwirkungen und exakte Dosierbarkeit. Dadurch ist eine klarere Versuchsdurchführung gewährleistet als bei den früher angewandten Methoden.

Kurz vor Abschluß meiner Arbeit erschienen zwei vorläufige Mitteilungen von *Borst* und *Gostimirowić* (1930) und *Borst* (1930) über Prolanuntersuchungen an infantilen männlichen Mäusen.

Borst und *Gostimirowić* versuchten zu klären, ob in Analogie zu dem 100-Stunden-Test am weiblichen Nagetier (*Zondek*) durch das H.V.L.-Hormon auch am *jugendlichen Bock* binnen 100 Stunden eine deutliche Wirkung zu erzielen sei. Ferner untersuchten sie, welcher Gewebsanteil des Hodens primär angeregt oder verändert wird, und beschrieben schließlich Schädigungsbilder des Keimgewebes bei hoher und chronischer Dosierung.

Schließlich erschien nach Abschluß meiner Arbeit eine weitere kurze Mitteilung von *E. J. Kraus* (1930) über die Prolanwirkung an jungen Maus- und Rattenböcken.

Kraus beschreibt als Prolanwirkung ebenfalls eine vorzeitige Reifung der Nebenorgane. Am Hoden fand er starke Vergrößerung und Zunahme der Zwischenzellen. Eine Prolanwirkung auf das eigentliche Keimgewebe fehlt nach seiner Beobachtung.

Die Ergebnisse dieser Versuche von *Borst* und *Kraus*, die sich demnach mit einem Teil meiner Fragestellungen decken, werden von Fall zu Fall in die Erörterung mit einbezogen werden.

Eine kurze und vorläufige Übersicht meiner eigenen Befunde bei kindlichen Tieren habe ich vor kurzem auszugsweise mitgeteilt (1930).

B. Die normale Entwicklung der Ratte.

Über den normalen Entwicklungsgang der Ratte (mit besonderer Berücksichtigung der Keimdrüsen) liegen nicht so ausführliche Mitteilungen vor wie für die Maus. Größeres Zahlenmaterial findet sich in den Untersuchungen von *Donaldson* (1924) und *Saller* (1927).

An eigenen Beobachtungen in Verbindung mit den Angaben anderer Untersucher konnte ich folgendes zusammenstellen.

1. Die Körperentwicklung.

Die weibliche Ratte, die unter günstigen Lebensbedingungen das ganze Jahr hindurch konzeptionsfähig ist, wirft nach 21—22 tägiger

Tragzeit im Durchschnitt etwa 4—10 Junge. Das neugeborene Tier wiegt etwa 5 g und wächst mit sehr wechselnden Gewichtszahlen rasch heran. Das Wachstum hängt ab:

1. Von der Größe des Wurfes.
2. Von der Nahrung.
3. Von Jahreszeit und Temperatur.

Bei einem Gewicht von etwa 80—100 g und einem Alter von 10 bis 12 Wochen werden die Tiere, beide Geschlechter zu nahezu gleichem Zeitpunkt, fortpflanzungsfähig. Die Tiere wachsen weiter bis zur 22. bis 25. Woche. Erst dann haben sie ihr endgültiges Körpergewicht mit rund 200—300 g erreicht. Die Geschlechtsreife geht also bei der Ratte im Unterschied zu den periodisch brünnstigen Tieren der vollen Körperreife voraus.

Die ausgewachsenen männlichen Ratten bieten dann ein unverändertes Bild bis zum Eintritt des Greisenalters, das sich mit 17—24 Monaten anzeigt im Verlust der Fortpflanzungsfähigkeit und allgemeinen Alterserscheinungen (Trägheit, Schläfrigkeit, trübe Augen, struppiges und ausgehendes Fell, Brand an den Druckstellen). Die gealterten Tiere sterben gewöhnlich bis zum 30. Monat, meist plötzlich an einer Infektionskrankheit.

2. Die Samenbildung.

Die Samenbildung unserer Laboratoriumstiere ist vielfach untersucht, mit der Ratte im besonderen beschäftigen sich die Arbeiten von

Brown (1885), *Ebner* (1888), *Lenhossek* (1898), *Regaud* (1901, 1910), *Duesberg* (1908, 1909),

Eine Übersicht über die Beziehung zwischen Hodengewicht und Körpergewicht männlicher weißer Ratten gibt Abb. 1.

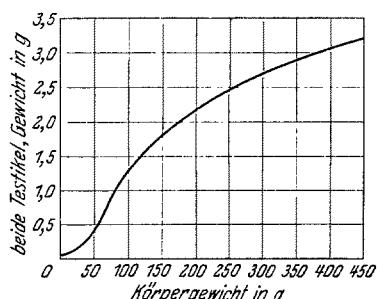


Abb. 1. Gewicht beider Hoden im Verhältnis zum Körpergewicht bei der weißen Ratte. (Nach *Donaldson*.)

ausgefüllt, die bis zur 3. Lebenswoche in fließendem Übergang den Zelltypen der endgültigen Samenbildung Platz machen.

Ein typisches Bild des infantilen Zustandes gibt Abb. 2. An dem Zellbelag, der der dünnen Membrana propria aufsitzt, lassen sich deutlich 2 Gruppen unterscheiden:

1. Viele kleine spindlige bis rundliche Zellen in syncytialem Verband

a) Die kindlichen Zellen der Kanälchen.

In der ersten Zeit besitzen die Samenkanälchen noch keine Lichtung und sind von den kindlichen Zellen

(ohne erkennbare Plasmagrenzen) mit rundlichen bis ovalen Kernen = indifferente Samenzellen, petites cellules¹.

2. Vereinzelte große runde Zellen mit blassem rundem Kern = primäre Urgeschlechtszellen, ovules mâles, abortive Sermiogonien¹.

Über die entwicklungsgeschichtliche Herkunft und die Rolle, die diese beiden Zellarten für die Bildung des endgültigen Keimepithels haben, werden vornehmlich 2 schroff entgegengesetzte Anschauungen vertreten.

1. Nach *Nußbaum*, von *La Valette St. George*, *Hermann*, *Benda*, *Allen*, *Waldeyer* leiten sich die Sertolizellen aus den kleinen, die Sermiogonien aber aus den großen Zellen („primären Urgeschlechtszellen“) des kindlichen Hodens her. Auf Grund dieser Anschauung trennt man einen „vegetativen“ und einen „generativen“ Anteil im Hodenkanälchen.

2. Nach *Prenant*, *Bouin*, *Regaud*, *Popoff*, *Schinz* und *Slotopolsky* leiten sich sowohl Sertolizellen wie Sermiogonien von den indifferennten kleinen Zellen ab, während die primären Urgeschlechtszellen, die „Sermiogonien“ des fetalnen und infantilen Hodens, ein „steriles Geschlecht“ von nur „repräsentativer Bedeutung“, vor dem Eintritt der Reifezeit zugrunde gehen (möglichlicherweise auch aus den indifferennten kleinen Zellen entstehen).

Diese Frage kann an dem mir zur Verfügung stehenden Material nicht gelöst werden; sie muß aber berührt werden wegen der Bedeutung, die sie für die Lehre von der Inkretion des Hodens erlangt hat, ferner zur Klärung des Wirwars in der Namengebung.

Für die 2., auf *Prenant* zurückgehende Auffassung sprechen folgende oft angeführte Tatsachen, die ich zum Teil bestätigen kann:

a) In kindlichen Keimdrüsen sehen wir indifferente Samenzellen in unvergleichlich größerer Zahl als später Sertolizellen. Ferner finden sich meist eine Reihe großer Zellen (ovules mâles) mit Degenerationserscheinungen.

b) In einem bestimmten Stadium sind diese überhaupt verschwunden. Die Kanälchen enthalten dann nur noch indifferente Samenzellen („unification cellulaire“).

c) In den Samenkanälchen des Kaninchenembryos finden sich nach *Champy* (1920) nur indifferente Zellen, die „großen Zellen“ erst beim Neugeborenen. Diese können sich also nur aus den kleinen, „indifferennten“ Zellen entwickelt haben.

d) Am neugeborenen Kaninchenhoden und in Gewebskulturen konnte *Champy* die Umwandlung von indifferennten Zellen in ovules mâles unmittelbar beobachten.

¹ Über die weiteren zahlreichen synonymen Bezeichnungen vgl. *Schinz* und *Slotopolsky* (1924) und *Romeis* (1926). Dort ist auch die ganze Problematik dieser Fragen eingehend behandelt; ferner sind dort auch die Originalarbeiten angeführt. Des weiteren verweise ich auf *Harms* (1926).

e) Auch *Stieve* gibt an, daß am Hoden der infantilen Maus sich zahlreiche Übergangsformen zwischen den beiden Zellarten finden, und zeigt, daß die großen Zellen aus den indifferenten kleinen hervorgehen.

f) Diese Beobachtungen werden abgerundet durch Feststellungen, die bei verschiedenen experimentellen Eingriffen am Hoden und bei sonstigen Atrophien des reifen Hodens erhoben und als *regressive Hodenmetamorphose* beschrieben wurden. Demnach bilden sich unter gegebenen Umständen sowohl Spermiogonien wie Sertolizellen des reifen Hodens in indifferenten Samenzellen zurück (*Bouin* [1897]); *Schinz* und *Slotopolsky* (1925) konnten zeigen, daß nach Zerstörung der Samenzellen durch Röntgenstrahlen eine Wiederherstellung von den Sertolizellen her erfolgen kann.

Wir nehmen daher entsprechend diesen Beobachtungen mit *Prenant* und seinen Anhängern an, daß die Zellen des reifen Hodens sich von den kleinen, indifferenten Samenzellen ableiten und sich erst im reifenden Hoden morphologisch wie funktionell in Sertolizellen und endgültige Samenzellen differenzieren.

Zwischen den kindlichen Zustand und die endgültige Reife schiebt sich noch die zuerst von *Prenant* (1887) beobachtete *Präpermiose* ein, ähnlich der Entwicklung der abortiven Spermiogonien ein zweiter „unproduktiver“ Ansatz zur Samenbildung. Ein Teil der indifferenten Samenzellen bildet sich um zu Spermiogonien, die noch Spermiozyten aus sich hervorgehen lassen, dann aber im Synapsisstadium zugrunde gehen. Erst nach diesem doppelten, zweimal vergeblichen Ansatz zur Bildung von Samenmutterzellen, von Spermiogonien (es ist nach *Romeis* (1926) möglich, daß diese Vorgänge der Ausmerzung bestimmten Keimmaterials dienen), beginnt die endgültige Samenbildung mit der Differenzierung der oben beschriebenen indifferenten Samenzellen in *definitive* („evolutive“) *Spermiogonien* und in *Sertolizellen*, bei der Ratte gewöhnlich im Verlauf der 4. Lebenswoche.

b) Die definitiven Zellen der Kanälchen

teilt man von jeher in vier aufeinanderfolgende Phasen, denen vier Typen von samenbildenden Zellen entsprechen:

1. Vermehrungszeit = Spermiogonien.
2. Wachstumszeit = Spermiozyten.
3. Reifungszeit = Präpermiden, Spermiden.
4. Umwandlungszeit } = Spermien.
Differenzierungszeit }

1. Der Membrana propria unmittelbar anliegend finden sich unregelmäßig verteilt die Kerne der Sertolizellen (runder bis dreieckiger blasser Kern mit auffallendem Kernkörperchen), deren reichliches Plasma in kolbiger Anschwellung bis zum Lumen reicht.

Dazwischen liegen die plasmaarmen dunklen Kerne der Reserve- oder Ruhespermiogonien (*spermatogonies poussiéreuses*) mit staubförmig oder in feinen Schollen verteiltem Chromatin. Sie stellen den Mutterboden des Samenepithels dar und den Ausgangspunkt seiner späteren Differenzierungen.

Während die Matrix der weiblichen Keimzellen, die Ureier, schon von Geburt an im Eierstock vorgebildet sind, finden wir in den Hodenkanälchen die entsprechenden *Samenmutterzellen* erst nach verwickelten Vorbereitungs- und Umwandlungsvorgängen am Ende des kindlichen Lebensabschnittes vor. Durch fortwährende Teilung bilden die Spermiogonien sowohl neue Zellen ihrer Art wie auch die folgenden Zellgruppen.

Spermiogonienteilungen sieht man gelegentlich im histologischen Schnitt. Wir bezeichnen sie als aktive Spermiogonien (*spermatogonies croûtelleuses* der französischen Forscher); kenntlich sind sie an der klumpigen Anordnung des Chromatins. Der Übergang zu den Spermiozyten ist fließend.

2. Die Spermiozyten befinden sich gewöhnlich in zwei typischen Entwicklungsstadien:

- a) In Synapsis mit konzentrisch verdichtetem und verklumptem Chromatin,
- b) Im Spiremstadium; das Chromatin bildet ein dichtes aufgelockertes Knäuel.

3. Aus diesen reifen Spermiozyten entstehen in den beiden Reifeteilungen in rascher Folge die größeren Präpermiden und die deutlich kleineren Spermiden.

4. In der Spermiohistogenese vollzieht sich die Umbildung der letzteren in reife Spermien von etwa $200\text{ }\mu$ Länge (*Waldeyer [1906]*). Die Köpfe der Samenfäden der Ratte haben eine eigentlich beiläufige Form; sie liegen büschelförmig angeordnet, die Schwänze nach dem Lumen zu gerichtet. Unreife und später reife Spermien erscheinen bei der Ratte zwischen dem 35. und 45. Lebenstage.

Bei der Ratte, wie bei verwandten Tierarten, folgen die Phasen der Samenbildung im Verlauf des einzelnen Kanälchens wellenartig aufeinander. Auf dem Querschnittsbild eines Kanälchens herrscht daher eine bestimmte Lage vor, das Querschnittsbild eines größeren Teils zeigt die einzelnen Phasen nebeneinander.

Teilungsfiguren sieht man am häufigsten im Bereich der Spermiozyten; selten sind die Reifeteilungen, anscheinend wegen ihres schnellen Ablaufes, und auch die Teilungen der Spermiogonien zu sehen.

c) Im *Greisenhoden* zeigen sich nicht immer deutliche Veränderungen. Auch bei sehr alten Tieren, bei denen Potenz und Fortpflanzungsfähigkeit schon längst erloschen ist, finden sich immer noch samenbildend tätige Kanälchen. Gelegentlich zeigen sich stellenweise Degenerationserscheinungen am Hodenparenchym.

d) Das *Zwischengewebe* des Hodens ist bei der Ratte in allen Lebensaltern äußerst spärlich entwickelt. Im Alter ist es manchmal vermehrt. Es fällt im wesentlichen mit den *Leydigischen Zellen* zusammen, die sich einzeln oder in kleinen Gruppen dort, wo mehrere Kanälchen zusammenstoßen, oder längs der Blutgefäße finden. Unter keinen Umständen bilden sie normalerweise geschlossene Bezirke, die ganze Kanälchen umspinnen und voneinander abdrängen.

Die *Leydigischen Zellen* sind an ihren bekannten Eigenschaften, u. a. dem in reichlichem Plasma exzentrisch gelegenen Kern und den sudanophilen Einlagerungen leicht darstellbar.

e) Die *Nebenorgane*, vor allem Samenbläschen und Prostata, entwickeln sich von äußerst geringen Ausmaßen beim frühkindlichen zu großen Organen am erwachsenen Tier. Ihr Wachstum ist abhängig von der Hodeninkretion. Am kastrierten infantilen Tier wachsen sie zwar ein wenig, also unabhängig von der Hodeninkretion, erreichen aber nicht die volle Größe (*Steinach* [1928]). Am kastrierten erwachsenen Tier bilden sie sich zurück, ebenso atrophieren sie beim normalen Tier im Alter. Die Atrophie nach Kastration lässt sich durch Zuführung von Hodeninkret, wenigstens cytologisch, ausgleichen (*Loewe* und *Voß* [1930]).

Die Frage nach der innersekretorischen Leistung der Prostata ist in letzter Zeit vielfach ablehnend beantwortet worden und nach unserem heutigen Wissen jedenfalls als stark hypothetisch zu bezeichnen.

Um die Frage nach dem *Sitz der inkretorischen Leistung des Hodens*, noch vor 15 Jahren ein hart umkämpftes Problem, ist es heute ruhig geworden. Alle drei Zellarten des Hodens hat man als Hormonbildner in Anspruch genommen, die *Leydigischen*, die Samen- und die Sertolizellen. Die unzähligen Tierversuche zu diesem Gegenstand (vgl. *Stieve* [1921], *Romeis* [1922], *Harms* [1926]) haben nicht zu einem einwandfreien, jeder Kritik standhaltenden Ergebnis geführt, weil es noch nicht gelungen ist, einen Hoden, der nur eine der 3 Zelltypen allein enthält, zu gewinnen und experimentell zu beeinflussen.

Bemerkenswert ist folgende Feststellung von *Romeis* (1926): Wenn wir die Annahme von *Rubaschkin*, daß die Zwischenzellen des Hodens sich von epithelialen Coelomzellen herleiten, als richtig unterstellen, hätten wir folgerichtig nach:

a) *Nußbaum*, von *La Valette St. George*, *Benda*, *Allen* usw. *Zwischenzellen* und *Sertolizellen*.

b) *Prenant*, *Bouin*, *Regaud* usw. aber *Samenzellen*, *Zwischenzellen* und *Sertolizellen* entstehungsgeschichtlich gleichzusetzen.

Die Kenntnis dieser normalen Reifungsvorgänge und -bedingungen bei der Ratte ermöglicht nun die Analyse der Veränderungen, die das H.V.L. Hormon im Versuch hervorruft.

Die wichtigsten Tatsachen der normalen Entwicklung der Ratte seien nochmals zusammengestellt:

bis zum 20. Tag: kindliche Zellen nachweisbar,
ab 5. Woche: Spermienbildung,
ab 10.—12. Woche: Fortpflanzungsfähigkeit,
ab 25. Woche: Wachstum abgeschlossen,
ab 21. Monat: Greisenalter.

III. Experimenteller Teil.

A. Methodische Bemerkungen.

Meine Prolanuntersuchungen umfassen 187 Ratten (82 Vergleichs- und 105 Versuchtiere), die stets aus den gleichen Würfen stammen. Außerdem wurden noch eine Reihe normaler Tiere einzeln untersucht zum Studium der unbeeinflußten Samenbildung. Histologisch bearbeitet wurden insgesamt 138 Tiere. Sämtliche untersuchten Ratten wurden bei bekanntem Geburtsdatum in den Ställen des Institutes geworfen und mit abwechslungs- und vitaminreichem Futter in weitmaschigen, großen Drahtkäfigen gehalten.

Prolan ist ein gelblich-weißes amorphes Pulver mit folgenden physikalischen und chemischen Eigenschaften (*Zondek* [1929]): Temperaturempfindlich (schon bei 60° geschädigt), empfindlich gegen Säure und Alkali, dialysabel, klarlöslich in Wasser, unlöslich in Äther, gefällt durch Alkohol und Aceton.

Nach den Angaben *Zondeks* wird Prolan von der J. G. Farbenindustrie aus Schwangerenharn hergestellt. Die exakte Trennung von dem in diesem Ausgangsmaterial ebenfalls vorkommenden Ovarialhormon ist (nach *Zondek*) möglich durch die Ätherextraktion. Prolan ist unlöslich, das Eierstockshormon in Äther leicht löslich. Ferner haben wir eine biologische Prüfung: Das Eierstockshormon ruft am kastrierten Nagetier wieder die durch die Kastration stillgelegten Brunsterscheinungen an Uterus und Scheide hervor (nachweisbar im Abstrichtest); es ersetzt den fehlenden Eierstock. Das H.V.L.-Hormon wirkt nur über das Ovar *mittelbar* auf die Nebenorgane, am kastrierten Weibchen hat es *keine* Wirkung. Das Merkmal für exakt gereinigtes Prolan ist also, daß es am kastrierten weiblichen Tier nicht wirkt (d. h. der Abstrichtest muß negativ bleiben).

Daß Prolan von Eierstockshormon frei ist, ist wesentliche Voraussetzung für die Versuche an männlichen Tieren; denn eine Beimischung von Eierstockshormon würde, wie schon früher erwähnt, eine Hemmung der Entwicklung des männlichen Geschlechtsapparates nach sich ziehen. Auf Grund der ausdrücklichen Versicherung, die mir Herr Professor *B. Zondek* gab, ferner der fortlaufenden chemischen und biologischen Prüfung, unter der die Prolanherstellung steht, dürfen wir völlig sicher sein, mit einem von Eierstockshormon freien Stoff zu arbeiten.

Prolan hatte ich in allen Konzentrationen zur Verfügung¹, und zwar in Ampullen (1 ccm = 15 R.E.² bis 1 ccm = 500 R.E.) und in Pulverform, aus dem ich mir selbst keimfreie Lösungen bis zu 5000 R.E. pro ccm herstellte. Die Einspritzungen führte ich unter die Haut oder in die Bauchhöhle aus. Grundsätzlich wurden äußerst geringe Mengen verwandt, um jede Möglichkeit einer Beeinträchtigung des Körpers auszuschalten. Die Tiere erhielten 0,05—0,75 ccm p. d. (erwachsene Tiere gelegentlich bis 1 ccm täglich). Bei der einzelnen Einspritzung wurden selten mehr als 0,5 ccm verabfolgt. Die Gesamtmenge, die die Tiere erhielten, bewegte sich zwischen 1 und 10000 R.E. Ebenso stark gewechselt wurde die Behandlungsdauer. Sie wurde entweder kurz zusammengedrängt in 2—3 Tage mit insgesamt 5—6 Einspritzungen, oder erstreckte sich (bei einer oder zwei Injektionen täglich) über 5, 10 usw. bis zu 25 Tagen.

Die *Ratte* erschien als Versuchstier empfehlenswert, weil *Zondek* (1929) folgende Empfindlichkeitsskala für die weiblichen Nager aufstellen konnte:

Tabelle 1. *Prolanempfindlichkeit der weiblichen Nager (nach Zondek).*

	Gewicht des Tieres in g	Gewichts- proportion	Prolan- proportion	Prolanproportion je g Tier
Maus	6	1	1	$\frac{1}{6}$
Ratte	30	5	$\frac{1}{6} - \frac{1}{8}$	$\frac{1}{180} - \frac{1}{240}$
Kaninchen	1200	200	5	$\frac{1}{240}$

Die Ratte ist also absolut um 6—8mal, relativ um 180—240mal so empfindlich, wie die Maus. Diese Tatsache schien ausschlaggebend, obwohl die Ratte bekanntermaßen ungleichmäßiger reagiert als die Maus.

Die *Operationen* und *Kastrationen* wurden durch Laparatomie in Äthernarkose vorgenommen. Bei der Vasoligatur (genauer Vasektomie) wurde die als *Steinach I* bezeichnete Methode gewählt (Herausschneiden von etwa 1 cm des Samenstranges nach doppelter Unterbindung und sorgfältiger Schonung der art. und ven. spermatica int.³). Die Eingriffe wurden auf abdominalem (nicht scrotalem) Wege ausgeführt

¹ An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. B. Zondek für die Liebenswürdigkeit, mit der er mir reiche Prolanmengen zur Verfügung stellte und an den Fortschritten meiner Arbeit Anteil nahm, meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

² R.E. = Ratteneinheit, d. h. nach Zondeks Bestimmung die Hormonmenge, die an der 30—40 g schweren infantilen weiblichen Ratte binnen 100 Stunden die Brunstreaktion auslöst.

³ Die art. deferentialis konnte wegen der Kleinheit der Verhältnisse nicht erhalten werden. Der Hoden wird dadurch nicht geschädigt, weil das kleine Versorgungsgebiet des Gefäßes am Nebenhoden durch zahlreiche Seitenbahnen geschützt ist.

1. wegen der größeren Sauberkeit,
2. weil so bei doppelseitigen Operationen nur eine Wunde gesetzt zu werden brauchte.

Die Angaben des Schrifttums bezeichnen den abdominellen Operationsweg nicht einhellig als den besseren (vgl. *Schinz* und *Slotopolsky* [1927]) vor allem wegen der Gefahr der postoperativen Verwachsungen und der daraus sich ergebenden dauernden Verlagerung des Hodens. Doch spielte diese Gefahr bei meiner Fragestellung keine Rolle.

Die Strangunterbindung wurde gelegentlich mit künstlichem *Kryptorchismus* verbunden. Dabei wurde die Öffnung zwischen Bauch- und Scrotalhöhle durch eine einfache Naht versperrt, um den Hoden in der Bauchhöhle zu befestigen. Die Laparatomiewunden, durch doppelte Naht verschlossen (Serosa- und Hautnaht), heilten gewöhnlich in wenigen Tagen per primam.

Zur histologischen Untersuchung wurden die Tiere in Äther- oder Chloroformdämpfen getötet und die Hoden, soweit sie nicht gewogen oder gemessen wurden, sofort lebenswarm fixiert.

Die Fixierung des Säugetierhodens ist bekanntermaßen ein recht schwieriges Kapitel der histologischen Technik. Die Fixierungsflüssigkeit muß einsteils so schnell wie möglich eindringen, um die feineren Strukturteile möglichst getreu festzuhalten, zum anderen sollen Schrumpfungen des zarten, lockeren Bindegewebes und der Kanälchen tunlichst vermieden werden. Formol erweist sich für diese Doppelaufgabe als völlig unzureichend.

Eine Reihe von Sondermethoden leisten gute Dienste (vgl. *Romeis* [1928]), so die Zenkersche Flüssigkeit, ferner Müller-Formol und, aber nur bei kleinsten Präparaten, das Gemisch von *Carnoy*.

Weitaus die besten Bilder gab die von *Stieve* angegebene Fixierungsflüssigkeit:

Gesättigte wässrige Sublimatlösung	76,0
Formol, konzentriert	20,0
Eisessig	4,0

Gewöhnlich ging ich so vor: Nach 3—4stündiger Fixierung (kleinste Präparate in toto, größere mit dem Rasiermesser in Scheiben zerlegt) erfolgte die Entwässerung in der von 5 zu 5% aufsteigendem Alkoholreihe (bei 70%igem Alkohol mit Jodzusatz) bis zu 96%igem Alkohol. Darauf unter Vermeidung des absoluten Alkohols direkte Übertragung in Methylbenzoat-Celloidin und weiter über Benzol, Benzol-Paraffin, Paraffin (mehrfach gewechselt) Einbettung in Paraffin vom Schmelzpunkt 52°, alles bis zum Paraffin im Brutschrank bei 37°.

Als Schnittdicke wurde 10 μ, später durchweg 5 μ gewählt. Einige Hoden wurden ganz oder zu großen Teilen in Reihenschnitte zerlegt, bei den meisten indes nur einige aufeinanderfolgende Schnitte jeweils im Abstand von etwa 300 μ entnommen. Diese Methode genügt völlig, um ein verlässliches Bild über den Zustand der Keimdrüse zu gewinnen.

Zur Färbung verwandte ich Hämalaun-Eosin, *Delafields* Hämatoxylin-Eosin, Brasilin und Eisenhämatoxylin. Zur Fettfärbung wurden formolfixierte Stücke nach Gelatineeinbettung auf dem Gefriermikrotom geschnitten und mit Sudan III gefärbt.

Als Ergänzung zur histologischen Untersuchung wurden verschiedene Messungen und Wägungen vorgenommen, die ich gleich hier kritisch darstellen will. Genaue Gewichtsbestimmungen wurden bei einer Reihe

von Tieren vorgenommen, und zwar zu Beginn und zum Schluß des Versuches, bei länger dauernder Behandlung auch noch zwischendurch im Abstand von einigen Tagen.

Bei kurzer Behandlungsdauer wurde von der Auswertung solcher vergleichenden Wägungen bald abgesehen, weil diese, zumal bei den kleinen 2—5 wöchigen Tieren, zu stark von Nebenumständen abhängig (zufällige Füllung des Magendarmkanals, der Harnblase), kein objektives Ergebnis erwarten lassen konnten.

Wägungen und Messungen des Hodens wurden in einer Reihe von Fällen durchgeführt. Da indes, wie nachher zu zeigen sein wird, die

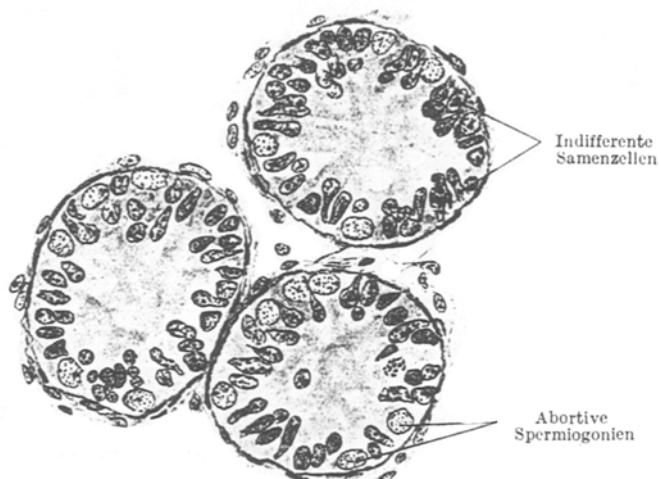


Abb. 2. Versuch 51, Vergleichstier A, 12 Tage alt. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm.
Stieve, Delafields Hämatoxylin-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

Gewichts- und Größenzunahme des Hodens nicht notwendig Hand in Hand geht mit Zunahme und Reifung der Kanälchen, hat diese Bestimmung für die vorliegende, im wesentlichen sich auf die Samenbildung beziehende Untersuchung, nur bedingte Wichtigkeit.

So blieb neben der möglichst genauen histologischen Analyse als einigermaßen verlässlicher Indikator für den Reifungszustand der Keimdrüse nur die Messung von Kanälchenquerschnitten. Es wurde jeweils bei 30 runden oder annähernd runden Querschnitten aus verschiedenen Teilen des Hodens der kleinste Durchmesser gemessen, der Mittelwert berechnet, ferner der kleinste und der größte Wert angegeben.

Zur Veranschaulichung der Verhältnisse an den Nebenorganen wurden diese einige Male gemessen und im ganzen gewogen.

B. Histologische Ergebnisse nach Prolanbehandlung bei männlichen Ratten.

Die vorliegende Studie befaßt sich mit der Wirkung des H.V.L.-Hormons (Prolan) auf männliche Ratten aller Altersstufen. Die Be- sprechung der Versuche ordnet sich daher zwanglos in folgende Gruppen.

1. Versuche an unreifen Tieren.

Niederschrift (Versuch 53). 5 ♂ von Ratte 226a, 21–24 g schwer. 2 Tiere dienten zum Vergleich, die übrigen 3 erhielten als Gesamtmenge 1, 2 und 10 R.E. (jeweils in 5 Portionen).

Dieser Versuch mit kleinsten Mengen ergab keinerlei Wirkung.

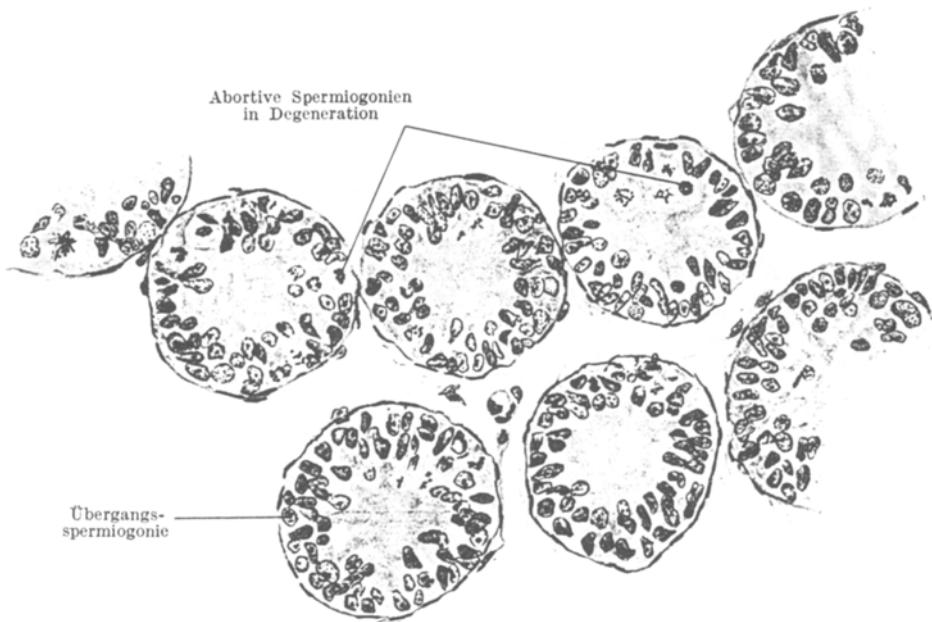


Abb. 3. Versuch 51, Versuchstier D, 12 Tage alt. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm.
Stieve, Delafields Hämatoxylin-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

Niederschrift (Versuch 51). 5 ♂ von Ratte 219c, 8 Tage alt. ♂ A und B dienten zum Vergleich, ♂ C, D und E erhielten am 8. und 9. Tage Prolanbehandlung. Autopsie mit 12 Tagen.

Tabelle 2. Versuch 51, Versuchsanordnung.

	Behandlung		Gesamtmenge R.E.	Gewicht am		Hodenmaße im Mittel aus r. und l. mm
	8. Tag R.E.	9. Tag R.E.		Anfang g	Schluß g	
A	—	—	—	13,0	19	4,5 × 2,5
B	—	—	—	11,5	16	5,0 × 3,0
C	2 × 3	3 × 3	15	13,0	17	4,5 × 3,0
D	2 × 15	3 × 15	75	13,5	17	5,5 × 2,8
E	2 × 30	3 × 30	150	12,0	—	—

Histologische Untersuchung:

Vergleichstiere: Wir sehen (Abb. 2) das Bild eines verhältnismäßig ruhigen unreifen Zustandes. Die lichtungslosen Kanälchen zeigen einen ein- bis zweischichtigen Belag, der in der Hauptsache aus indifferenten Samenzellen mit ihren schon geschilderten eiförmigen bis runden Kernen und Tüpfeln bröcklichen Chromatins besteht. Plasmagrenzen sind nicht zu erkennen. Ferner finden sich isoliert einige abortive Spermiogonien a) gut erhalten mit großem, hellem Kern; b) in untergehenden Formen mit Kernzerfall. Obwohl die indifferenten Zellen recht verschiedenartige

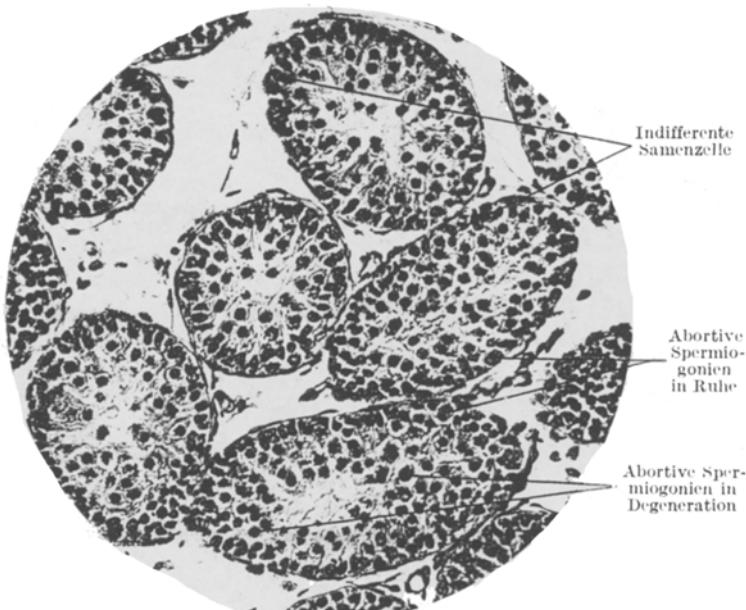


Abb. 4. Versuch 36, Vergleichstier A, 24 Tage alt, Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8, Tubusauszug 160 mm, Vergr. etwa 270fach. *Carnoy*, *Deltafield's* Hämatoxylin-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

Kerngestaltung haben, scheint eine weitere Sonderung noch nicht möglich. Mitosen sind im ganzen sehr selten.

Versuchstiere: Tier C bietet keine merklichen Abweichungen. Bei Tier D fällt auf (vgl. Abb. 3), daß vermehrte Mitosen und damit gesteigerte Zellbildung ein bewegteres Bild schaffen. Die Degenerationsbilder der abortiven Spermiogonien, die bei den Vergleichstieren nur gelegentlich auftreten, finden sich hier reichlich über ganze Kanälchenabschnitte hin.

Um die Häufigkeit der Mitosen zu bestimmen, habe ich in je 10 Gesichtsfeldern bei etwa 100facher Vergrößerung die Kernteilungsbilder nur der Zellreihe unmittelbar auf der Basalmembran ausgezählt:

Tabelle 3. Durchschnittliche Mitosenzahl in einem Gesichtsfeld.

A	2,2	C	3,9
B	1,7	D	5,2

Die Samenbildung der Versuchstiere ist gegenüber den Vergleichstieren noch nicht weiter fortgeschritten. Ich wage hier nicht, von Sertoli-Zellen und Spermiogonien zu sprechen. Der folgende Versuch wird die Verhältnisse klarer legen.

Tabelle 4 zeigt, daß die Kanälchendurchmesser der Versuchstiere größer sind, als bei den Vergleichstieren.

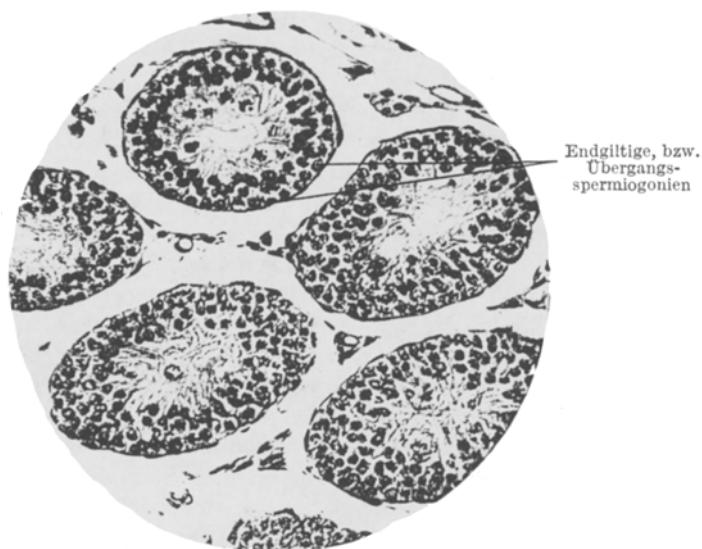


Abb. 5. Versuch 36. Versuchstier D, 24 Tage alt, 150 R. E. Prolan. Zeiß Obj. 8 mm.
Kompens. Ok. 8, Tubusauszug 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Carnoy, Delafields
Hämatoxylin-Eosin, Schnittfläche 5 μ .

Tabelle 4. Versuch 51, Kanälchenweite.

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	55	59	67
B	52	58	67
C	59	64	79
D	60	67	76

Niederschrift (Versuch 36). 5 ♂ von Ratte 227a, 18 Tage alt. Behandlung am 18. und 19. Lebenstage. Autopsie mit 24 Tagen.

Histologische Untersuchung. Vergleichstier: Das Bild wird beherrscht von dem Untergang der abortiven Spermiogonien, deren verklumpte Kerne manchmal vereinzelt, meist aber in großer Zahl den zentralen Teil der Kanälchen erfüllen (Abb. 4). Die indifferenten Samenzellen, die sich wandständig in 1—2 Schichten finden, treten in das Stadium

Tabelle 5. Versuch 36, Versuchsanordnung.

	18. Tag R.E.	Behandlung	19. Tag R.E.	Gesamtmenge R.E.	Endgewicht g
A	—	—	—	—	22
B	2 × 0,6	—	3 × 0,6	3	23
C	2 × 6	—	3 × 6	30	20
D	2 × 30	—	3 × 30	150	21
E	2 × 60	—	3 × 60	300	20

Gewichte und Maße der Hoden geben keine Unterschiede.

der Differenzierung. Wir erkennen in der Abbildung zahlreiche Übergangsformen, ferner — ganz vereinzelt — endgültige Spermiogonien mit gleichmäßig dunklem Kern (unmittelbar auf der Basalmembran), ferner Sertolikerne, hell mit ihren charakteristischen Kernkörperchen.

Versuchstiere: Die Tiere B und C zeigen etwa dasselbe Bild; anders die Tiere D und E (Abb. 5). In einem Teil dieser Kanälchen ist der Untergang der abortiven Spermiogonien noch im Gang, der Vorgang nähert sich aber dem Ende. In etwa der Hälfte der Kanälchen sind gar keine abortiven Spermiogonien mehr zu sehen. In 2—3 Schichten, unmittelbar auf der Membrana propria, liegen indifferente Zellen. Durch die Differenzierungsvorgänge, die sich in vollem Gang befinden, zeigen sie überaus mannigfaltige Formen. Stellenweise finden sich schon zusammenhängende Abschnitte des endgültigen Samenepithels: Spermiogonien mit reichen Mitosen und Sertolizellen. Die Mitte der Kanälchen ist zellfrei und zeigt oft ein kleines Lumen. Das ganze Bild bedeutet den Fortschritt der Entwicklung um eine Stufe, es ist das Bild der „unification cellulaire“ (vgl. S. 225).

Ab und zu sind Kerne zu sehen, die man für Spermiozyten halten könnte. Die degenerierenden Mitosenbilder der Spermiozyten zeigen zackige, sternartige Ausläufer des Chromatinklumpens, während die Degenerationen der Spermiogonien kompakter sind, zum Teil mit stumpfen Ausläufern. Die Kanälchendurchmesser der Versuchstiere C und D sind trotz der Zellentwicklung nur wenig vergrößert (Tab. 6).

Tabelle 6. Versuch 36, Kanälchenweite.

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	76	85	92
B	67	82	97
C	77	86	94
D	75	92	101
E	69	81	90

Niederschrift (Versuch 70): 3 ♂ von Ratte 213c. Behandlung am 10. und 11. Lebenstage, Autopsie mit 18 Tagen.

Tabelle 7. Versuch 70, Versuchsanordnung.

	Behandlung		Gesamtmenge R.E.	Körpergewicht	
	10. Tag R.E.	11. Tag R.E.		Anfang g	Schluß g
A	—	—	—	20,0	24,0
B	2 × 100	3 × 100	500	18,0	21,0
C	—	—	—	16,5	19,5

Dieser Versuch mit hohen Gaben ergänzt das vorher Besprochene.

Versuchstier: Das Zustandsbild der Kanälchen ist verworren als das der Vergleichstiere. Die einzelnen Zellkategorien liegen durcheinander gewürfelt. Die Wandbekleidung wird oft von ununterbrochenen Kolonnen von Spermiogonien gebildet. Man erkennt sehr viele Mitosen, auch einige Teilungsfiguren von Spermiozyten. Das Zwischengewebe ist vermehrt. Es bildet regellos verteilte Zellhaufen, noch keine zusammenhängenden Stränge.

Die Versuche bei dieser Altersstufe waren schwierig und zeitraubend, weil die Mütter ihre behandelten Jungen recht häufig vernachlässigten oder auffraßen. Im ganzen gingen mir dadurch 7 weitere Versuche mit 22 Tieren verloren. Einen Teil dieser Hoden konnte ich noch untersuchen. Von einer Beschreibung der einzelnen Befunde sehe ich ab, weil sie nichts neues ergibt und das Haupterfordernis fehlt: Der Vergleich mit Geschwistern desselben Wurfes.

Zusammenfassung: Die Prolanwirkung zeigt sich am kindlichen Rattenhoden bei mittleren Gaben als Entwicklungserregung und -beschleunigung. Das lebhaftere Zellgeschehen findet seinen objektiven Ausdruck in der vermehrten Mitosenzahl. Die dem Untergang verfallenen abortiven Spermiogonien werden beschleunigt abgestoßen und damit eine früher einsetzende endgültige Samenbildung ermöglicht. Trotz des Zellreichtums sind die Kanälchen der behandelten Tiere nur wenig weiter als bei den Vergleichstieren; es kommt zur früheren Ausbildung einer Lichtung.

Ausdrücklich möchte ich betonen, daß sich bei Vergleichs- wie Versuchstieren natürlich *Übergänge* finden und daß aus dem einzelnen Querschnitt ein Urteil nicht hergeleitet werden darf. Man muß eine gewisse Anzahl von Schnitten vergleichen, um den tatsächlichen Unterschied zu erkennen. Kleine Prolangaben haben keine Wirkung. Schädigungen sind innerhalb der kurzen Beobachtungszeit auch bei den höheren Gaben noch nicht eingetreten. Die Nebenorgane sind vergrößert.

2. Versuche an Tieren mit reifender Keimdrüse.

In einer zweiten Gruppe sind die Versuche an Tieren im Alter von $3\frac{1}{2}$ —7 Wochen, d. h. die Wirkung des H.V.L.-Hormons auf die Ausbildung der endgültigen Samenzellen und das Einsetzen der Spermiohistogenese zu betrachten.

Die Gewichte der Tiere weichen, wie bekannt, sehr stark voneinander ab. Ein verlässlicher Maßstab ist das Alter, das fortlaufend angegeben ist.

Niederschrift (Versuch 52). 3 ♂ von Ratte 252a. Prolanbehandlung vom 8.—11. Lebenstage. Autopsie mit 38 Tagen.

Tabelle 8. *Versuch 52, Versuchsanordnung.*

	Prolanbehandlung				Gesamtmenge R.E.	Endgewicht g	Hodenmaße im Mittel aus r. und l. mm
	8. Tag R.E.	9. Tag R.E.	10. Tag R.E.	11. Tag R.E.			
A	—	—	—	—	—	41,0	12,00 × 7,25
B	2 × 3	3 × 3	2 × 3	3 × 3	30	37,0	10,75 × 6,25
C	2 × 15	3 × 15	2 × 15	3 × 15	150	37,5	10,50 × 5,25

Die Körpergewichte liegen in der physiologischen Breite, die Hodenmaße sind bei den Prolantieren deutlich kleiner.

Histologische Untersuchung. Vergleichstier: Man sieht in den gleichmäßig weiteren Kanälchen die unmittelbare Vorstufe zur Spermienbildung (Abb. 6). Spermiogonien und Spermiocyten sind reichlich, auch in Teilungsfiguren, vorhanden; nach der Mitte zu liegen mehrere Reihen Spermiden, junge Formen mit einer zentralen Chromatinverdichtung, ferner ausgewachsene Spermiden, größer mit helleren Kernen. Die Spermiohistogenese hat noch nicht eingesetzt.

Versuchstier B: Auffällig ist eine Vermehrung der Spermiocyten in Synapsis, eine Bildung, die der echten Pyknose recht ähnlich sieht und schwer von ihr zu unterscheiden ist.

Versuchstier C: Das Gesamtbild ist stark verändert (Abb. 7). Die Kanälchen sind gegenüber dem Vergleichstier merklich enger (Tab. 9), die Zellbildung ist wild und ungeordnet. Vielfach ist das ganze Lumen ausgefüllt. Die Spermiogonien selbst scheinen hier von der Störung nicht (nicht mehr?) mitbetroffen. Wir sehen überall einen reichlichen Zellbelag in unveränderter Form, teils in Ruhe, teils aktiv.

Die Spermiocyten sind vermehrt. In allen Kanälchen finden sich synaptische Formen in 1–2, manchmal in 3 Reihen; die Figuren des Spiremstadiums sind oft stark gelockert und vakuolisiert; das Chromatin verschwindet. Spermiden aller Reifungsstufen, auch Reifeteilungen, sind viel zu sehen. Nirgends aber erkennt man den Ansatz zur Spermiohistogenese.

Im Wandbelag, zum Teil auch losgelöst und degenerierend, kommen Riesenzellen vor (Abb. 7). In einem verschieden großen Plasmaleib liegen gewöhnlich mehrere Kerne, deren Größe und Struktur mehr oder weniger deutlich an Spermiden erinnert. Kerne in echter Degeneration, hypochromatisch mit verschwommener Struktur und hyperchromatische Formen sind gelegentlich eingestreut.

Tabelle 9. *Versuch 52, Kanälchenweite.*

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	136	159	182
B	126	146	167
C	101	126	157

Zusammenfassung: Als Prolanwirkung ergibt sich eine vermehrte Zellbildung in den Samenkanälchen, die nicht ihr physiologisches Ziel, die Spermienbildung, erreicht.



Abb. 6. Versuch 52, Vergleichstier A, 38 Tage alt, Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8,
Tubusauszug 160 mm, Vergr. etwa 270fach. *Stieve, Delafields* Hämatoxylin-Eosin,
Schnittdicke 5 μ .

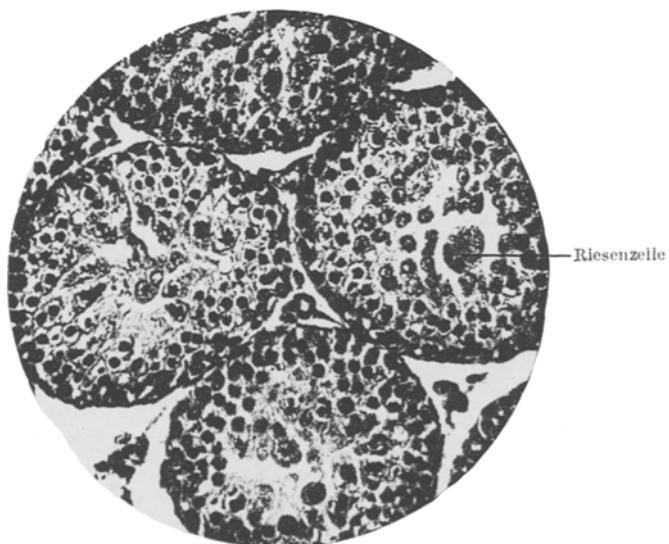


Abb. 7. Versuch 52, Versuchstier C, 38 Tage alt, 150 R. E. Prolan. Zeiß, Obj. 8 mm,
Kompens. Ok. 8, Tubusauszug 160 mm, Vergr. etwa 270fach. *Stieve, Delafields*
Hämatoxylin-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

Niederschrift (Versuch 18): 9 ♂ von Ratte 27a (24 Tage alt). 6 Tiere erhielten vom 24. bis zum 33., bzw. vom 24. bis zum 28. Lebenstage Prolan. Der Versuch wurde folgendermaßen durchgeführt:

Tabelle 10. *Versuch 18, Versuchsanordnung.*

	Anfangsgewicht g	Behandlung	Gesamtmenge R.E.	Autopsie im Alter von	
				Tagen	Wochen
A	38		—	35	5
B	40	Vergleichstiere	—	l. H. 42	6
C	38		—	r. H. 63	9
D	39		200	49	7
E	39	10 Tage lang je 20 R.E.	200	63	9
F	37		200	42	6
G	39		200	35	5
H	39	5 Tage lang je 40 R.E.	200	49	7
I	38		200	63	9

Histologische Untersuchung: a) Die Untersuchung der 5 Wochen alten Tiere.

Vergleichstier: Es ergibt sich dieselbe Lage wie im vorigen Versuch. Die Spermiohistogenese steht unmittelbar bevor. Die ersten Umwandlungsvorgänge von Spermiden in Spermienköpfen sind an ganz wenigen Stellen zu sehen. Sonst gleicht das Bild (Abb. 8) völlig dem im vorigen Versuch beschriebenen Vergleichstier.

Versuchstier: Man erkennt eine gewisse Unregelmäßigkeit des Zellaufbaues (Abb. 9). Die Spermiogonien haben reichlich viele Teilungsfiguren, die Reihen der Spermiozyten sind daher überfüllt. Spermiden finden sich in großer Menge, Spermien sind nirgends zu sehen. Degenerationszeichen fehlen.

Hier möchte ich wieder ausdrücklich betonen, daß das einzelne Bild, wie es Abb. 9 darstellt, sich auch gelegentlich bei einem normalen Tier finden kann; bei meinem Versuchstier bildet es indes die Regel und darf deshalb dem normalen Durchschnittsbild als verändert gegenübergestellt werden. Die Kanälchen sind weiter (Tab. 11).

Tabelle 11. *Versuch 18, Kanälchenweite.*

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	136	155	172
G	152	170	192

b) Die Untersuchung der 6 und 7 Wochen alten Tiere.

Vergleichstier: Die Spermienbildung ist eingetreten. Abb. 10 zeigt den typischen Zustand. Wir sehen die verschiedenen Kategorien des Samenepithels wie vordem, dazu aber, auf das Lumen zu gerichtet und auch zwischen Spermiden und Spermiozyten in die Tiefe reichend, allenthalben lebhafte Samenbildung. Vorerst sind meist nur die beilförmigen Köpfe, bündelartig geordnet, zu erkennen.

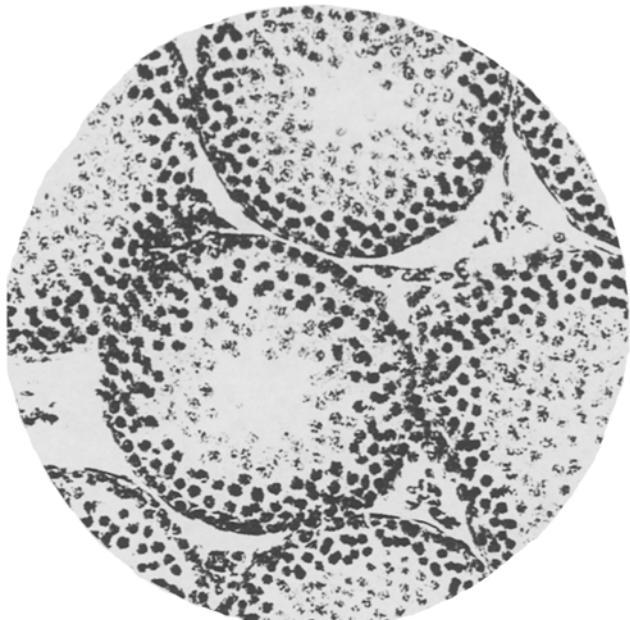


Abb. 8. Versuch 18, Vergleichstier A, 35 Tage alt. Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8, Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

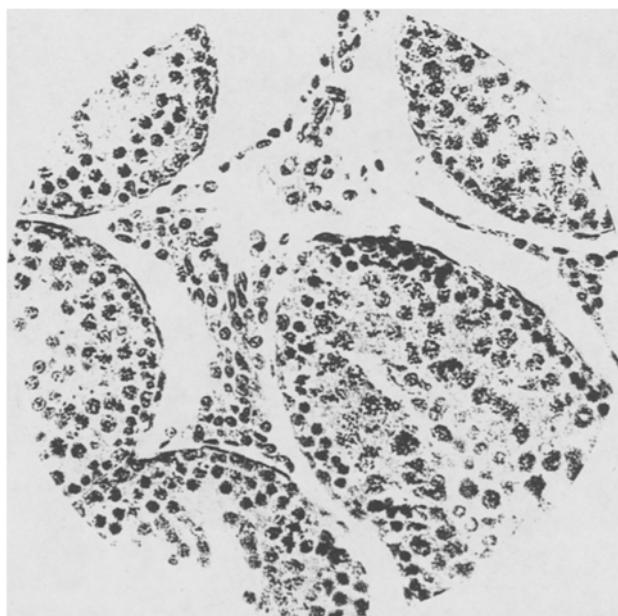


Abb. 9. Versuch 18, Versuchstier G, 35 Tage alt, 200 R.E. Prolan. Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8, Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin. Schnittdicke 5 μ .

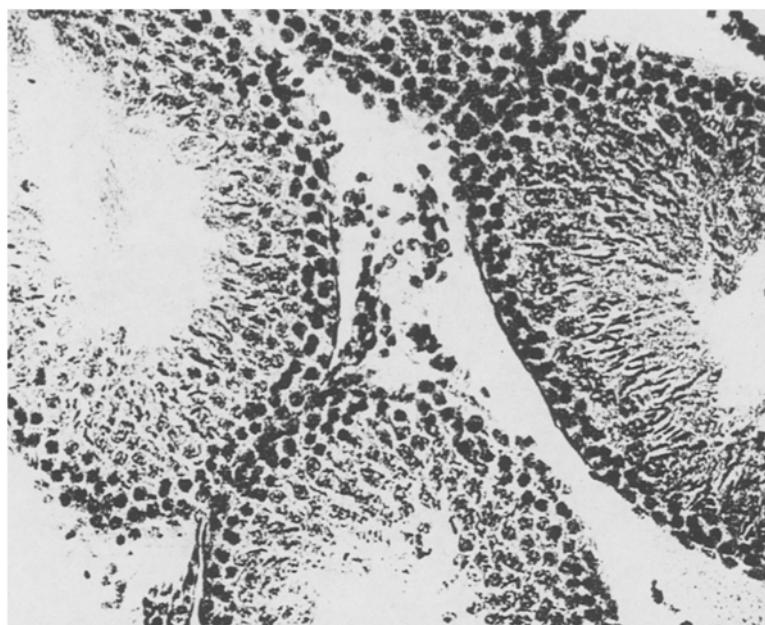


Abb. 10. Versuch 18, Vergleichstier C, 7 Wochen alt. Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8. Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin. Schnittdicke 5 μ .

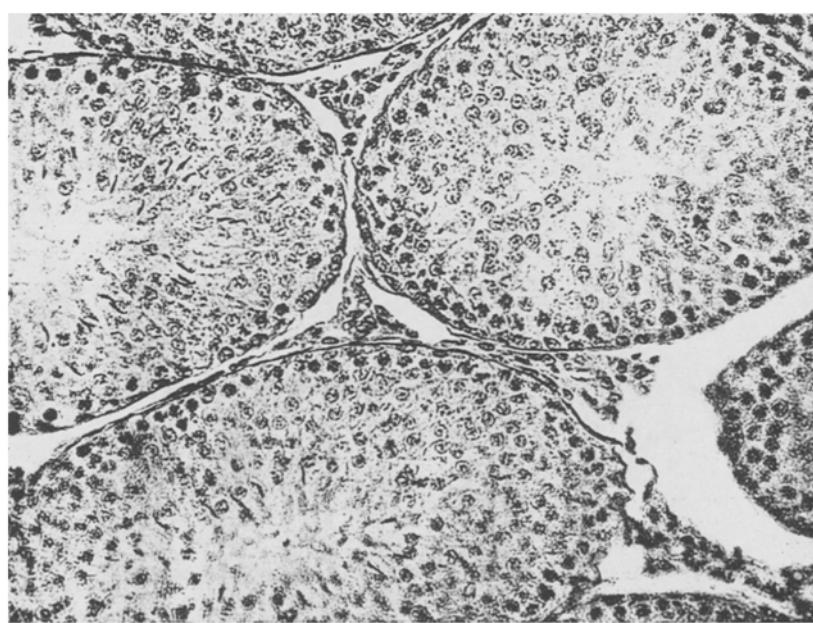


Abb. 11. Versuch 18, Versuchstier D, 7 Wochen alt, 200 R. E. Prolan. Zeiß, Obj. 8 mm, Kompens. Ok. 8. Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin. Schnittdicke 5 μ .

Versuchstiere: Hier finden wir überaus rege Zellbildung. Wir sehen bei Tier D (Abb. 11), daß die Reizung gerade die Spermiogonen trifft, die in regste mitotische Teilungen versetzt sind. Vielfach sind die ruhenden Spermiogonen verschwunden. Als Folge tritt lebhafte Vermehrung der übrigen Zellarten ein, der Spermiozyten und vor allem der Spermiden, die allein oft 5—7 Schichten in Anspruch nehmen.

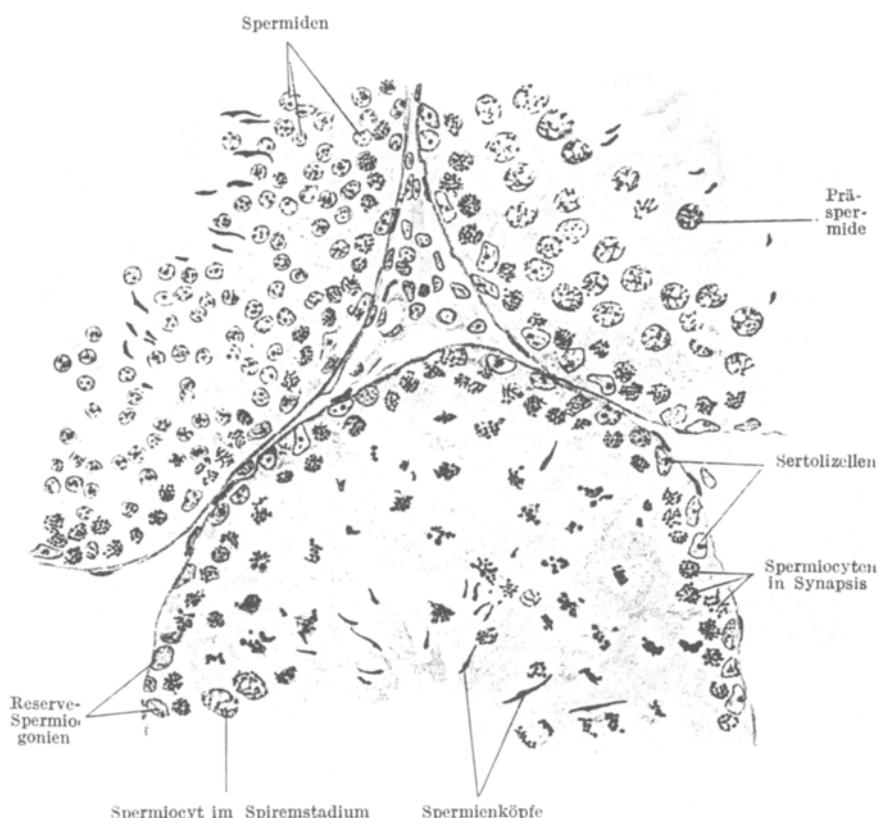


Abb. 12. Versuch 18, Versuchstier F, 6 Wochen alt, 200 R. E. Prolan. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm. Delafield's Hämatoxylin-Eosin, 5 μ .

Ein einzelnes Kanälchen dieser behandelten Hoden für sich betrachtet, würde keine Diagnose erlauben. Das gehäufte Auftreten der Mitosen wie der Zellbildung ist erst als deutliche Antwort auf den Reiz des H.V.L.-Hormons zu buchen. Wie in den vorigen Versuchen gezeigt, war es trotz des Entwicklungsantriebes, den Prolan auf den unreifen Hoden ausübt, überraschenderweise nicht zu vorzeitiger Spermienbildung gekommen. Die Versuchstiere dieser Altersgruppe geben eine neue Bestätigung. Bei ihnen sehen wir zwar auch Spermien, aber in auffallend geringer Zahl. Die „faszikuläre“ Anordnung ist nicht deutlich.

Während in den früheren Versuchen ein Entwicklungsantrieb auf die Spermiohistogenese fehlte, wäre hier geradezu von einer Entwicklungs-hemmung zu sprechen. Auch Abb. 12 zeigt nochmals an Versuchstier F deutlich den Einfluß auf das mitotische Geschehen. Sämtliche Zellarten sind von der Entwicklungserregung betroffen, aber die Samenbildung ist sicher nicht positiv beeinflußt.

Einen weiteren bemerkenswerten Befund bietet Tier H (Abb. 13). Zwischen dem Durchschnittsbild der Kanälchen finden sich unterentwickelte

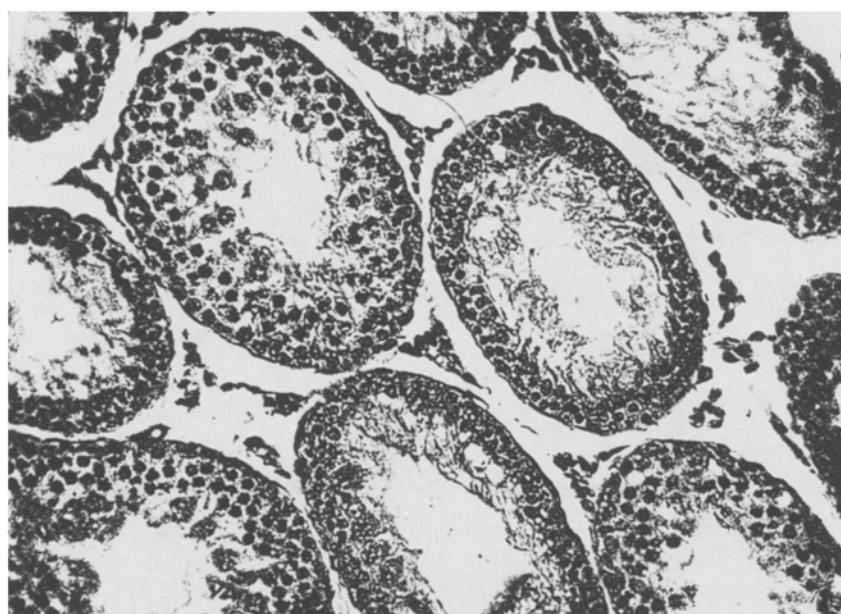


Abb. 13. Versuch 18, Versuchstier H, 7 Wochen alt, 200 R. E. Prolan. Zeiß, Obj. 8 mm. Ok. 8, Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach, Zenker, Delafields Hämatoxylin-Eosin, 5 µ.

Tubuli. Man sieht gewöhnlich zwei Schichten Spermiogonienkerne, klein, sehr eng aneinander geschmiegt, darunter zahlreiche Mitosen. Ungewöhnlich ist, daß über Kernteilungsfiguren der äußeren Reihe nach innen zu typische ruhende „Reservespermiogonien“ liegen. Eine Annäherung an den kindlichen Zustand und seine Übergangsspermiogonien scheint wieder hergestellt. Weitere Zellarten finden sich im allgemeinen nicht.

Eine kernlose Plasmaschicht bis zur doppelten Dicke der kernbesetzten Randzone reicht bis an das Lumen, das gut ausgebildet ist. Der Durchmesser der unterentwickelten Tubuli ist kleiner als der der normalen. Den Gesamtzustand deute ich als ein Mittelprodukt zwischen endgültiger Spermogenese und „unification cellulaire“.

c) Die Untersuchung der 9 Wochen alten Tiere.

Hier sind keine Unterschiede mehr zu erkennen. Gleichmäßig bei Versuchs- und Vergleichstieren dieser Gruppe findet sich lebhafte Samenbildung, durch keine Unregelmäßigkeit getrübt. Ungeschwänzte und geschwänzte Spermien sind zu sehen. Die Hormonattacke ist vorüber, die vor $5\frac{1}{2}$ Wochen gesetzten Unterschiede sind verwischt und wieder ausgeglichen.

Das *Zwischengewebe* bei den 6 Prolantieren dieses Versuches ist vermehrt. Es finden sich größere Gruppen bis zu 50, 100 und mehr Zellen. Die Kanälchen sind aber meistens nicht eingesponnen. Die Nebenorgane sind vergrößert.

Zusammenfassung: Prolan bewirkt bei den 5—7 Wochen alten Tieren dieses Versuches am Keimgewebe eine Vermehrung der Mitosen und der Bildung von Spermiozyten und Spermiden. Die Spermienbildung ist in keinem Fall gefördert. Bei den 9 Wochen alten Geschwister-tieren ist von einer Prolanwirkung nichts mehr zu erkennen.

Niederschrift (Versuch 60): 6 ♂ von Ratte 224f. Die Behandlung setzt zu einer Zeit ein, wo die unreifen Zellen verschwunden sind, mit 35 Tagen. Autopsie mit 42 Tagen.

Tabelle 12. *Versuch 60, Versuchsanordnung.*

	Behandlung			Gesamtmenge R.E.	Gewicht		Hodenmaße im Mittel aus r. und l. nun
	35. Tag R.E.	36. Tag R.E.	37. Tag R.E.		Anfang g	Schluß g	
A	—	—	—	—	45	62,0	$12,75 \times 7,00$
B	—	—	—	—	50	61,5	$13,00 \times 7,50$
C	15	2×15	2×15	75	45	55,0	$11,00 \times 6,00$
D	15	2×15	2×15	75	45	55,0	$11,75 \times 6,00$
E	50	2×50	2×50	250	50	58,0	$11,00 \times 6,50$
F	50	2×50	2×50	250	40	49,5	$10,50 \times 6,25$

Histologische Untersuchung. Vergleichstier: Es zeigt sich reichliche Samenbildung, wie sie bei den 5- bis 7wöchigen Tieren der vorigen Versuche mehrfach geschildert ist. Spermien sind vorhanden.

Versuchstiere: Bei den Tieren mit kleinen Prolangaben (C, D) finden wir ein etwas lebhafteres Bild. Es treten auch hier vermehrte Mitosen und größere Zellzahl in Erscheinung, die einzelnen Kategorien des Samenepithels liegen nicht so wohlgeordnet übereinander wie sonst. Spermien sind vorhanden.

Unter der Wirkung der hohen Gabe (E, F) ist die Spermiohistogenese nur schwach zur Entwicklung gekommen. Nur in der Minderzahl der Tubuli finden sich die Umbauvorgänge an den Spermiden, nur in wenigen Kanälchen sind Spermienköpfe zu sehen. Sie kommen eher einzeln vor als in kräftigen Büscheln. Das Zwischengewebe ist in geringem Grade vermehrt.

Zusammenfassung: Der Versuch zeigt, daß kleine und mittlere Prolangaben an der in der Reifung begriffenen Keimdrüse nicht so starke Veränderungen machen wie im kindlichen Zustand. Anregung

zur Zellbildung, geringe Vermehrung des Zwischengewebes, Hemmung der Spermiohistogenese sind die charakteristischen Anzeichen. Hypertrophische wie degenerative Vorgänge sind nicht stark ausgeprägt.

Niederschrift. (Versuch 23): 4 ♂ von Ratte 50a. A und B blieben unbehandelt, C und D erhielten vom 16. bis zum 40. Lebenstage (also 25 Tage lang) täglich 30 R.E. Prolan. Gesamtdosis 750 R. E. Autopsie der Tiere A und C mit 9 Wochen.

Histologische Untersuchung. Vergleichstier: Man erkennt in Abb. 14, daß überall massenhaft Spermien gebildet werden. Auch die Schwanzausbildung ist vollzogen.

Versuchstier: Der Reifungsprozeß ist offensichtlich durch die chronische Prolanzufuhr gestört (Abb. 15). Die Zellbildung hat unregelmäßige Formen angenommen. Nur unreife Spermien sind einzeln vorhanden. Statt der erwarteten großen Büschel (wie beim Vergleichstier) sieht man auf das Lumen zu gerichtet strukturlose Plasmafortsätze.

Die Kanälchen (Tab. 13) sind enger als bei dem Vergleichstier.

Tabelle 13. Versuch 23, Kanälchenweite.

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	212	235	278
C	177	196	227

Zusammenfassung: Nach chronischer Prolangierung zeigt sich in den engen Kanälchen des Versuchstieres eine deutliche Hemmung der Spermienbildung.

Die bisher geschilderten Versuche haben die Wirkung kleiner und mittlerer Prolangaben auf die reifende männliche Keimdrüse analysiert. Es deutete sich zweierlei an, *Entwicklungserregung* und *Schädigung*.

Es schien nun angezeigt, auch höchste Dosierungen zu untersuchen. Die folgenden Versuche sind dieser Frage gewidmet.

Niederschrift (Versuch 71): 3 ♂ von Ratte 52a. 16 Tage alt. A dient als Vergleichstier, B und C erhalten vom 16. bis zum 25. Tage hohe Prolangaben. Autopsie mit 28 Tagen.

Tabelle 14. Versuch 71, Versuchsanordnung.

	Prolanbehandlung			Gewicht		Hodenmaße im Mittel aus r. und l. mm
	Dauer Tage	Tages- menge R.E.	Gesamt- menge R.E.	Anfang g	Schluß g	
A	—	—	—	29	59,5	11,5 × 5,25
B	10	100	1000	26	51,5	11,5 × 6,75
C	10	1000	10000	29	53,0	13,25 × 8,0

Der makroskopische Befund ist auffallend. Außer der bereits aus den vorigen Versuchen bekannten Vergrößerung der Nebenorgane finden

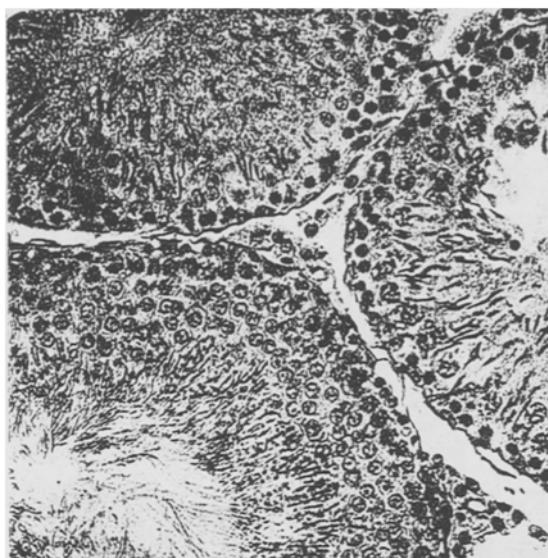


Abb. 14. Versuch 23, Vergleichstier A, 9 Wochen alt, Zeiß, Obj. 8 mm, Ok. 8, Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin, 5 μ .

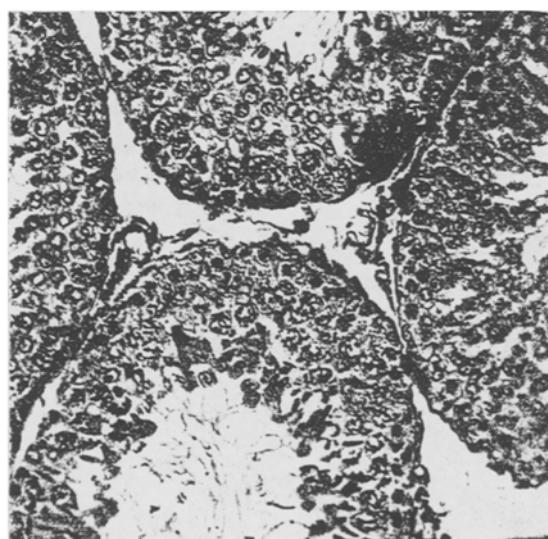


Abb. 15. Versuch 23, Versuchstier C, 9 Wochen alt, 750 R. E. Prolan, Zeiß, Obj. 8 mm, Ok. 8, Tubuslänge 160 mm, Vergr. etwa 270fach. Zenker, Hämalaun-Eosin, 5 μ .

wir hier zum erstenmal erhebliche *Vergrößerung* der *Hoden* in Maß und Gewicht (Tab. 14 und 15, Abb. 10).

Tabelle 15. *Versuch 71, Gewicht der Geschlechtsorgane.*

	Hodengewicht			Gewicht der Nebenorgane (Nebenhoden, Samenblase, Prostata, Fettkörper, entleerte Harnblase)
	rechts g	links g	zusammen g	
A	0,175	0,180	0,355	0,470
B	0,190	0,200	0,390	0,840
C	0,300	0,305	0,605	1,170

Die Vergrößerung der Hoden war schon am lebenden Tier etwa nach einer Woche Behandlung zu sehen. Der Descensus der Hoden war

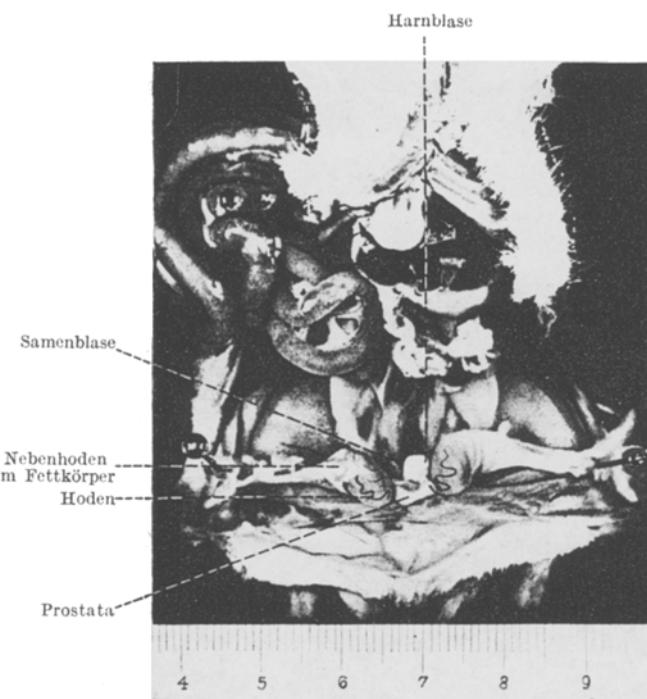


Abb. 16. Beckenorgane *in situ*. Versuch 71. Alter des Tieres: 28 Tage. Vergleichstier A.

vollzogen, der Hodensack erweitert, gespannt und vorgewölbt, in groteskem Widerspruch zu den kindlichen Körperverhältnissen. Abb. 16 bis 18 zeigen die Vergrößerung aller Teile des Geschlechtsapparates im Situsbild. Der linke Hoden in Abb. 18 war kurz vor Anfertigung der



Abb. 17. Beckenorgane *in situ*. Versuch 71. Alter des Tieres: 28 Tage. Versuchstier B, 1000 R. E. Prolan.

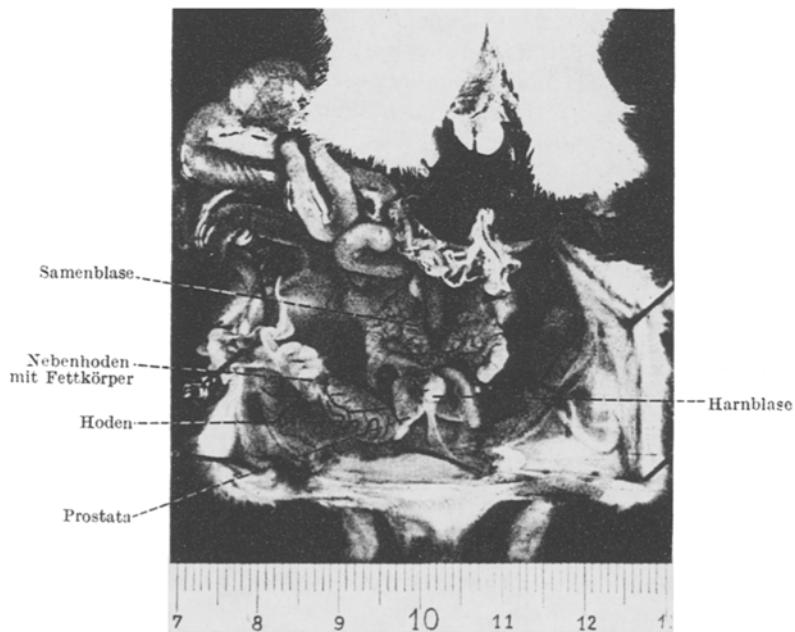


Abb. 18. Beckenorgane *in situ*. Versuch 71. Alter des Tieres: 28 Tage. Versuchstier C 10000 R. E. Prolan.

Photographie entfernt worden. Der rechts erhaltene Hoden ist indes deutlich größer als in Abb. 16.

Noch auffallender ist der Größenunterschied der Nebenorgane. Man vergleiche das fadendünne rechte Samenbläschen und die kleine Prostata in Abb. 16 (normales, infantiles Tier) mit der außerordentlichen Größe derselben Organe bei den prolanbehandelten Geschwistern (Abb. 17 und 18). Das Körpergewicht der behandelten Tiere war zurückgeblieben.

Histologische Untersuchung. Vergleichstier: Man sieht in Abb. 19 das bekannte Bild kurz vor der Geschlechtsreife: Das Samenepithel ist vielschichtig, Spermien fehlen noch. Die Kanälchen schließen dicht aneinander, nur an einigen „Knotenpunkten“ liegen kleine Zwischenzellhaufen.

Versuchstiere: Am Keimgewebe der Tiere B und C finden sich überall Schädigungsbilder.

Am auffälligsten sind Spermiden und Spermiocyten betroffen. Bei Versuchstier B zeigt sich an einigen Stellen noch die in den früheren Versuchen beschriebene Wucherung, dazwischen liegen zerfallene Abschnitte. Bei Tier C überwiegt die Entartung (Abb. 20). Die Spermiden sind vielfach schon ganz verschwunden, die Spermiocyten gehen pyknotisch zugrunde; sie sind zum Teil bereits abgestoßen — dann besteht der Kanälchenbelag nur noch aus einer einfachen Zellschicht — oder sie sind gerade in Abstoßung begriffen, wie in Abb. 20.

Der Zerstörungsvorgang macht bei dieser hohen Dosierung auch vor den Spermiogonien nicht Halt. In Abb. 20 erkennt man nur noch vereinzelte typische Spermiogonienkerne, die Sertolizellen treten deutlicher hervor. An einigen Stellen finden sich im Wandbelag Zellgruppen, deren ganzer Charakter sie als *indifferente Samenzellen* ansprechen lässt (*rück-schrittliche Umwandlung*). Die Spermienbildung ist nirgends angedeutet. Riesenzellen mit verschiedener Zahl von Spermidenkernen finden sich häufig (Abb. 21), offenbar muß also eine Störung am Teilungsapparat der *überlebenden* Zellen eingetreten sein.

Die Kanälchen der Versuchstiere sind im Mittel enger, zeigen aber auffallend hohe Schwankungsbreite zwischen kleinstem und höchstem Wert (Tab. 16).

Tabelle 16. *Versuch 71, Kanälchenweite.*

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	131	149	172
B	76	111	152
C	81	113	152

Das *Zwischengewebe* ist mächtig hervorgetreten. In breiten Strängen umschließt es jedes einzelne Kanälchen, so daß keines mehr an das

benachbarte stößt. An solchen Stellen, wo bei den Vergleichstieren die Kanälchen sich unmittelbar berühren (also auf der Verbindungsline der Mittelpunkte zweier benachbarter Kanälchen), erreicht es bei Versuchstier C eine Dicke von 85μ . Die Gewichtserhöhung der

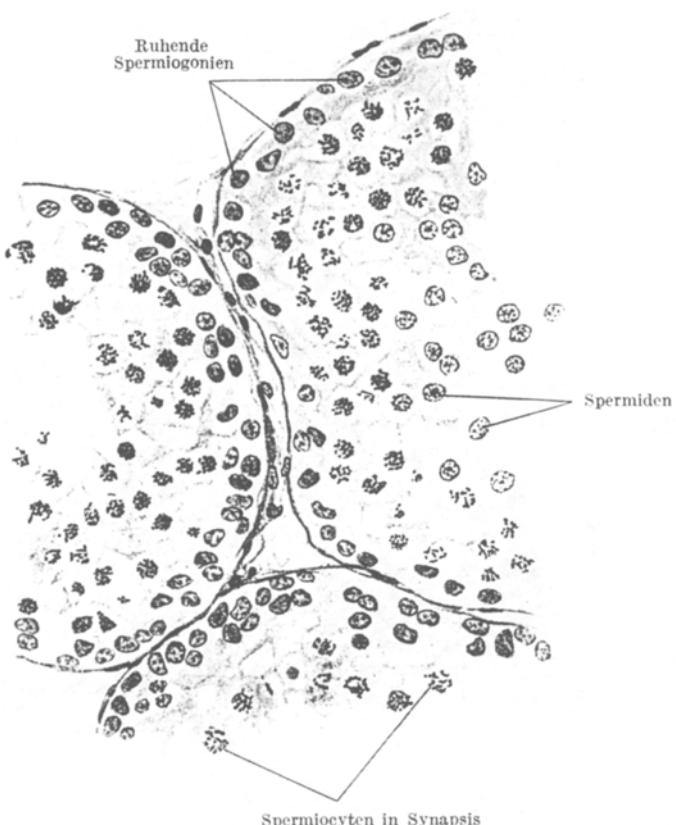


Abb. 19. Versuch 71, Vergleichstier A, 4 Wochen alt, Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm, *Stieve, Deltafields* Hämatoxylin-Eosin. Schnittdicke 5 μ .

Hoden bei den behandelten Tieren beruht zweifellos auf dieser Vermehrung der Zwischensubstanz, nicht auf einer Zunahme des Keimgewebes. Dieses gewucherte Zwischengewebe zeigt ganz den Charakter jungen Bindegewebes. Man sieht reichlich Mitosen, das Gewebe ist gut gefäßversorgt.

Niederschrift (Versuch 73): 6 ♂ von Ratte 213a. 20 Tage alt. 3 ♂ dienen als Vergleich, die übrigen 3 erhalten 10 Tage lang (vom 20. bis zum 29. Lebenstage) hohe Prolanmengen. Die Versuchsdurchführung geht aus Tab. 17 hervor.

Histologische Untersuchung: Erste Untersuchung mit 5 Wochen.

Versuchstier: Der Befund ist entsprechend dem des vorigen Versuches: In den Kanälchen Zelltod mit Abstoßung des Samenepithels

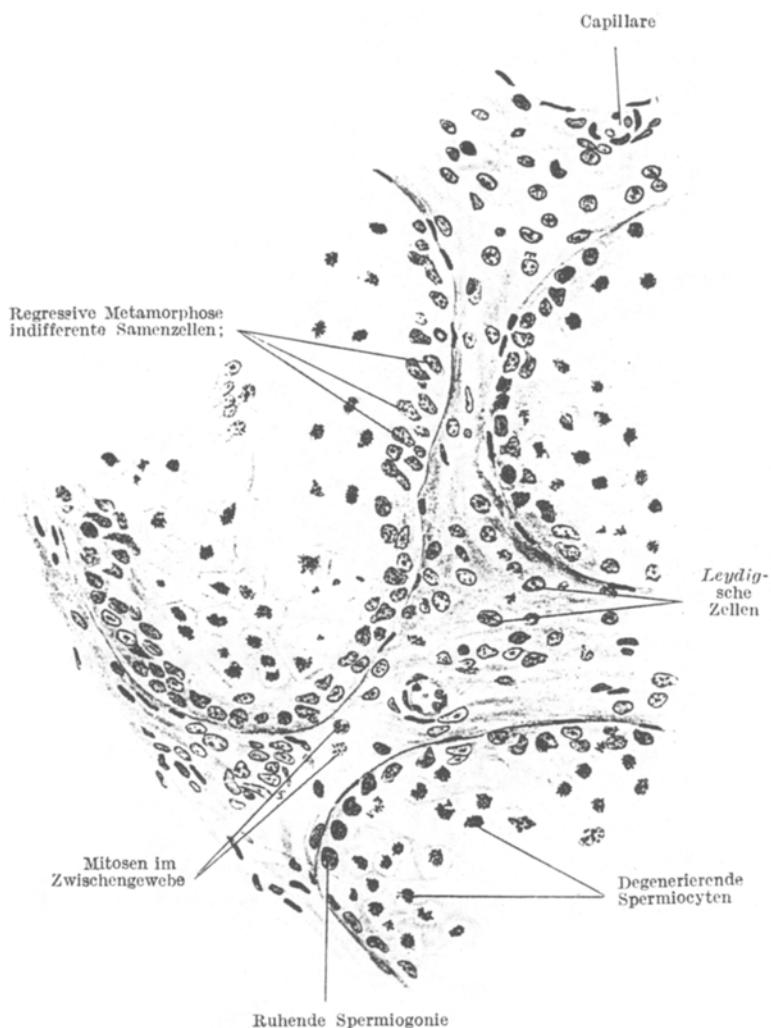


Abb. 20. Versuch 71, Versuchstier C, 4 Wochen alt, 10000 R. E. Prolan. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm. Stieve, Delafields Hämatoxylin-Eosin, Schnittdicke 5 μ .

und Riesenzellbildung (Abb. 22); das Zwischengewebe ist gewuchert. Die Schemazeichnungen (Abb. 23—25) zeigen 1. die verschiedenen Grade der Zwischengewebswucherung bei Tier D (1000 R.E., Abb. 24) dieses und bei Tier C (10000 R.E., Abb. 25) des vorigen Versuches im Vergleich

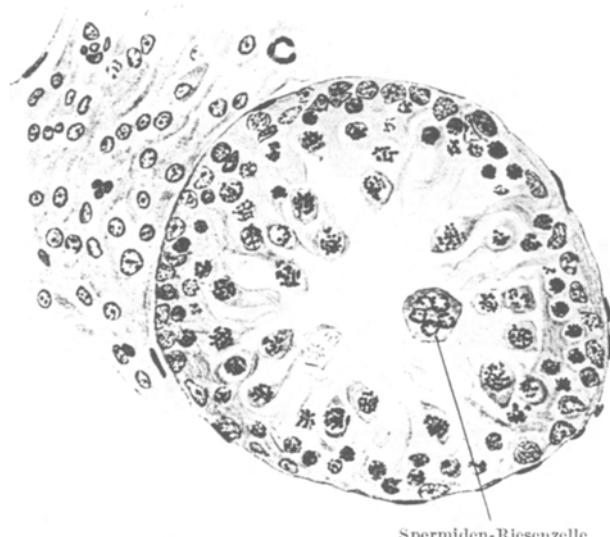


Abb. 21. Versuch 71, Versuchstier C, 4 Wochen alt, 10000 R. E. Prolan. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm. *Stieve, Delafield's Hämatoxylin-Eosin*, Schnittdicke 5 μ .

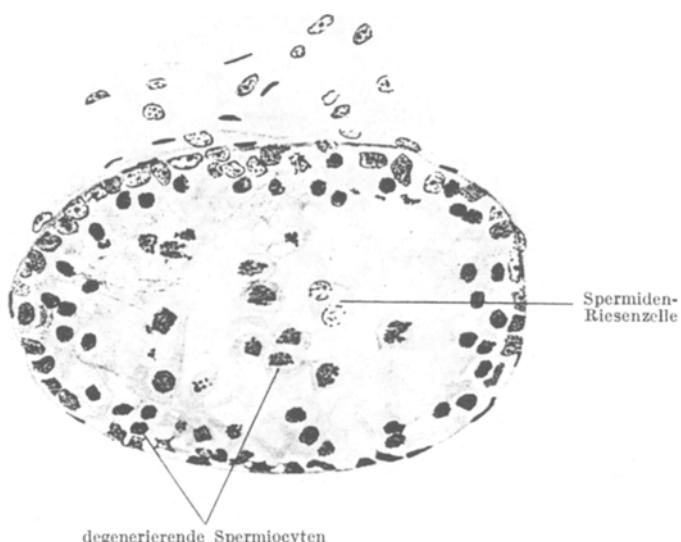


Abb. 22. Versuch 73, Versuchstier D, 5 Wochen alt, 1000 R. E. Prolan. Leitz, Obj. 6, Ok. 8, Tubuslänge 170 mm. *Stieve, Delafield's Hämatoxylin-Eosin*, Schnittdicke 5 μ .

zu dem Vergleichstier A von Versuch 71 (Abb. 23), 2. die starken Weitendifferenzen der Tubuli bei den Prolantieren.

Dieser Eindruck eines erheblichen Weitenunterschiedes der Kanälchen wird im mikroskopischen Präparat noch verstärkt, weil das Samen-

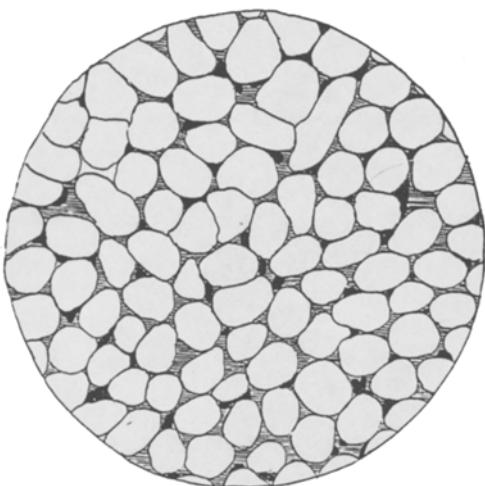


Abb. 23.

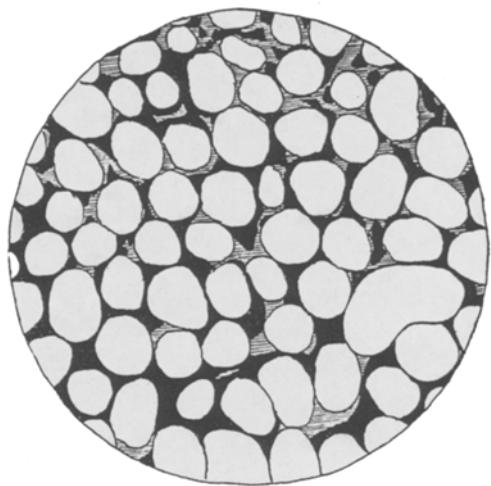


Abb. 24.

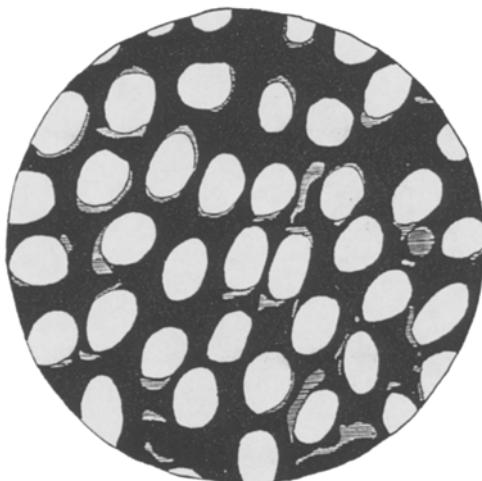


Abb. 25.

Abb. 23—25. Schematische Querschnittszeichnungen.

Abb. 23. Vergleichstier A aus Versuch 71. Abb. 24. Versuchstier D aus Versuch 73.

Abb. 25. Versuchstier C aus Versuch 71.

Die Präparate wurden bei 100facher Vergrößerung gezeichnet und bei der Reproduktion auf die Hälfte verkleinert. Kanälchen: □ Zwischengewebe: ■ Restraum: ▨

epithel nicht mehr gleichmäßig geschichtet ist, wie beim normalen Tier, sondern krauses Durcheinander zeigt, hier einschichtige Reste — auch

Tabelle 17. Versuch 73, Versuchsanordnung.

	Prolanbehandlung			Gewicht im Alter von				Autopsie mit Tagen
	Dauer Tage	Tages- menge R.E.	Gesamt- menge R.E.	20 Tagen g	30 Tagen g	40 Tagen g	63 Tagen g	
A	—	—	—	29	40,0	—	—	35
B	—	—	—	33	50,5	70,0	102	63
C	—	—	—	29	41,5	62,0	95	—
D	10	100	1000	26	33,5	—	—	35
E	10	100	1000	32	39,5	48,5	73	63
F	10	100	1000	32	40,5	52,0	75	—

diese zum Teil noch mit Lücken —, dort unphysiologische Wucherung. Immerhin zeigt Tab. 18, daß eine Reihe weiter, fast cystischer Kanälchen den Mittelwert des Kanälchendurchmessers bei Versuchstier D erhöhen gegenüber dem zugehörigen Vergleichstier A.

Tabelle 18. Versuch 73, Kanälchenweite.

	Mindestwert μ	Mittelwert μ	Höchstwert μ
A	96	120	146
D	91	131	177

Zweite Untersuchung mit 9 Wochen.

Vergleichstier: Der Hoden enthält reife geschwänzte Spermien, ein Bild, wie wir es von Abb. 14 kennen.

Versuchstier: Es findet sich nun wieder ein mehrschichtiges Keimepithel mit reichlichen Spermiozyten und Spermiden, die auch jetzt noch gelegentlich Riesenzellen bilden.

An wenigen Stellen finden sich Ansätze zur Spermienbildung und ganz vereinzelt auch einige Spermienköpfe. Die Hemmung der Spermienbildung, die schon in Abb. 15 (Versuch 23) gezeigt werden konnte, ist hier noch viel ausgesprochener. Die Kanälchen des Versuchstieres scheinen enger zu sein. Genaue Maße kann ich nicht angeben, weil das Präparat bei der Nachbehandlung geschrumpft ist. Das Zwischengewebe tritt nicht mehr so deutlich hervor.

Zusammenfassung: Hohe Prolangaben führen am reifenden Hoden neben starker Zwischengewebswucherung eine Schädigung des Keimgewebes, und zwar Mißbildungen der Spermiden (Riesenzellbildung), Untergang von Spermiden und Spermiozyten, ferner regressive Metamorphose im Grundbelag herbei. Die Störung scheint weitgehend ausgleichbar zu sein, verursacht aber ein verspätetes Einsetzen der Spermienbildung. Hodengewicht und Hodenmaße sind wegen der Wucherung der Zwischensubstanz vergrößert.

Die Nebenorgane sind in allen Fällen — proportional der Prolanmenge und der Behandlungsdauer — gewachsen.

3. Versuche an erwachsenen Tieren.

In dieser Gruppe sind der Einfachheit halber alle Tiere mit ausgereifter Keimdrüse zusammengefaßt, also sowohl die $2\frac{1}{2}$ —6 Monate alten Ratten, deren Körperentwicklung noch nicht abgeschlossen ist, als auch die 6—15 Monate alten ausgewachsenen Tiere.

a) *Kleine und mittlere Gaben.* Tabelle 19 gibt eine Übersicht über die wechselnde Dosierung (10—100 R.E.) Behandlungsdauer (1—12 Tage) und den Zeitpunkt der Untersuchung (4—30 Tage nach Schluß der Prolanbehandlung).

Tabelle 19. *Prolanbehandlung bei erwachsenen Männchen.*
(Kleine und mittlere Gaben.)

Niederschrift- Ver- suchs- Nr.	Tier Nr.	Alter Monate	Gewicht g	Prolanbehandlung			Autopsie nach Schluß der Behandlung Tage
				Dauer Tage	Tages- menge R.E.	Gesamt- menge R.E.	
11	48 A	4	150	3	3,3	10,0	15
4	2 A	9	210	3	7,5	22,5	9
34	215 E	3	180	10	3,0	30,0	5
5	4 A	9	195	6	7,5	45,0	6
46	227 M	10	225	5	10,0	50,0	10
46	226 B	10	210	5	10,0	50,0	15
46	228 F	10	225	5	10,0	50,0	20
13	22 A	6	200	12	7,5	90,0	30
12	39 A	$4\frac{1}{2}$	180	1	100,0	100,0	4

Zur histologischen Untersuchung wurde jeweils ein unbehandeltes Geschwistertier zugezogen. Es ergeben sich indes bei den Versuchstieren keinerlei Abweichungen vom normalen Bild. Das Kanälchenepithel ist vielschichtig und zeigt den normalen Aufbau. Es ist nirgends eine Hemmung oder ein Aufhören der Spermienbildung oder eine sonstige Schädigung zu sehen. Eine Zwischengewebsreaktion ist nicht deutlich.

Tabelle 20. *Prolanbehandlung bei erwachsenen Männchen.*
(Hohe Gaben.)

Niederschrift- Ver- suchs- Nr.	Tier Nr.	Alter Monate	Gewicht g	Prolanbehandlung			Autopsie nach Schluß der Behandlung Tage
				Dauer Tage	Tages- menge R.E.	Gesamt- menge R.E.	
35	271 F	6	—	5	50	250	5
47	227 N	10	240	5	75	375	30
47	228 G	10	200	5	75	375	10
47	228 H	10	225	5	75	375	20
67	271 B	9	—	5	100	500	7
67	251 D	$5\frac{1}{2}$	—	5	100	500	35
62	L 954 B	$2\frac{1}{2}$	61	4	250—500	1500	4
62	L 954 C	$2\frac{1}{2}$	62	4	250—500	1500	4
74	526 e B	$6\frac{1}{2}$	185	20	100	2000	1
74	526 e C	$6\frac{1}{2}$	175	20	100	2000	40

b) *Hohe Gaben.* Auch bei sehr hohen Dosierungen (bis zu 2000 R.E., vgl. Tab. 20) tritt keinerlei morphologische Schädigung oder Störung auf. Stets sind Spermien, sogar in auffallend hoher Zahl, vorhanden. Daß diese Hoden nach hohen Prolangaben auch physiologisch unverstört sind, sei hier nur angedeutet. Ich komme später darauf zurück.

Gewichte und Maße der Hoden sind nur bei Versuch 62, den 10 Wochen alten Tieren, etwas kleiner (Tab. 21).

Tabelle 21. *Versuch 62, Hodenmaße.*

	Körpergewicht g	Hodenmaße	
		rechts	links
A. Vergleichstier	73	12,5 × 7,0	12,8 × 7,0
B. Versuchstier	61	11,0 × 5,8	11,0 × 6,0
C. Versuchstier	62	11,0 × 6,0	11,0 × 6,0

In sämtlichen übrigen Versuchen sind die Zahlen nicht verändert. Zur Veranschaulichung der Maße und Gewichte an den Geschlechtsorganen des vollerwachsenen Tieres genügt eine kleine Übersicht:

Tabelle 22. *Versuch 74, Gewichte und Maße der Geschlechtsorgane.*

	Körper- ge- wicht g	Hodengewicht			Hodenmaße				Gewicht der Neben- organe g
		rechts g	links g	zusam- men g	rechts Länge mm	Dicke mm	links Länge mm	Dicke mm	
526e A (Vergleichstier)	182	1,190	1,180	2,370	18	11,5	18,0	11,3	5,170
526e B (Versuchstier)	185	1,175	1,180	2,355	18	11,0	18,2	11,0	5,380

Zusammenfassung: Am Hoden der erwachsenen Ratte sind nach Prolanbehandlung trotz wechselnder Gaben und Versuchsdauer keine Veränderungen zu erkennen.

4. Versuche an greisen Tieren.

In dieser Altersgruppe mit Vergleichstieren zu arbeiten, ist unmöglich, weil der Zustand der Tiere und der Grad der Altersatrophie individuell allzustark schwanken. Zum Vergleich wurde daher jedem Versuchstier vor Beginn der Prolanbehandlung ein Hoden herausgenommen und bei dieser Gelegenheit auch die Nebenorgane gemessen.

Es wurden in dieser Versuchsreihe nur Tiere verwendet, die über 23 Monate alt waren, sich im Kreuzungsversuch seit mehreren Monaten als nicht mehr fortpflanzungsfähig gezeigt hatten und die vorher beschriebenen Altersveränderungen (s. S. 224) aufwiesen. Einen Überblick über die Versuchsanordnung gibt die Tabelle 23. Die makroskopischen Maße von 3 Tieren sind auf Tabelle 24 eingetragen. Man erkennt eine geringe Vergrößerung des Hodens, der aber seine schlaffe Konsistenz auch nach der Prolanbehandlung beibehalten hat.

Die Nebenorgane dagegen sind in allen Maßen *stark* vergrößert und reichlich sekretgefüllt. Sie haben wieder die normale Größe des erwachsenen geschlechtsreifen Tieres erreicht.

Tabelle 23. *Prolanbehandlung bei greisen Männchen.*

Nieder-schrift-Versuchs-Nr.	Tier Nr.	Alter Monate	Prolanbehandlung			Autopsie nach Schluß der Behandlung Tage
			Dauer Tage	Tagesmenge R.E.	Gesamtmenge R.E.	
48.	5 A	27	5	10	50	15
49.	14 A	24	3	50	150	1
78.	L 58 D	27	6	50	300	5
78.	L 254 c E	23	6	50	300	10
66.	L 54 K	27	6	50-100	500	7
78.	L 254 c F	23	12	50	600	1
64.	L 254 d F	23	6	250	1500	10

Tabelle 24. *Versuch 78, Maße der Geschlechtsorgane.*

	Hoden				Samenblase				Prostata p. ant.			
	rechts Länge mm	rechts Breite mm	links Länge mm	links Breite mm	rechts Länge mm	rechts Breite mm	links Länge mm	links Breite mm	Dicke mm	Dicke mm		
L 58 D vor der Behand- lung	16,0	9,8	16,5	10,0	9,0	4,0	2,0	9,5	4,0	1,8	8,0	4,5
nach der Behand- lung	-	-	17,8	10,5	22,5	10,0	7,5	23,0	10,0	7,6	14,5	9,0
L 254 c E vor der Behand- lung	20,0	11,2	20,0	11,0	11,0	5,0	2,0	11,0	5,2	2,0	9,0	5,2
nach der Behand- lung	-	-	20,5	12,0	23,4	9,5	5,5	23,2	9,8	5,2	13,0	9,5
L 254 c F vor der Behand- lung	20,5	11,0	18,5	9,8	10,5	4,5	2,5	10,0	5,0	2,5	11,0	5,0
nach der Behand- lung	-	-	19,5	11,0	25,0	11,0	6,0	25,0	11,5	6,5	18,0	10,0

Am Keimgewebe selbst finden sich bei allen Vergleichsuntersuchungen eine Reihe von Kanälchen mit unveränderter Samenbildung. Die Spermienbildung ist nicht sehr reichlich und hat gelegentlich aufgehört. Eine ausgesprochene Atrophie fehlt. Die prolanbehandelten Hoden geben *kein* verändertes Bild, weder nach der degenerativen noch nach der regenerativen Seite hin. Das Zwischengewebe ist nicht deutlich verändert.

Zusammenfassung: Der greise Hoden wird in seinem anatomischen Bild durch Prolan nicht verändert. Die Spermienbildung ist in keinem Fall deutlich gesteigert.

Die sensil-atrophische Nebenorgane erhalten einen starken Wachstumsantrieb, sie erreichen wieder eine Größe, die dem erwachsenen Tier entspricht.

5. Versuche an kastrierten Tieren.

Die Frage, ob das H.V.L.-Hormon auch am kastrierten männlichen Organismus auf die geschlechtlichen Hilfsapparate wirkt oder der vermittelnden Leistung der Keimdrüse bedarf, wurde einer kurzen Nachprüfung unterzogen.

Der Versuch umfaßt 3 Tiere, deren Nebenorgane rund 4, 6 und 8 Monate nach der doppelseitigen Kastration gemessen wurden. Darauf wurden die Tiere 6 bzw. 12 Tage lang mit Prolan behandelt. Die 2. Messung der Nebenorgane wurde bei der daran anschließenden Autopsie vorgenommen.

Das Ergebnis des Versuches bestätigt die herrschende Anschauung (Tab. 25).

Tabelle 25. Samenblase bei Prolanbehandlung kastrierter Männchen.

	Doppelseitige Kastr. im Alter von T.g.	Zwischenzeit zwischen T.g. der Kastration u. T.g. der Prolanbehandlung	Altersbeginn der Prolanbehandlung T.g.	Prolan- behandlung			Samenblase							
				Dauer T.g.	Tagesmenge R.E.		Gesamtmenge R.E.		rechts			links		
					Länge mm	Breite mm	Dicke mm	Länge mm	Breite mm	Dicke mm	Länge mm	Breite mm	Dicke mm	
39 A				6	50	300	10,5	3,0	0,8	10,0	3,5	0,8		
vor der Behandlung	153	242	395				10,0	4,0	0,7	10,0	3,5	0,7		
nach der Behandlung														
218 A				6	50	300	10,0	3,5	1,0	10,2	3,6	1,0		
vor der Behandlung	105	122	227				10,0	3,6	1,0	10,0	3,5	1,0		
nach der Behandlung														
226 A				12	50	600	10,0	4,0	0,9	10,0	3,8	0,9		
vor der Behandlung	185	185	370				11,0	4,0	0,8	10,0	4,0	0,9		
nach der Behandlung														

Der Vergleich der entsprechenden Maße zeigt keine Veränderung. Die geringen Unterschiede zwischen 1. und 2. Messung, die zweimal immerhin 1 mm erreichen, sind sicher Meßfehler, verursacht durch die Schwierigkeit, die kleinen, atrophischen Samenbläschen am lebenden, narkotisierten Tier wirklich genau zu messen.

4—8 Monate nach der Kastration sind die Nebenorgane völlig atrophisch; es ist ausgeschlossen, daß die Samenbläschen sich nach dieser Zwischenzeit ohne Prolanbehandlung in 1—2 Wochen weiter verkleinert hätten.

Prolan wirkt also primär nur am Hoden selbst. Zweifellos aktiviert

das H.V.L.-Hormon erst in der Keimdrüse das geschlechtsspezifische Hormon, das seinerseits das Wachstum der Nebenorgane auslöst und unterhält. Am kastrierten Organismus fehlt ein Glied in dieser Schaltung; das H.V.L.-Hormon bleibt also ohne Wirkung auf die Nebenorgane.

Versuche an kastrierten unreifen Tieren wurden nicht unternommen, weil, wie eingangs erwähnt, die Nebenorgane auch am kastrierten kindlichen Tier um einen gewissen Betrag wachsen (*Steinach*), freilich ohne ihre volle Größe zu erreichen.

Zusammenfassung: In Übereinstimmung zu den früheren Untersuchungen ergibt sich, daß das H.V.L.-Hormon nur auf den Hoden selbst wirkt. Die Wirkung auf die Nebenorgane ist sekundär und setzt die Anwesenheit des Hodens voraus.

6. Versuche an vasolierten und kryptorchischen Tieren.

Die Versuche wurden unternommen, um das Keimgewebe nach Möglichkeit auszuschalten und die Wirkung zu erforschen, die Prolan auf den übrig bleibenden Gewebsrest, also auf Sertolizellen und Zwischen-gewebe, ausübt.

Tabelle 26. *Prolanbehandlung bei vasolierten und kryptorchischen Tieren, Versuchsanordnung.*

Nieder-schrift-Ver-suchs-	Tier	Alter des Tieres	I. Operation (Operationsart)	II. Opera-tion (Ex-stirp. d. rechten Hodens nach Tage)	Prolanbehandlung			Autopsie nach der I. Opera-tion in
					Dauer	Tages-menge	Ge-samt-men-ge	
Nr.	Nr.	Monate			Tag	R.E.	R.E.	Tag
57	271 G	7	doppelseitige Vasektomie	22	2	75	150	31
55	213 E	8	desgl.	40	5	75	375	60
57	272 E	7	desgl.	87	12	50	600	100
68	220 A	8	doppelseitige Vasektomie	67	12	50	600	80
68	272 F	7	+ Kryptochismus	67	12	50	600	80
68	213 D	8	desgl.	82	6	50	300	110

Die Versuchsanordnung ist tabellarisch zusammengefaßt (Tab. 26). Bei 3 Tieren wurde die doppelseitige Vasektomie ausgeführt und nach verschieden bemessener Zwischenzeit eine Behandlung mit Prolan eingeleitet. Vor Beginn der Prolanbehandlung wurden Hoden und Nebenorgane gemessen; ein Hoden wurde zur histologischen Untersuchung entfernt. Nach Abschluß der Prolanbehandlung wurden die Organe zum zweiten Male gemessen und der 2. Hoden histologisch bearbeitet. 3 weitere Tiere wurden bei der Ausführung der Strangaußschneidung außerdem künstlich kryptorchisch gemacht (die Öffnung zwischen Bauchhöhle und Scrotalsack wurde durch eine Naht verschlossen und

der Hoden dadurch in der Bauchhöhle festgehalten). Die weitere Behandlung war die gleiche.

Die Maße vor und nach der Prolanbehandlung bei 3 Tieren zeigt Tabelle 27.

Tabelle 27. Versuch 57 und 68, Maße der Geschlechtsorgane.

	Hoden				Samenblasen				Vorstcher drüse			
	rechts		links		rechts		links					
	Länge mm	Breite mm	Länge mm	Breite mm	Länge mm	Breite mm	Dicke mm	Länge mm	Breite mm	Dicke mm	Länge mm	Breite mm
272 E vor der Behand- lung	16,0	10,5	16,5	10,5	20,0	8,5	5,5	19,5	8,5	5,0	9,0	7,0
	—	—	15,5	10,5	22,5	12,5	6,0	22,5	12,0	6,0	14,0	8,0
220 A vor der Behand- lung	16,0	9,0	17,0	9,0	22,0	10,0	4,5	21,5	10,0	4,5	11,0	8,0
	—	—	18,0	10,5	28,0	12,5	6,5	27,0	12,0	6,5	12,0	9,0
213 D vor der Behand- lung	16,5	10,0	16,0	10,5	20,0	10,5	4,5	20,5	10,0	4,5	10,0	7,0
	—	—	16,0	10,0	23,0	11,5	6,0	23,0	11,5	6,5	12,0	8,5

Aus der Tabelle geht hervor, daß der vasolierte, bzw. die beiden kryptorchischen Hoden durch die Prolanbehandlung in den Maßen unverändert geblieben sind. Die Nebenorgane sind vergrößert.

Die histologische Untersuchung der Hoden ergab in allen Fällen, daß noch Reste des Keimgewebes, zum Teil in geringem, zum Teil in stärkerem Maße, zurückgeblieben waren. Eine exakte Trennung der Gewebsanteile des Hodens, vor allem eine Ausschaltung des Keimgewebes, war demnach bei den Tieren dieser Versuchsgruppe nicht gelungen. Aus diesem Grunde wage ich noch nicht einen verbindlichen Schluß, über welchen Gewebeteil des Hodens das H.V.L.-Hormon auf den sekundären Geschlechtsapparat wirkt.

Zusammenfassung: Welcher Gewebsanteil des Hodens der Zwischenträger und damit auch der Sitz der geschlechtsspezifischen Inkretion des Hodens ist, läßt sich mit der gewählten Versuchsanordnung nicht exakt zeigen.

C. Biologische Ergebnisse nach Prolanbehandlung.

Versuche mit biologischer Fragestellung standen zunächst zurück, weil die Versuchstiere zur histologischen Bearbeitung getötet werden mußten. Immerhin kann das Ergebnis einiger Parallelversuche, vor allem als Ergänzung der histologischen Befunde, mitgeteilt werden.

1. Versuche an reifenden Tieren.

a) Kreuzungsversuche mit jungen Prolanmännchen.

Es wurde jeweils ein behandeltes jugendliches Männchen mit mehreren normalen Weibchen gekreuzt¹. Dabei wurden nur solche Weibchen verwendet, die vorher schon ein- oder mehrmals geworfen hatten.

Tabelle 28. Ergebnisse der Kreuzungsversuche von jungen Prolanmännchen.

Niederschrift- Nr.	Prolan- männ- chen Nr.	Prolanbehandlung			Ge- kreuzt bei Alter des Männ- chens	Ge- trennt bei Alter des Männ- chens	Ge- kreuzt mit den Weib- chen	Geburt + oder -	Zahl der Jungen	Alter d. Prolan- infanten bei der Konzeption des betr. Weibchens Tage
		Dauer Tagen	Tages- menge R.E.	Ge- sam- menge R.E.						
30	228 K	12	1,5	18	30	56 56 105	273 b 273 d 273 e	— — +	4 ♂, 5 ♀	86
29	224 D	10	3	30	35	70 70	218 b ² 255 a	— —		
29	224 E	10	3	30	35	70 110 110	43 a 255 b 255 c	— — —	2 ♂, 4 ♀	104
29	224 F	10	3	30	35	70 70 70	26 a 53 a 255 d	— — —		
29	224 G	15	3	45	35	70 70	273 a 273 c	— —		
29	224 H	15	3	45	35	84 84	272 a 272 b	— —		
25	215 A	13	4	52	45	58 58	13 a 17 a	— —		
22	228 B	6	10	60	35	56 56 105	43 a 44 a 45 a	— — +	4 ♂, 3 ♀	90
22	228 C	6	20	120	35	56 56 56	35 a 41 a 54 a	— — —		
29	224 J	5	100	500	35	150 150 150	25 a 218 a ² 250 a	— — —	5 ♂, 3 ♀	145
23	250 C	25	30	750	36	150 150 150	217 a 217 b 217 c	— — —	5 ♂, 4 ♀	134
73	513 a F	10	100	1000	32	96 96 96	519 ad 519 ae 519 af	— — —		

¹ Die Kreuzungsversuche mit normalen, jugendlichen Tieren sind nicht besonders angeführt. Sie ergaben den Eintritt der Fortpflanzungsfähigkeit, wie aus dem Schrifttum bekannt, mit durchschnittlich 10–14 Wochen.

² Die beiden mit 2 bezeichneten Weibchen waren junge Tiere, die ebenfalls Prolan (10 Tage je 4 R. E.) erhalten hatten.

Eine Übersicht über die stark gewechselte Behandlungsart gibt Tab. 28.

Aus Tabelle 28 geht hervor, daß keines der behandelten Männchen vorzeitig fortpflanzungsfähig geworden ist. Das Konzeptionsdatum ist aus dem Geburtsdatum unter Abzug von 22 Tagen berechnet; ferner ist angegeben, wie alt das Prolanmännchen an diesem Tage war.

Die Tiere, die nur bis zur 8.—12. Lebenswoche gekreuzt waren, haben sich gar nicht, die länger beobachteten Prolanmännchen bei kleiner Gabe zur annähernd normalen Zeit (etwa mit 12—14 Wochen), und bei hoher Dosierung deutlich verspätet (mit etwa 20 Wochen) fortgepflanzt.

Das Versuchsergebnis könnte dadurch beeinträchtigt sein, daß die heranwachsenden Prolanmännchen den erwachsenen Weibchen körperlich stark unterlegen waren.

Im Verein mit den histologischen Untersuchungsbefunden aber darf man die Möglichkeit ausschließen, daß Prolan bei jungen Rattenböcken eine *Fruhreife bis zur Fortpflanzungsfähigkeit erzeugt*.

b) Kreuzungsversuche mit jungen Prolanweibchen.

Hier wurden — umgekehrt — junge Weibchen nach Prolanbehandlung mit normalen Männchen, die sich schon in früheren Kreuzungen als fruchtbar erwiesen hatten, gekreuzt. Die Durchführung der Versuche ist aus Tabelle 29 zu ersehen.

Tabelle 29. Ergebnisse der Kreuzungsversuche von jungen Prolanweibchen.

Niederschrift-Versuchs-Nr.	Prolan-weib-chenc-Nr.	Prolanbehandlung			Ge-kreuzt bei Alter des Weib-chens	Ge-trennt bei Alter des Weib-chens	Ge-kreuzt mit dem Männchen	Geburt + oder -	Zahl der Jungen	Alter des Prolanweib-chens bei der Konzeption
		Dauer	Tages-menge	Ge-samt-menge						
Nr.	Nr.	Tag	R.E.	R.E.	Tag	Tag	Nr.	+	Zahl der Jungen	Tag
29	224e	10	3	30	35	91	213 E	+	6 ♂, 2 ♀	73
29	224f	10	3	30	35	91	271 G	-	5 ♂, 5 ♀	85
26	215a	10	4	40	40	49	16 A	-		
26	215b	10	4	40	40	49	16 A	-		
26	215c	10	4	40	40	49	16 A	+	1 ♂, 4 ♀	46
27	218a	10	4	40	59	136	224 J ¹	-		
27	218b	10	4	40	59	94	224 D ¹	-		
27	218c	10	4	40	59	70	32 A	+	3 ♂, 7 ♀	67
28	219a	10	10	100	66	84	32 A	+	4 ♂, 7 ♀	90
28	219b	10	10	100	66	84	32 A	-		
28	219c	10	30	300	66	84	32 A	+	5 ♂, 7 ♀	85
73	513ac	10	100	1000	32	96	519a B	-		
73	513ad	10	100	1000	32	96	519aB	-		

Aus Tabelle 29 geht hervor, daß die prolanbehandelten jugendlichen Weibchen etwas früher als die jungen Männchen nach Prolanbehandlung,

¹ Die beiden mit ¹ bezeichneten Männchen waren junge Tiere, die ebenfalls Prolan erhalten hatten (vgl. Tab. 28).

nämlich mit 10—13 Wochen, konzipiert haben, also durchweg ebenfalls in der physiologischen Zeit. In einem einzigen Fall, bei Weibchen 215e

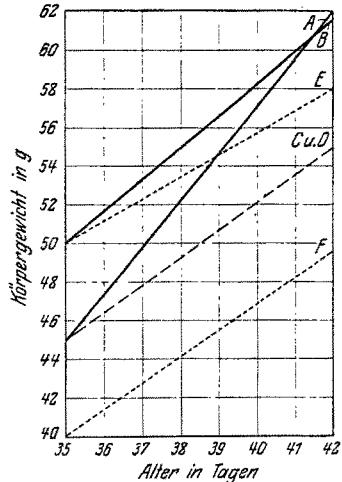


Abb. 26. Versuch 60.
— Vergleichstiere. - - - Prolantiere
(kleine Dosen). Prolantiere (hohe Dosen)

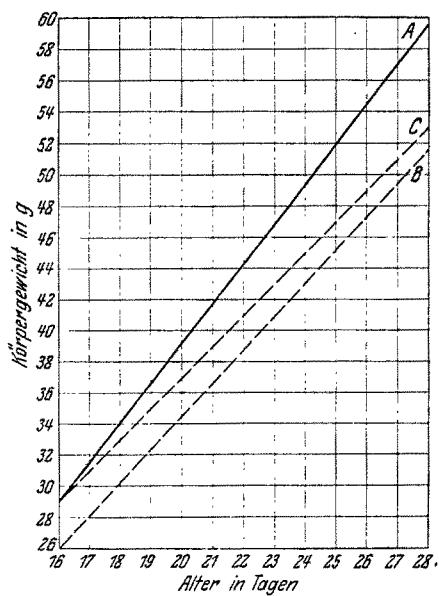


Abb. 27. Versuch 71.
— Vergleichstier. - - - Prolantiere.

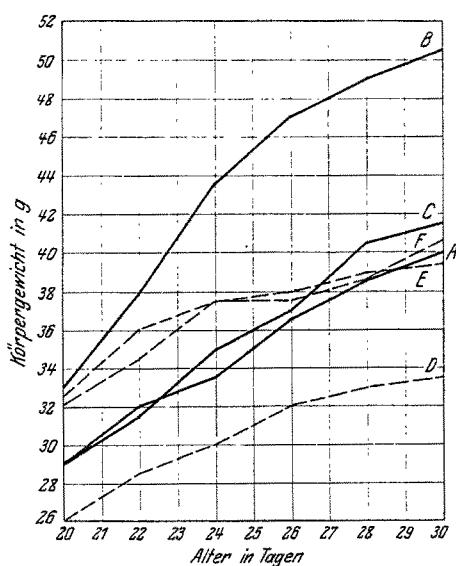


Abb. 28. Versuch 73. — Vergleichstier. - - - Prolantiere.
Abb. 26—28. Körpergewichtskurven.

(Versuch 26) ergab sich eine äußerst frühzeitige Konzeption mit 46 Tagen. Das Tier warf im Alter von 68 Tagen 5 Junge, von denen 1 ♂ und 3 ♀ am Leben blieben. Diese Beobachtung blieb leider vereinzelt. Ein Schluß läßt sich aus ihr nicht ziehen.

c) Prolanwirkung auf das Körpergewicht junger Rattenmännchen.

Das Körpergewicht der prolanbehandelten jungen Ratten blieb durchweg hinter dem Gewicht der Vergleichstiere zurück. Die 3 Kurven der Abb. 26—28 veranschaulichen den Vorgang.

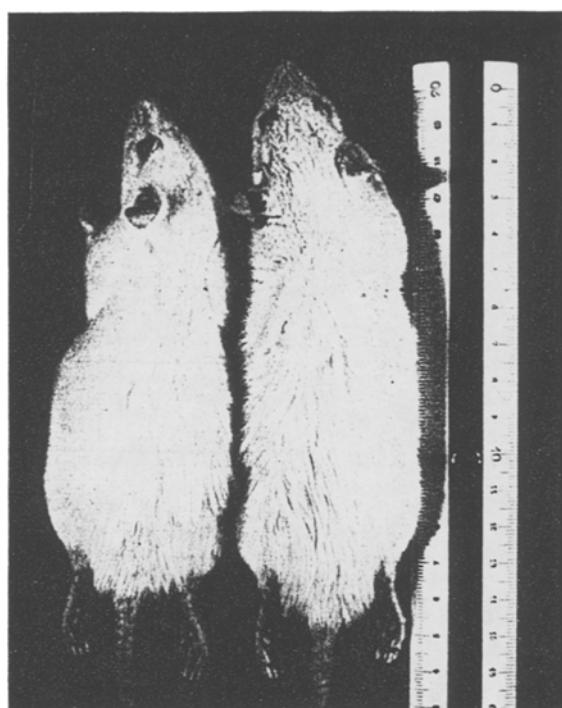


Abb. 29. Versuch 73. Links: Versuchstier E, 9 Wochen alt, rechts: Vergleichstier C, 9 Wochen alt.

Man erkennt, wie die Gewichtskurven der Prolantiere langsamer steigen, bzw. überholt werden von den Kurven der unbehandelten Geschwistertiere. Tabelle 30 faßt diese Zahlen und die daraus errechneten absoluten und relativen Gewichtszunahmen noch einmal zusammen.

Die Unterschiede gleichen sich auch später nicht so rasch aus. Abb. 29 zeigt Vergleichstier C und Versuchstier F aus Versuch 73, 4 Wochen

nach Abschluß der Prolanbehandlung. Der Gewichtsunterschied beträgt 20 g. Auch hierzu eine kleine Tabelle (Tab. 31).

Tabelle 30. *Zunahme des Körpergewichts bei jungen Vergleichs- und Prolanmännchen.*

Niederschrift-Vers.-Nr.	Tier-Nr.	Beobachtete Lebenszeit Lebenstage	Prolanmenge R.E.	Körpergewicht		Gewichtszunahme absolut g	relativ %
				Anfang g	Schluß g		
60	A	35—42	—	45	62,0	17,0	38
	B		—	50	61,5	11,5	23
	C		75	45	55,0	10,0	22
	D		75	45	55,0	10,0	22
	E		250	50	58,0	8,0	16
	F		250	40	49,5	9,5	24
71	A	16—28	—	29	59,5	30,5	105
	B		1000	26	51,5	25,5	98
	C		10000	29	53,0	24,0	83
73	A	20—30	—	29	40,0	11,0	38
	B		—	33	50,5	17,5	53
	C		—	29	41,5	12,5	43
	D		1000	26	33,5	7,5	29
	E		1000	32	39,5	7,5	23
	F		1000	32,5	40,5	8,0	25

Tabelle 31. *Versuch 73, Zunahme der Körpergewichts.*

Niederschrift-Versuchs-Nr.	Tier-Nr.	Prolanmenge R.E.	Anfangsgewicht im Alter v. 20 Tg.		Endgewicht im Alter von 63 Tagen	Gewichtszunahme absolut g	relativ %
			g	g			
73	B	—	33	102	69	209	
	C	—	29	95	66	228	
	E	1000	32	73	41	128	
	F	1000	32,5	75	42,5	133	

Die Zahlen für die Versuchstiere bleiben sehr deutlich hinter denen der Vergleichstiere zurück.

2. Kreuzungsversuche an erwachsenen Tieren.

Auch erwachsene Männchen, die verschieden lange unter Prolanwirkung gestanden hatten, wurden (nach Abschluß der Prolanbehandlung) mit erwachsenen, normalen Weibchen, die schon geworfen hatten, gekreuzt. Tabelle 32 faßt die Versuche zusammen.

Die Versuche ergeben — wiederum den histologischen Befunden entsprechend —, daß selbst bei höchsten Gaben keine Störung der Fortpflanzungsfähigkeit eintritt, die Fruchtbarkeit ist sogar auffallend hoch. Selbst 3 Wochen nach Schluß der Prolanbehandlung ist sie noch nicht erloschen.

Tabelle 32. Kreuzungsversuche mit erwachsenen prolanbehandelten Männchen.

Niederschrifft-Versuchs-Nr.	Tier-Nr.	Alter in Monaten	Prolanbehandlung			Gekreuzt mit dem Weibchen-Nr.	Dauer der Kreuzung-Tage	Geburt + oder -	Zahl der Jungen	Die Befruchtung erfolgte nach Abschluß der Prolanbehandlung-Tage
			Dauer Tage	Tagesmenge R.E.	Ge-sam-tmenge R.E.					
11	48 A	4	3	3,3	10	50a 51a 215e 215f 215g 215h 524ca 226a 226g 217a 217b 271d 224a 224b 271b 524bc 24a 215d 217d 225b 228a 255e 255f 255g	15 15 30 30 30 30 30 20 20 20 20 20 20 30 30 30 20 20 20 20 20 20	+	5 ♂, 3 ♀ 4 ♂, 6 ♀+○	3
67	251 D	10	5	100	500	5 ♂, 4 ♀	7			
65	215 G	5	4	200	800	3 ♂, 3 ♀	18			
65	215 F	5	4	500	2000	4 ♂, 2 ♀	5			
59	273 C	6	3	500	1500	5 ♂, 4 ♀	8			
74	526 e A	7	20	100	2000	3 ♂, 2 ♀+○	13			
						2 ♂, 2 ♀	11			
						4 ♂, 2 ♀+○	8			
						5 ♂, 3 ♀	2			
						4 ♂, 4 ♀	12			
						3 ♂, 6 ♀+○	20			
						5 ♂, 4 ♀+○	8			
						6 ♂, 5 ♀	7			
						4 ♂, 7 ♀	9			

Diese Kreuzungsversuche zusammen mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung erweisen eine hochgradige Unempfindlichkeit des erwachsenen männlichen Organismus gegen die Zuführung von H.V.L.-Hormon.

3. Kreuzungsversuche an greisen Tieren.

Auch einige über 21 Monate alte Rattenböcke, die bei der Kreuzung seit mehreren Monaten unfruchtbar geblieben waren und Altersveränderungen zeigten, wurden nach Prolanbehandlung mit einer Reihe reifer Weibchen zusammengebracht. Die Versuche sind in Tabelle 33 dargestellt. Sie hatten ein völlig negatives Ergebnis. Keines der 3 greisen Männchen hat sich nach der Prolanbehandlung wieder fort gepflanzt.

Die körperlichen Alterserscheinungen gingen dagegen häufig zurück, die Tiere wurden lebhafter, das Haarkleid glatter. Zweimal fiel mir besonders auf, daß große Druckbrand-Wundflächen während der Prolanbehandlung zurückgingen und epithelisiert wurden.

Tabelle 33. Kreuzungsversuche mit greisen prolanbehandelten Männchen.

Niederschrift-Ver-suchs-Nr.	Tier Nr.	Alter Monate	Prolanbehandlung			Gekreuzt mit den Weibchen Nr.	Dauer der Kreuzung Tage	Geburt + oder —
			Dauer Tage	Tages- menge R.E.	Gesamt- menge R.E.			
48	5 A	27	5	10	50	3a	15	—
						229d	15	—
						229e	15	—
						232d	15	—
						229a	7	—
66	L 54 K	27	6	50—100	500	229b	7	—
						229c	7	—
						232e	7	—
						213c	10	—
64	L 254 d F	23	6	250	1500	228b	10	—
						250a	10	—

Zusammenfassung der biologischen Befunde:

Prolanbehandelte junge Rattenmännchen und -weibchen werden bei kleinen und mittleren Gaben *nicht* vorzeitig, sondern erst zum normalen Zeitpunkt fortpflanzungsfähig; höhere Gaben verzögern die Reife.

In einem einzigen Fall konzipierte ein prolanbehandeltes Weibchen mit 46 Tagen, also deutlich vor der durchschnittlichen Reife.

Die Fortpflanzungsfähigkeit des erwachsenen Männchens wird selbst durch hohe Hormongaben nicht beeinträchtigt.

Greise Tiere bleiben trotz Prolanbehandlung unfruchtbar.

Das Körperwachstum jugendlicher Prolantiere wird gehemmt.

Die körperlichen Verfallserscheinungen bei greisen Tieren werden anscheinend durch Prolan behoben.

IV. Besprechung der Versuchsergebnisse.**A. Die Entwicklungserregung am Hoden.**

Der Reifungsantrieb, den das Keimgewebe durch Prolan erhält, zeigt sich als verfrühte Umwandlung der unreifen Zelltypen in Spermionien, und später in einer Vermehrung von Spermionien, Spermiozyten und Spermiden. Die Zellbildung nimmt dabei eine weniger wohlgeordnete Form an.

Von den übrigen Untersuchern fanden auch *Borst* und *Gostimirović* (1930) als Prolanwirkung bei Mäusen vermehrte Mitosenzahl der Spermionien und Spermiozyten. Mit *Borst* stimme ich ferner darin überein, daß ich niemals vorzeitige Spermienbildung beobachten konnte.

Daß die Prolanwirkung alle Zeichen der geschlechtlichen Reife auslöst, aber an der Spermiohistogenese Halt macht, ist recht merkwürdig und läßt uns ahnen, daß die Vorgänge der Hodenreifung noch einen guten

Teil verwickelter sind, als wir es heute überschauen und analysieren können.

Der Hoden als Ganzes und die Kanälchen wachsen bei mäßiger Gabe nicht oder nur wenig; demnach wird auch die Gesamtmasse des Keimgewebes kaum vermehrt. Die Erregungsvorgänge beschränken sich auf die von der Prolanwirkung betroffenen Zellen selbst. Wir dürfen daher annehmen, daß Prolan wohl als Hodenreifungshormon wirkt: eine *harmonische Frühreife* der männlichen Keimdrüse und *verfrühte Fortpflanzungsfähigkeit* können wir jedoch mit diesem Stoff nicht hervorrufen.

Die Ursache dafür ist aber wohl kaum eine Geschlechtsspezifität der Hypophysenwirkung. Denn auf das weibliche Genitale ist die Wirkung männlicher Hypophyse nachgewiesen; es ist also nicht anzunehmen, daß es im umgekehrten Fall anders ist.

Wie weit die getrennte Untersuchung der beiden Prolanstoffe (Prolan A und B nach *Aschheim* und *Zondek*) neue Klärung gibt, ist noch ungewiß. Ich habe entsprechende Versuche im Gang.

Bei dem ganzen Problem ist aber zu bedenken, daß wahrscheinlich ein komplexeres Zusammenspiel der endokrinen Drüsen zur Einleitung der Geschlechtsreife gehört, als es die Hypophysenhyperfunktion allein im Tierversuch ersetzen könnte. Man wird vor allem die Rolle von Epiphyse, Schilddrüse, und Thymus im Auge behalten müssen. Vielleicht ist es sogar überhaupt unmöglich, die außerordentlich verwickelten Reifungsvorgänge im Hoden zu überstürzen und vorzeitig das physiologische Ziel zu erreichen, d. h. der Versuch bliebe also entweder erfolglos oder er wirkte gänzlich zerstörend. Die Reifung des Hodens wäre dann der verhältnismäßig einfacheren Reifung des Eierstocks eben einfach nicht unmittelbar gleichzusetzen. Dementsprechend wird auch das Keimgewebe des gealterten Hodens durch das Hypophyseninkret nicht wieder „verjüngt“, wie es im greisen Eierstock möglich ist.

Der erwachsene Hoden ist in erstaunlichem Maße unabhängig von der Hypophyse. Dieselbe Beobachtung haben schon *Smith* und *Engle* (1927) bei ihren Einpflanzungsversuchen gemacht. Ich habe schon früher (1930) hervorgehoben, daß ein *Vielfaches* der am Eierstock wirksamen Prolanmenge nötig ist, um überhaupt eine Wirkung zu erhalten.

Die sekundären Geschlechtsmerkmale des unreifen Tieres werden durch Prolan, wie schon aus einer Reihe von Untersuchungen bekannt ist, zur Reife gebracht. Auch die Nebenorgane des greisen Tieres werden wieder regeneriert, wie es schon *Steinach* (1928) beobachtet hat.

Ob das weibliche kindliche Tier durch Prolan frühzeitig fortpflanzungsfähig wird, scheint mir auch fraglich zu sein. Wenn ich auch einmal bei einem jugendlichen Prolanweibchen ein Konzeptionsalter von 46 Tagen errechnen und eine trotz dieses frühen Zeitpunktes normal zu Ende

geführte Trächtigkeit beobachten konnte, so will das nicht viel besagen; denn *Greenman* und *Duhring* (nach *Donaldson* [1924]) konnten in ihren normalen Zuchten gelegentlich Konzeption sogar mit 33 und 35 Tagen beobachten.

B. Schädigung am Keimgewebe.

Die eben geschilderten Vorgänge einer *partiellen Hyperbiose* des reifenden Hodens führen bei erhöhten Hormongaben ohne genauen Übergang zu den bekannten Erscheinungen der *Hypobiose* des Hodens. Die niedrigste Gabe, bei der sie deutlich wurde, beträgt 150 R. E.

Die Schädigungsbilder, die nach Prolanbehandlung auftreten, sind *nicht spezifisch*, sondern halten sich im Rahmen der Bilder, die aus der Pathologie des Hodens bekannt sind. Mit verschiedenen mechanischen und thermischen Einwirkungen und mit der Strahlenwirkung hat aber diese *hormonale* Schädigung gemeinsam, daß sie *unmittelbar* und nahezu elektiv die Keimdrüse trifft, während die verschiedenen Schädigungsbilder am Hoden, die nach Verabreichung von Giften beschrieben wurden (Alkohol, Nicotin), die Keimdrüse wohl nur mittelbar treffen, als Folge einer Vergiftung und Schädigung des Gesamtkörpers. Immerhin ist auch in den Prolanversuchen eine Reaktion des Gesamtkörpers aufgefallen: ein Zurückbleiben des Körpergewichtes bei den Versuchstieren. Man darf dabei an verschiedene Ursachen denken:

1. Die Annahme von *Kraus* (1930), die Konservierungsmittel des Prolan (Trikresol und Metakresol) dafür verantwortlich machen zu können, darf durch meine Versuche 71 und 73 als widerlegt erachtet werden. Diese Versuchstiere, deren Körpergewicht ausgesprochen zurückblieb, erhielten ein Prolanpulver, das ich selbst ohne jeden Konservierungs-zusatz keimfrei gelöst und eingespritzt habe.

2. Nach meiner Meinung dürfte eher eine Umstimmung des Stoffwechsels (der spezifisch-dynamischen Wirkung und des Grundumsatzes), vielleicht auch eine ausgesprochene Giftwirkung die Ursache sein.

3. Wie ich früher (1930) schon einmal andeutete, ist auch an die „*antagonistische*“ Theorie der Hypophysenhormone von *Evans* zu denken. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß das Gegenspiel zwischen dem Körperwachstumshormon und dem Geschlechtsreifungshormon der Hypophyse in diesen Prolanversuchen vorzeitig für das Geschlechts-hormon entschieden und der „*Wuchsstoff*“ zu früh an seiner vollen Aus-wirkung gehindert wird.

Schwere Störungen der Körperharmonie aber, wie sie *Stieves* (1923) Alkoholmäuse und die Hunde in *Hofstätters* (1923) Nicotinversuchen davontrugen, fehlen hier gänzlich.

Die Schädigungen des Keimgewebes beginnen — wie gewöhnlich — auch nach Prolanbehandlung bei den differenzieritesten Zellen und führen zum Untergang einzelner Spermiden und Spermiozyten, sowie

zur Abstoßung ganzer Teile des Samenepithels. Daß die Prolanschädigung auch an dem mitotischen Geschehen angreift, kann man aus dem häufigen Vorkommen von Riesenzellen schließen, die als Folge überstürzter Kernteilung eine wechselnde Zahl von Spermidenkernen in einem einheitlichen Plasmaleib beherbergen. Auch die Riesenzellbildung ist nicht spezifisch; sie ist nach verschiedenen Eingriffen am Hoden beschrieben, und findet sich sogar — allerdings ganz vereinzelt — auch beim normalen Tier. An scheinbar ungeschädigten Zellen dürfte auch, wie die atrophischen Kanälchen zeigen, die Teilungsfähigkeit vorübergehend aufgehoben sein.

Schließlich kann eine hochgradige Schädigung, wie gezeigt wurde, auch den Grundbelag der Kanälchen selbst angreifen: Es treten wieder *indifferente Samenzellen* auf. An dieser rückschrittlichen Umwandlung haben, wie man annimmt (*Schinz* und *Slotopolsky* [1926]), sowohl Spermiogonien wie Sertolizellen teil.

Die *Zwischengewebswucherung* finde ich in meinen Präparaten, auch bei schwerer Schädigung des Keimgewebes, nicht regelmäßig. Bei höchsten Dosierungen bedingte die starke Zwischengewebswucherung eine merkliche Zunahme des Hodengewichtes. Auch *Borst* gibt bei seinen Versuchen mit Mäusen erhebliche Schwankungen der Zwischengewebsreaktion an, findet aber immer geringere Durchschnittsgewichte der Hoden bei den prolanbehandelten Tieren. Ich glaube diese Tatsache auf die *verhältnismäßig* niedrigere Dosierung in seinen Versuchen zurückzuführen zu können (bis zu etwa 8000 R.E. bei der Maus, während meine Versuche bis zu 10000 R.E. bei der wesentlich empfindlicheren Ratte reichen).

Im Gegensatz zu *Kraus* (1930) bin ich daher versucht, die Vermehrung des Zwischengewebes, die sich gelegentlich (regelmäßig erst bei sehr hoher Dosierung) zeigt, als sekundär, als Abwehr des geschädigten Organparenchyms, gewissermaßen als eine Art von „Cirrhose“, anzusehen. Als weiteren Beweis dafür möchte ich anführen:

1. Daß in einer Reihe von Versuchen die Nebenorgane vergrößert sind, ohne daß das Zwischengewebe vermehrt ist. Ein Kausalzusammenhang zwischen dem aktivierten spezifischen Hodenhormon und einer Zwischengewebsreaktion besteht also nicht unbedingt;

2. Die Schrumpfungen der Kanälchen erklären sich zwangslös aus der Entartungsvorgängen im Innern, ohne daß man (wie *Kraus*) mechanischen Druck von außen als Ursache annehmen muß. Daß das Zwischengewebe erst sekundär in ein vorhandenes „Vakuum“ hineinwuchert hat mehr Anschaulichkeit für sich.

3. Die Tatsache, daß mit der Wiederherstellung des Keimgewebes das Zwischengewebe wieder zurücktritt.

Die Schädigungen wurden, soweit ich sie einige Zeit später beobachten konnte, wieder *regeneriert*. Eine sichtbare Störung des Keimgewebes

blieb nicht zurück. Es läßt sich hier noch nicht entscheiden, ob am *Erbgefüge* selbst etwas verändert ist. Die Nachkommenschaft einiger Prolantiere wird fortlaufend weiter untersucht.

Ein verspäteter Eintritt der Reife ließ sich bei stärkeren Prolanschädigungen zeigen. Es muß hier deutlich hervorgehoben werden, daß die — auch bei den geschädigten Tieren — stark positive sekundäre *Brunstreaktion* keineswegs übereinstimmt mit dem tatsächlichen Reifezustand des Keimgewebes. Die Brunstreaktion der Nebenorgane ist infolgedessen als Test für den Zustand der Keimdrüse nicht zuverlässig. Ob auch der Brunsttest an den weiblichen Geschlechtsteilen des Nagers einer Einschränkung bedarf, kann ich hier nicht entscheiden. Weitere Untersuchungen werden aber auch da nötig sein.

Ein Vergleich mit den Angaben von *Borst* scheint, soweit das heute möglich ist, darauf hinzudeuten, daß auch das *Rattenmännchen* prolan-empfindlicher ist als das *Mäusemännchen*, ähnlich wie es *Zondek* für das Weibchen beider Tierarten beschrieb.

C. Zusammenhänge zwischen Hypophysenkret und dem spezifischen Hormon des Hodens.

Daß durch das Hypophysenhormon Prolan das spezifisch männliche Geschlechtshormon aktiviert wird, steht außer Zweifel. Welcher Gewebsanteil des Hodens aber als Bildungsstätte dieses Hormons anzusehen ist, läßt sich auch aus den vorliegenden Versuchen nicht eindeutig beantworten. Diese Frage wird überhaupt erst gelöst werden, wenn wir die drei Zellgruppen des Hodens, Keimgewebe, Sertolizellen und Zwischensubstanz, experimentell und exakt trennen können. Bis dahin müssen wir uns mit einem „non liquet“ begnügen.

V. Schlußsätze.

1. Das H.V.L.-Hormon Prolan wirkt bei der männlichen Ratte nur über die Keimdrüse. Am kastrierten Tier bleibt es wirkungslos.
2. Das kindliche Keimgewebe wird durch Prolan in beschleunigtem Zeitmaße zur Umwandlung in die Zelltypen der endgültigen Samenbildung gebracht.
3. Spermiogonien, Spermiozyten und Spermiden werden durch mittlere Prolangaben *sensibilisiert*, die Zellbildung wird reichlicher.
4. Es kommt niemals zur Ausbildung frühereifer Spermien.
5. Dementsprechend werden die Prolanmännchen auch nicht vorzeitig fortpflanzungsfähig.
6. Bei prolanbehandelten jungen Weibchen wurde nur einmal eine deutlich vorzeitige Konzeption beobachtet; im allgemeinen sind auch die Weibchen erst zum normalen Zeitpunkt fortpflanzungsfähig.

7. Hohe Prolangaben lösen am reifenden Hoden *Schädigungen* des Keimgewebes aus (Abstoßung der „mobilen“ Teile des Epithels, Riesen-zellbildungen; rückschrittliche Umwandlung bei den „sessilen“ Zellen).

8. Diese Schädigung ist, soweit beobachtet, morphologisch wie physiologisch ausgleichbar, führt aber zu *verspäteter* Reifung und *verspäteter* Fortpflanzungsfähigkeit.

9. Eine regelmäßige Vermehrung des *Zwischengewebes* tritt erst bei hoher, mit Schädigung des Keimgewebes verbundener Darreichung auf. Sie führt zu deutlicher Vermehrung des Hodengewichtes und wird als sekundär aufgefaßt.

10. Am *erwachsenen* Männchen konnte mit Prolan weder eine morphologisch noch biologisch veränderte Reaktion der Keimdrüse hervorgerufen werden.

11. Die *altersatrophische* Keimdrüse und die *Altersunfruchtbarkeit* wird durch Prolan nicht beeinflußt.

12. Prolan aktiviert auf dem Wege über den Hoden das spezifisch männliche Geschlechtshormon. Welcher Gewebeteil des Hodens Träger dieses Hormons ist, kann noch nicht sicher beantwortet werden.

13. Auf diesem Umweg bewirkt Prolan Wachstum der Nebenorgane am unreifen wie am greisen Tier.

14. Ohne auffallende Allgemeinschäden bewirkt Prolan ein Zurückbleiben im Wachstum bei jugendlichen Tieren.

15. Die männliche Ratte scheint ebenso wie die weibliche Ratte prolanempfindlicher zu sein als die Maus. Für eine Prolanwirkung am männlichen Tier ist aber eine erheblich höhere Gabe nötig als beim weiblichen Tier.

Schrifttum.

- Aschheim*: Z. Geburtsh. 95 (1929); Med. Welt 1930, Nr 14; Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harne, Berlin: S. Karger 1930. — *Biedl*: Arch. Gynäk. 132 (1927). — *Boeters*: Dtsch. med. Wschr. 1930, Nr 33. — *Borst*: Dtsch. med. Wschr. 1930, Nr 27. — *Borst u. Gostimirović*: Münch. med. Wschr. 1930, Nr 12. — *Botschkarew*: Klin. Wschr. 1929, Nr 37. — *Bouin*: Zit. nach *Schinz u. Slotopolsky* (24) 1897. — *Brown*: Quart. J. microsc. Sci. 25 (1885). — *Butenandt*: Naturwiss. 17, H. 45 (1929). — *Forsch. u. Fortschr.* 1930, Nr 1. — *Champy*: Arch. de Zool. 60 (1920). — *Donaldson*: The Rat, Data and Reference Tables. Philadelphia, 1924. — *Duesberg*: Arch. Zellforschg 1 (1908); 2 u. 3 (1909). — *Ebner*: Arch. mikrosk. Anat. 31 (1888). — *Ehrhardt*: Klin. Wschr. 1929, Nr. 44. — *Evans u. Long*: Anat. Rec. 21 (1921); Anat. Rec. 23 (1922). — *Evans u. Simpson*: Anat. Rec. 32 (1926). — *Fels*: Arch. Gynäk. 132 (1927); 138 (1929). — *Fischer, E.*: Das kommende Geschlecht, Bd. 5, H. 6, 1930. — *Goetsch*: Bull. Hopkins Hosp. 27 (1916). — *Harms*: Körper und Keimzellen, Berlin: Julius Springer 1926. — *Kraus*: Klin. Wschr. 1930, Nr 32. — *Laqueur*: Klin. Wschr. 1927, 390. — *Lenhossek*: Arch. mikrosk. Anat. 51 (1898). — *Loewe u. Voß*: Klin. Wschr. 1930, Nr 11. — *Prenant*: Etude sur la structure du tube séminifère des mammifères. Thèse de Nancy. Zit. nach *Schinz u. Slotopolsky* (24) 1887. — *Regaud*: Archives Anat. microsc. 4 (1901); 11 (1910). — *Romeis*: Klin. Wschr. 1922, Nr. 19, 20, 21; *Bethe-Bergmanns*

Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 14, 1. Hälfte, 1926; Taschenbuch der mikroskopischen Technik, München 1928. — *Rößle*: Wachstum und Altern, Berlin: J. F. Bergmann 1923. — *Saller*: *Roux Arch.* 111 (1927). — *Sand, K.*: *Bethe-Bergmanns Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, Bd. 14, 1. Hälfte, 1926. — *Schinz u. Slotopolsky*: Denkschr. schweiz. naturforsch. Ges. 61, Abh. 2 (1924); Erg. med. Strahlenforschg 1 (1925); *Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. V., Teil 3 B, H. 4, Lief. 238, 1927. — *Smith*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 24 (1926/1927); J. amer. med. Assoc. 88 (1927). — *Smith u. Engle*: Amer. J. Anat. 40 (1927). — *Steinach u. Kun*: Med. Klin. 1928, Nr 14. — *Stieve*: Erg. Anat. 23 (1921); Arch. mikrosk. Anat. u. Entw.mechan. 99 (1923); Naturwiss. Korresp. 1, H. 1 (1923). — *Trendelenburg, P.*: Die Hormone. Ihre Physiologie und Pharmakologie, Bd. 1, Berlin: Julius Springer 1929. — *Voß u. Loewe*: Pflügers Arch. 218. — *Walker*: Amer. J. Physiol. 74 (1925). — *Waldeyer*: *O. Hertwigs Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Organismen*, Bd. 1, Teil 1, 1906. — *Zondek, B.*: Zbl. Gynäk. 1929, Nr 14; Klin. Wschr. 1930, Nr 6, 9 u. 15; — *Zondek, B. u. Aschheim*: Z. Geburtsh. 90 (1926); Arch. Gynäk. 130 (1927); Klin. Wschr. 1927, Nr 6; 1928, Nr 18.