

(Aus der Universitäts-Augenklinik Bern [Direktor: Prof. A. Siegrist].)

Arbeiten über das E-Vitamin.

I. Mitteilung.

Veränderungen der Keimdrüsen während der E-Avimatose¹.

Von

A. Juhász-Schäffer.

Mit 15 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 23. Dezember 1930.)

Schon im Jahre 1922 haben *Evans* und *Bishop* darauf hingewiesen, daß verschiedene synthetische Ernährungen die ovariellen und placentaren Funktionen verändern können. Im Jahre 1923 brachten sie Beweise über „die Existenz eines bisher unbekannten diätetischen, für die Reproduktion notwendigen Faktors“. Bei Ernährung von Ratten mit synthetischen Diäten erhielten sie Unfruchtbarkeit der Tiere, welche nur unter Zusatz von natürlichen Nahrungsstoffen verhütet werden könnte. „Die natürlichen Nahrungsstoffe — berichten die Verfasser — enthalten Substanzen X, welche die Sterilität verhüten, oder die durch diätetische Ernährung mit gereinigten Nährstoffen verursachten Störungen heilen.“ Die Heilung gelang ihnen vor allem mit frischen Lattichblättern. Später wurde von *Evans* und *Burr* nachgewiesen, daß der Mangel an X-Stoffen — später von den gleichen Forschern Antisterilitäts- oder fettlösliche E-Vitamine genannt — in der synthetischen Nahrung bei Männchen und Weibchen die Unfruchtbarkeit nicht in gleicher Weise verursacht. Bei den Männchen geschieht dies durch Zerstörung der Keimdrüsen, während diese bei den Weibchen ungeschädigt bleiben. Hier wird das Keimepithel der Ovarien nicht zerstört, nur sterben die Feten nach einer anfänglichen Entwicklung ab. Sie waren der Ansicht, das Absterben der Embryonen sei durch funktionelle Störungen in der Placenta während der Tragezeit verursacht worden (eine Hypothese, deren Gültigkeit uns fraglich erscheint).

Schon vor diesen Autoren berichteten andere Forscher über Störungen in der Nachkommenerzeugung bei einseitiger Ernährung. 1920 haben *Mattill* und *Conklin* Ratten mit einer Kost ernährt, in der Eiweißstoffe und

¹ Herrn Prof. *Siegrist* danke ich für die freundliche Unterstützung dieser Arbeiten.

Vitamine nur in der dargereichten Milch zugeführt wurden; wenn der Fettgehalt der Milch höher war, wurden sämtliche Versuchstiere unfruchtbar. 1923 erklärten *Mattill* und *Carman*, daß die durch Milchernährung entstandene Sterilität nicht durch Mangel bekannter Ernährungseinflüsse verursacht werden kann. Somit haben diese Forscher unabhängig von, und gleichzeitig mit *Evans* und *Burr* das Vorhandensein eines die Sterilität verhütenden Faktors in den natürlichen Nahrungsstoffen vorausgesagt, ohne jedoch den Faktor selbst nachzuweisen. Im selben Jahr erschien auch von *Sure* eine Arbeit „Über die Existenz von spezifischen Antisterilitätsvitaminen“.

In den nachfolgenden Jahren haben vor allen die genannten Forscher sich bemüht, das Vorhandensein des angenommenen Unfruchtbarkeit verhütenden Vitaminfaktors außer Zweifel zu setzen, sein Vorhandensein in pflanzlichen und tierischen Stoffen nachzuweisen, den Stoff so weit als möglich rein zu gewinnen und seine biochemischen Charaktere analytisch zu ergründen. So entstand ein ziemlich reiches Schrifttum über diese Frage, an der jedoch bis zur letzten Zeit fast ausschließlich nur eine kleine Gruppe von amerikanischen Forschern beteiligt war; hier sind insbesondere *Evans*, *Sure*, *Mattill* und ihre Mitarbeiter zu nennen, die, teilweise auch unabhängig voneinander, dieses neue Forschungsgebiet bearbeitet und einen ganzen Komplex neuer Fragen aufgeworfen haben. Als die eigentlichen Begründer der E-Vitaminlehre werden *Evans* und Mitarbeiter betrachtet, denen es zuerst gelang, in diese Forschungsprobleme Klarheit zu bringen.

Während also in den Vereinigten Staaten diese sowohl für die allgemeine Biologie, als auch für die Medizin so wichtigen Fragen seit 7 Jahren Objekt tatkräftigster Forschung geworden sind, blieben sie in Europa unbeachtet und man hörte über die Sache nur vereinzelte ziemlich skeptische Meinungsäußerungen, die jedoch nie durch eigene Beobachtungen unterstützt wurden. In den Ergebnissen der Physiologie¹ weiß *Kreitmair* über dieses Problem nur folgendes zu sagen: „Die Methode hat natürlich mit sehr viel Unsicherheitsfaktoren zu rechnen und die Ergebnisse können nur bewertet werden, wenn sie in einem sehr großen Tiermaterial durchgeführt worden sind. Ich konnte mich bisher von der Existenz des Fortpflanzungsvitamins mit Sicherheit nicht überzeugen.“ Er teilt nicht mit, ob er seine Aussagen auf mißlungene Versuche gründet und ob er überhaupt irgendwelche Versuche, diese Probleme zu klären, unternommen hat. Mir scheint der letztere Fall nicht wahrscheinlich zu sein, mir traten nämlich in 100% der Fälle die typischen Ausfallerscheinungen bei den behandelten Versuchstieren (Ratten) auf. Unter den europäischen Forschern, deren erst 2 oder 3 bekannt sind, ist vor allen *V. Bisceglie* zu nennen, dessen Versuchsergebnisse mit denen der amerikanischen Forscher nicht übereinstimmen und auf die ich noch

¹ Bd. 30, S. 237. München: J. F. Bergmann 1930.

zurückkommen werde. Die Ursache, warum in Europa dieses so wichtige Forschungsproblem so vernachlässigt wird, liegt wahrscheinlich erstens in der Vielseitigkeit der Erscheinung, dessen Studium eine größere Reihe von Versuchstieren beansprucht, außerdem aber auch in der langen Dauer der Versuche und in den materiellen Schwierigkeiten bei der Herstellung ganz reiner Futtermittel.

Was mir zu diesen Versuchen Veranlassung gab, war vor allem die allgemeine Skepsis besonders europäischer Forscher, die wie auch *Kreit-mair*, das Dasein des E-Faktors überhaupt in Frage stellten, dann aber wollte ich den Widerspruch zwischen den Ergebnissen der amerikanischen Forscher und denen der *Bisceglieschen* Versuche nähertreten. Insbesondere wendete ich meine Aufmerksamkeit der Frage zu, ob — im Falle, daß das Dasein des Fortpflanzungsvitamins auch in meinen Versuchen bestätigt würde — bei Mangel an E-Faktor in dem synthetischen Futter auch im Auge pathologische Veränderungen auftreten. Obwohl über solche Veränderungen von keinem der Untersucher berichtet worden ist, war die Möglichkeit nicht von vorneherein auszuschließen, da einerseits Augenveränderungen bei Avitaminosen wohl bekannt sind, andererseits, weil das Erkennen von Veränderungen in den tieferliegenden Augenmedien Schwierigkeiten bereitet, zu deren Überwindung besondere Fachkenntnisse des Augenarztes und eine eigene Apparatur notwendig ist.

Diese Versuche, an denen ich mit Unterbrechungen seit über 2 Jahren arbeite, brachten die vollständige Bestätigung der Angaben amerikanischer Forscher. Indem ich jedoch in meinen Versuchen auch an Probleme heranzutreten suchte, die bei den Amerikanern nicht oder nur nebensächlich angedeutet wurden, will ich meine Ergebnisse in einer Reihe von Veröffentlichungen wiedergeben; sie wollen keinesfalls Abschließendes aussagen, um so weniger, da sich einem um so mehr neue Fragen aufdrängen, je mehr man in den Problemkomplex Einblick gewinnt. Neuere Versuche sind also im Gange; ihre Ergebnisse sollen zu gegebener Zeit veröffentlicht werden.

Die Untersuchungen von *Evans* und Mitarbeiter u. a. haben zusammengefaßt folgendes gezeigt: Bei Fütterung von Ratten mit synthetischer Kost, bestehend aus reinem Fett, Kohlehydrat und Eiweiß, außerdem aus einem Salzgemisch und den Vitaminfaktoren A und B, treten Mangelercheinungen auf, die verhütet werden, oder wenn sie schon entstanden, teilweise behoben werden, wenn man zu der Nahrung gewisse Stoffe setzt, die nach der Meinung dieser Forscher einen akzessorischen Nährstoff enthalten. Dieser Stoff ist in den sog. natürlichen Nahrungsmitteln vorhanden, vor allem in bestimmten Pflanzenorganen, besonders Samen und grünen Blättern, z. B. in den Lattichblättern. Unter den Cerealien enthalten den E-Faktor Hafer, Korn, besonders Weizen, weniger das Endosperm als der Embryo. Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß eine tägliche Menge von 0,25 g Weizenpulver

oder 1—2 Tropfen des öligen Ätherextraktes aus Weizenkeimlingen vollständig ausreicht, um die Mangelercheinungen zu verhüten. Ähnlich, aber viel schwächer, wirken Baumwollsaamen-, Mais-, Palmöl, während Pfirsichkern-, Sojabohnen-, Erdnuß- und Olivenöl die Fruchtbarkeit nicht beeinflussen konnten. In normalen tierischen Geweben, besonders in denen von Neugeborenen, deren Muttertiere Normalfutter erhielten, ist der E-Faktor in größerer Menge vorhanden. Die Mangelercheinungen offenbaren sich bei Männchen und Weibchen ganz verschieden: während beim Weibchen die Eierstocksleistung nicht beeinträchtigt wird und trotz Mangel an E-Stoff normale Ovulation, Einpflanzung des Eies und sogar auch Befruchtung stattfindet und nur nachher das Absterben des Embryos und seine nachfolgende intrauterine Aufsaugung erfolgt, treten in den Keimdrüsen der Männchen Störungen auf, die direkt das Samenepithel betreffen, das ganz zerstört wird. Männliche Tiere werden, auf E-vitaminfreie Kost gesetzt, gegen den 90.—150. Tag der diätetischen Behandlung unfruchtbar. Schon am Anfang, also vor dem 90. Tag, wenn noch normale Kohabitation mit normalem Samenerguß in die Scheide erfolgt, sind die Spermien nicht mehr befruchtungsfähig; sie zeigen meistens auch Formveränderungen. Später fehlt der Scheidenpfropf ganz, trotz stattfindender Kohabitation, wegen Fehlen vom Ejakulat. Im letzten Stadium der Mangelkrankheit geht jede geschlechtliche Begierde verloren. Die morphologisch nachweisbare Grundlage dieser Erscheinungen ist ein vollständiger Zerfall des Samenepithels.

Versuchstechnik.

Für das Studium der funktionellen und morphologischen Beeinflussung der Keimdrüsen durch E-Vitaminmangel haben wir insgesamt 109 Tiere verwendet: 72 Männchen, davon 34 Versuchstiere und 18 Vergleichstiere; 37 Weibchen, davon 23 Versuchs- und 14 Vergleichstiere. Die Tiere gehörten teilweise zu der reinen Albinorasse, teils waren sie schwarzweiße Mischlinge. Da *Evans* und Mitarbeiter nur Albinoratten verwendet haben, soll hier auch erwähnt werden, daß der Erfolg der Fütterungsversuche unabhängig ist von der Rasse der Ratten. Ja sogar scheint es uns, daß unter ähnlichen Versuchsbedingungen, auch bei nahestehenden Arten, wie z. B. bei Mäusen, die Mangelercheinungen leicht hervorzurufen sind; da wir aber bis jetzt über diese Frage nicht genügend Erfahrungen gesammelt haben (insgesamt 4 Mäuse), wäre etwas Bestimmtes hierzu auszusagen verfrüht. Doch berichtet auch *Beard* über erfolgreiche Fütterungsversuche an Mäusen. Diese Tatsache ist nicht ohne Bedeutung, da Fütterungsversuche mit Mäusen bedeutend billiger sind als mit Ratten.

In den Versuchen von *Evans* und Mitarbeiter wurden junge Tiere, abstammend von Muttertieren, die an Normalfutter gehalten waren, am 21. Lebenstag auf E-vitaminfreie Kost gesetzt, um sie innerhalb

90—150 Tagen unfruchtbar zu bekommen. Es wurden insgesamt 248 männliche Versuchstiere und eine viel größere Zahl weiblicher Tiere diätetisch behandelt und bei allen Tieren erhielten die Autoren positive Ergebnisse. Unser Tiermaterial war also viel kleiner. Wir fingen unsere Versuchsreihe in verschiedenen Jahreszeiten an, und zwar im Sommer, im Spätherbst und im Frühjahr; die Dauer der Versuche erstreckte sich bei einigen Tieren bis über 9 Monate.

Auch das Alter der Tiere haben wir gewechselt, indem wir nicht nur junge Tiere mit 21 Tagen in Versuch genommen haben, sondern auch ältere, und zwar von verschiedenem Alter und Körpergewicht, wie das aus den Tabellen hervorgeht. Zu jedem Versuche wurde ein Parallelversuch mit Vergleichstieren unternommen.

Die Tiere kamen in eiserne Käfige, die gut gereinigt wurden; um Reste zurückgebliebener Futtermittel wegzuschaffen, wurden sie über der Flamme erhitzt. Der Boden der Käfige bestand anfangs aus einem alten Holzbrett, das man gut reinigen konnte. Später verwendeten wir ein weiches Papier als Unterlage, das man leicht aus den Käfigen entfernen konnte, um es durch frisches zu ersetzen.

Das zur Fütterung verwendete Casein, die Stärke und Hefe wurden sorgfältig gereinigt; die Reinigung geschah teils durch Extraktion mit Äther, der nachher durch Pression einerseits, im Vakuum andererseits vollständig entfernt wurde, teils durch mehrmalige Extraktion mit siedendem Alkohol. Als Fett wurde fast immer Schweinefett verwendet, das länger erhitzt (3 Stunden über 120°) wurde; nur eine Diät enthielt MilCHFett. In einer Kost verwendeten wir amerikanisches Milchpulver, dessen Alter nicht weniger als 3 Jahren betrug. Um die Vitaminfaktoren A und B im Futter zu reichen, haben wir frischen Lebertran verwendet. Als Salzmischung wählten wir anfangs die von *Osborn* und *Mendel* angegebene, später die *Mc Collum-Simmondsche* Salzmischung.

Diese Futtermittel wurden in 4 verschiedenen Abwandlungen gereicht. Die *erste Kost*, die wir Grunddiät nennen, hatte folgende Zusammensetzung: Weizenstärke 65%, Casein 18%, Fett 10%, Salzmischung 4%, Lebertran 2% und Hefe 1%. Die *zweite Kost* (Diät 2) war zusammengesetzt aus 54% Weizenstärke, 18% Casein, 20% Fett, 2% Lebertran, 4% Salzmischung und 2% Hefe. *Kost 3* hatte folgende Zusammensetzung: 50% Stärke, 8% Casein, 8% Fett, 22% Milchpulver, 2% Lebertran, 4% Salzmischung und 6% Hefe. *Kost 4* war die sog. *Evanssche* Grunddiät (Basic ration), bestehend aus 18% Casein, 54% Weizenstärke, 15% Fett, 9% MilCHFett, 4% Salzmischung und 4—6 g Hefe pro die.

Evans und Mitarbeiter erprobten eine ganze Reihe verschiedener Kosten, bei welchen einmal das Casein oder der Fettgehalt auf Kosten der Stärke erhöht wurde, ebenso wurden die dargereichten Hefe- und Lebertranmengen verändert; jedoch zeigte es sich, wie das auch meine Versuche bestätigen können, daß von den Mengenverschiedenheiten der Futterbestandteile, wenigstens innerhalb ziemlich weiter Grenzen, das Ergebnis unabhängig ist. Nur wurde von einigen Forschern behauptet, der Lebertran enthielte in ganz kleinen Mengen auch den E-Faktor; er muß sicherlich nur in ganz geringen Mengen darin enthalten sein, da hohe Gaben an der Grenze der Giftigkeit auch nicht fähig sind, die Unfruchtbarkeit zu verhüten.

Die Vergleichstiere erhielten die gleiche Kost der Versuchstiere, nur verändert mit einer täglichen Zutat von 1—3 Tropfen Weizenöl.

Bei den wöchentlich vorgenommenen Messungen der Körpergewichte der Avitaminosetiere und der Vergleichstiere, deren Diät mit Weizenöl korrigiert wurde, erhielt man eine Kurve, die am Anfang der diätetischen Behandlung etwas sinkt, um dann wiederum zu steigen. Die Tiere sind trotz ihres vollkommen gesunden Aussehens stets etwas magerer als die mit Normalfutter gehaltenen Tiere, ihr Körpergewicht und die wöchentliche Körpergewichtszunahme ist auch etwas geringer. Zutat von Weizenöl zu der synthetischen Nahrung ändert nichts an diesem Gewichtsverlust. Auch in dieser Beziehung verhalten sich die Tiere sehr

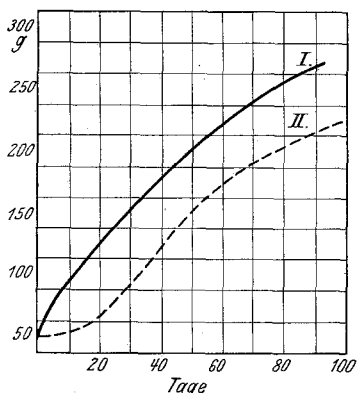


Abb. 1. Körpergewichtszunahme der mit Normalfutter (I.) und mit synthetischer Kost (II.) ernährten jungen Ratten.

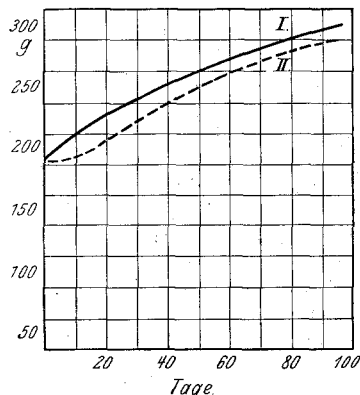


Abb. 2. Körpergewichtszunahme der mit Normalfutter (I.) und mit synthetischer Kost (II.) ernährten erwachsenen Ratten.

individuell; Tiere vom gleichen Wurf zeigen auch oft etwas abweichende Gewichtskurven. Wenn man die Durchschnittswerte betrachtet, so ergibt sich die Tatsache, daß bei jungen Tieren innerhalb 3 Monaten ein Verlust von 24% der Gesamtgewichtszunahme zu vermerken ist, während bei älteren Tieren der Verlust höchstens 5% ausmacht.

Die Tabellen vergleichen die Gewichtszahlen von normalgefütterten Tieren mit den auf synthetischer Kost und Weizenölkorrektion gehaltenen Ratten. Bei den auf synthetischer Kost gehaltenen Tieren wurde stets angegeben, in der wievielten Woche der diätetischen Behandlung der Hoden entfernt wurde. Bei jedem Tier wurde der Hoden nur einmal gewogen; wenn gleichzeitig beide Hoden entfernt wurden, so wurden beide Hoden zusammen gewogen und das Mittel genommen. Im Falle von einseitiger Kastration wurde der in situ gelassene Hoden bei der späteren Tötung des Tieres nicht mehr für diese Vergleichsstatistik verwendet, da bekanntlicherweise der zurückgebliebene Hoden für beide ersetzend eintreten kann.

Ergebnisse bei den Rattenmännchen.

Unsere 34 männlichen Versuchstiere und 18 Vergleichstiere wurden folgendermaßen auf die 4 verschiedenen Kosttypen verteilt (die Tabelle zeigt gleichzeitig auch die Endergebnisse):

Diät	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Vergleichstiere	Zahl der unfruchtbaren	
			Versuchstiere	Vergleichstiere
I.	16	6	16	0
II.	6	4	6	0
III.	6	4	6	0
IV.	6	4	6	0

Unabhängig von den Mengenverhältnissen (und teilweise auch der qualitativen) wurde in 100% der Fälle Unfruchtbarkeit erzielt. Die eingetretene Sterilität wurde mit Hilfe von Rattenweibchen erwiesen, die mit Normalfutter gehalten waren; die Tiere kamen für einige Stunden zusammen, wurden nachher wiederum getrennt. Wenn nach mehreren Versuchen die normalen brünstigen Weibchen unbefruchtet blieben, konnten die behandelten Männchen als unfruchtbar betrachtet werden.

Größere Beachtung schenken wir der histologischen Untersuchung der Hoden, Nebenhoden und der Spermien. Zur Bestimmung des Funktionszustandes der Keimdrüsen verwendeten *Evans* und *Burr* eine eigenartige Methode; sie ließen eine Kohabitation mit zugeführten Weibchen zu und untersuchten das Ejakulat im Vaginalpfropf auf Anwesenheit oder Fehlen von Spermien. Diese Methode schien uns zwar sehr zweckdienlich zu sein, jedoch war sie für uns allzu zeitraubend und ermöglichte auch nicht eine so genaue Untersuchung der Spermien, als wenn man sie direkt aus den Nebenhoden gewinnt. Um die Sache einfacher zu gestalten, nahmen wir die Spermien aus dem körperwarmen Nebenhoden des Tieres, nachdem es getötet wurde, zum Zwecke histologischer Bearbeitung seiner Organe, oder bei einseitiger Kastration, die wir zu Versuchszwecken durchführten, auf die noch zurückgekommen wird. Die Nebenhoden wurden mit einem feinen, dünnen Messer durchgeschnitten und mit dem stumpfen Messerrücken von der Schnittfläche der saftige Inhalt abgestrichen; diese Flüssigkeit wurde mit Ringerlösung bei 37° C vermischt und auf die Beweglichkeit der Spermien untersucht; teils wurden hängende Tropfen in Osmiumdämpfen fixiert, Ausstrichpräparate verfertigt und diese mit Eisenhämatoxylin oder Gentianaviolett gefärbt. Zur Beweglichkeitsprüfung der Spermien benutzten wir auch die bekannte Tatsache, daß die Spermien stets gegen den Strom schwimmen. Man ließ von der spermienhaltigen Aufschwemmung mit Fließpapier etwas aufsaugen, wodurch eine Strömung in der Flüssigkeit entsteht; für die Funktionstüchtigkeit der Spermien mit guter Bewegungskraft war die Erscheinung des Rheotaxis als weiteres Maß gut zu verwenden. Neben

den Ausstrichpräparaten konnten auch die Schnittpräparate des Hodens und Nebenhodens über die morphologische Veränderungen der Spermien Auskunft geben.

Unter den Forschern ist *Mason* der einzige, der die morphologische Hodenveränderungen bei der E-Avitaminose näher beschreibt. Seine Beschreibung ist kurz, kaum einige Zeilen. Er teilt den „Degenerationsprozeß“ im Hoden in 5 Stadien ein: Im 1. Stadium verlieren die Spermien ihre Individualität und bilden klumpige Massen. Im 2. Stadium treten degenerative Veränderungen in den Spermatiden auf. Das 3. Stadium ist durch Bildung von Riesenzellen aus Spermatiden ausgezeichnet. Auch die Spermatoeyten zeigen Degenerationserscheinungen. Im 4. Stadium werden die Riesenzellen aufgelöst, die Spermatoeyten und Spermatogonien fallen der Nekrose anheim. Das letzte Stadium erinnert an den kryptorchen Hoden; das Keimepithel ist bis zu den Sertolizellen verkleinert. Die letzteren und die Zwischenzellen bleiben unverändert.

Evans und *Burr* geben keine histologische Beschreibung der Hodenveränderungen, sie teilen die funktionelle Avitaminoseschädigung in 6 Stadien ein, die durch Untersuchung des Ejakulats im Vaginalpfropf sich ergeben. Im 1. Stadium findet man im Scheidenpfropf morphologisch unveränderte Spermien; die Fruchtbarkeit der Tiere ist dagegen herabgesetzt. 2. Stadium: die Spermien verlieren ihre Beweglichkeit, weisen jedoch keine, oder nur ganz geringe morphologische Veränderungen auf. 3. Stadium: die Spermien sind zusammengeballt, oft tragen sie cytoplasmatische Trümmer der Sertolizellen. 4. Stadium: im Scheidenpfropf keine Spermien. 5. Stadium: es wird kein Scheidenpfropf gebildet, doch besteht immer noch geschlechtliche Begierde, die im 6. Stadium erloschen ist.

Die Tiere werden nach *Evans* und *Burr* im 5. Lebensmonat unfruchtbar mit 8—9 Monaten durchschnittlich verschwinden die Spermien aus dem Vaginalpfropf und mit 13—14 Monaten sind die Tiere nicht mehr fähig, Scheidenpfropf zu bilden.

Die *Mansonsche* rein morphologische Einteilung läßt sich unserer Auffassung nach nicht aufrechterhalten, da jederzeit und in jedem Hodenschnitt die verschiedensten Stadien der Veränderungen aufzufinden sind. Es wäre auch nicht zweckmäßig, nach den vorherrschenden Erscheinungen das Stadium anzugeben, da man neben einem Kanälchen des 3. oder 4. Stadiums auch fast normalen Kanälchen begegnet. Demgegenüber ist die funktionelle Einteilung von *Evans* und *Burr* die überzeugendere. Unsere Einteilung schließt sich grundsätzlich an diese an, da aber unsere Untersuchungsmethode eine andere war, mußte auch die Einteilung abgeändert werden.

Unsere *erste Phase* entspricht den ersten 6—12 Wochen E-vitaminfreier Ernährung; in dieser Zeit findet man bewegliche Spermien, anfangs mit normaler, später ohne ausgesprochener Rheotaxis. Die Tiere befruchten mit normalem Futter gehaltene Weibchen, es werden jedoch sehr wenige Jungen erzeugt.

An diese Phase schließt sich die *zweite* an, in welcher die Spermien immer noch morphologisch unverändert sind, jedoch keine oder sehr beschränkte Beweglichkeit zeigen. Kein Rheotaxis der einzelnen noch beweglichen Spermien. Die Zahl der Spermien im Nebenhoden ist

beträchtlich vermindert. Mit normalen Weibchen erzeugen die Tiere selten lebensfähige Junge.

Gegen die 15.—20. Woche erscheinen weitgehende morphologische Veränderungen der Spermien. Sie sind in dem Nebenhoden zu Bündeln zusammengeballt; die solitären Fäden sind kürzer, oft doppelt oder vielschwänzig. Andere haben große klumpige Köpfe, sie sind nach Dicke, Länge und Form sehr wechselbar. Viele kleine und Zwergspermien. Oft verschmelzen zwei oder mehrere Köpfe zu Riesenköpfen, deren Schwanz aus mehreren Fäden zopfartig zusammengeflochten ist. Zwischen den veränderten pathologischen Formen der Spermien begegnet man spärlich auch Spermatidenkernen. Die peitschenartig zusammengeköpkelten Spermiengeflechte tragen an ihren Kopfenden oder nicht weit von den Köpfen entfernt, Zelltrümmer, die grobe, stark färbbare Massen enthalten und an Trümmer von Zellkernen erinnern. Bald verschwinden auch diese veränderten Spermien aus dem Nebenhoden, dessen Kanälchen unverändert bleiben, ihr Lumen wird leer; es ist mit einer klaren Flüssigkeit gefüllt, die histologisch leer erscheint.

Die Empfindlichkeit der Tiere gegenüber E-Vitaminmangel hängt nicht nur von individuellen Einflüssen ab, sondern auch vom Alter des betreffenden Tieres. Tiere, die mit einem Alter von 21 Tagen auf E-vitaminfreie Kost gesetzt werden, zeigen erwachsenen Tieren gegenüber eine raschere Abwicklung des krankhaften Vorganges; ihre Spermien sind nach etwa 10—12 Wochen diätetischer Behandlung unbeweglich und zum Teil schon morphologisch verändert, während im Nebenhoden erwachsener Tiere in dieser Zeit noch normale Spermien gefunden werden.

Wir haben versucht, aus den Quotienten von Hodengewicht zu Körpergewicht, bei normalen, bei mit E-vitaminfreier Diät ernährten und solchen Tieren, welche mit berichteter (mit Weizenöl) synthetischer Kost gefüttert wurden, gewisse Schlüsse zu ziehen. Dies gelang, wenn auch die Messungswerte, ebenso wie die Körpergewichte, großen Schwankungen unterliegen. Es zeigte sich ein großer Unterschied zwischen den Hoden der E-Mangeltiere und der Vergleichstiere, deren Kost mit Weizenöl verändert wurde. Nach den Messungen an Normaltieren im Lebensalter nicht unter 1,5 Monaten ist das Gewicht der Hoden 0,6—0,7% oder auch 0,8% und mehr (bei sehr mageren, aber gesunden Tieren) des Körpergewichtes. Bei den Tieren, die mit synthetischer E-vitaminfreier Kost ernährt worden sind, nimmt das Gewicht bis Ende des dritten Monats auf 0,45—0,30% ab, um dann in den folgenden Monaten bis zu 0,25% und weniger des Körpergewichtes zu sinken. In dieser Zeit sind die Hoden beträchtlich geschrumpft, haben eine etwas gefaltete Oberfläche und beim Tasten spürt man den Verlust an Turgor, der die saftreichen normalen Hoden auszeichnet. Bei den Hoden der auf weizenöhlaltiger synthetischer Kost gesetzten Vergleichstieren vermißt man jedes Zeichen der Schrumpfung, sie haben eine glatte

Tabelle 1. *Körper- und Hodengewichte der an Normalfutter gehaltenen Rattenmännchen.*

Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰	Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰
245	1,22	5,4	256	1,56	5,1
140	1,00	7,1	254	1,42	5,6
160	1,05	6,0	185	1,19	6,4
145	0,90	6,2	206	1,33	6,4
199	1,17	5,9	232	1,46	6,2
125	0,88	7,0	163	1,25	7,6
104	0,66	6,3	210	1,32	6,3
148	1,07	7,3	218	1,43	6,5
192	1,35	7,0	230	1,43	6,2
214	1,39	6,5	156	1,07	6,8
232	1,48	6,3	173	1,10	6,4
146	1,14	7,8	171	1,21	7,0
145	0,98	6,7	153	1,14	7,4
130	0,93	7,1	210	1,37	6,5
140	0,95	6,7	196	1,33	6,8

Tabelle 2. *Körper- und Hodengewichte der an synthetische Kost (ohne Zutat von Weizenöl) gehaltenen Rattenmännchen.*

Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰	Behandlung Wochen	Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰	Behandlung Wochen
256	0,84	3,3	10	257	0,79	3,1	12
193	0,71	3,7	10	166	0,41	2,5	12
192	0,84	4,4	10	206	0,55	2,7	16
188	0,60	3,2	10	210	0,48	2,3	16
185	0,64	3,5	10	237	0,59	2,5	16
179	0,59	3,3	10	252	0,53	2,1	20
180	0,51	2,9	12	216	0,51	2,4	20
175	0,47	2,7	12	203	0,49	2,4	20
248	0,64	2,6	12	223	0,45	2,0	20
169	0,39	2,3	12	209	0,43	2,1	20
248	0,79	3,2	12	265	0,67	2,5	20
268	0,93	3,5	12	286	0,62	2,2	20
193	0,49	2,7	12				

Tabelle 3. *Körper- und Hodengewichte von Rattenmännchen, deren synthetische Kost mit Weizenöl korrigiert wurde.*

Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰	Körpergewicht in g	Hodengewicht in g	‰
260	1,69	6,5	199	1,58	7,9
254	1,82	7,2	175	1,24	7,1
188	1,47	7,8	158	1,19	7,5
205	1,57	7,6	183	1,40	7,7
246	1,55	6,3	224	1,58	7,1
215	1,66	7,7	205	1,41	6,8
204	1,55	7,6	190	1,48	7,8
238	1,57	6,6	183	1,28	7,0

elastische Oberfläche, sind stark gefüllt und beim Tasten lassen sie in situ eine gewisse pralle Elastizität verspüren. Ihr Gewicht nimmt gegenüber den Hoden der an Normalfutter gehaltenen Tiere etwas zu, erreicht einen Wert von 0,7—0,8% des Körpergewichtes. Diese Zunahme ist aber sicherlich nur eine relative und entspricht der allgemeinen Abmagerung; auch bei mageren, mit Normalfutter ernährten Tieren sieht man ja so hohe Werte.

Die Hoden wurden in *Tellyesnitzky*-Lösung fixiert und meistens im ganzen mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Diese Bearbeitung der Präparate für die histologische Untersuchung hatte den großen Vorteil, daß sie uns viel Zeit und Arbeit ersparte; da wir bei sämtlichen Tieren von beiden Hoden Reihenschnitte machten, außerdem aber eine ganze Reihe von Organen an Serienschnitten untersuchen wollten (auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen komme ich noch zurück), war uns diese Zeitersparnis von großem Wert. Die meisten unserer photographischen Aufnahmen wurden mit solchen Präparaten gemacht; nur bei wenigen Stücken machten wir Schnittfärbungen mit Eisenhämatoxylin.

Unsere Beobachtungen an den Hodenschnitten stimmen mit der Beschreibung der pathologischen Veränderungen von *Mason* im großen und ganzen überein, ohne daß wir seine Stadieneinteilung überzeugend finden. Diese Einteilung ist sicherlich sehr gezwungen, da im gleichen Schnittpräparat mehrere „Stadien“ gleichzeitig zu finden sind. Die veränderten Kanälchen sind meistens nicht diffus und gleichmäßig zwischen normalen oder verhältnismäßig noch gut erhaltenen Kanälchen verteilt, sondern bilden nesterartige Gruppen in verschiedenen Teilen des Hodens; manchmal sind sie sogar fast sektorenförmig eingeteilt: eine Erscheinung, die wir jedoch sehr selten beobachtet haben und auch nur in der ersten Phase der Hodenatrophie. An Schnitten, welche die Kanälchen in der Längsachse trafen, wurde manchmal beobachtet, daß der Degenerationsvorgang eigentlich nicht immer in ihrer ganzen Länge die Kanälchen trifft; die Atrophie kann plötzlich aufhören und ohne längeren Übergang in eine andere oder relativ normale Phase übergehen. Ein besonderer *Locus minoris resistentiae* für die Degeneration in einem bestimmten Gebiet des Hodens wurde nicht gefunden; die atrophischen Kanälchengruppen sind ziemlich regellos überall im Hoden zerstreut. Dagegen wird oft beobachtet, daß besonders an der Peripherie die noch am besten erhaltenen Kanälchen zu finden sind; hier findet man auch die meisten Mitosen. Wahrscheinlich hängt diese Erscheinung mit der Gefäßversorgung zusammen.

Anstatt der *Masonschen* Einteilung, die einen gleichmäßig fortschreitenden Vorgang voraussetzt, wollen wir von Phasen sprechen, die nicht unbedingt zeitlich aufeinander folgen müssen und sich auf jeden Kanälchenquerschnitt gesondert beziehen. Abgesehen von der zeitlichen Unregelmäßigkeit im Auftreten der Veränderungen, sind diese — wie wir später sehen werden — weder dem Grade noch der Art nach gleichmäßig. Die Phasen sind Entwicklungsstufen desselben Vorganges, dessen Ablauf und Ausgang Unterschiede aufweisen kann.

Die systematischen Untersuchungen mittels histologischer Bearbeitung der Hoden unserer E-vitaminfrei gehaltenen Versuchstiere und der entsprechenden Vergleichstiere, haben gezeigt, daß Mangel an E-Vitaminfaktor in den Rattenhoden Herabsetzung der Lebensvorgänge bedingt, die sich als Atrophie mit gleichzeitiger oder nachfolgender Nekrose darstellen.

Bekannterweise besteht der Hoden aus zwei gesonderten Teilen: dem generativen und dem intergenerativen Anteil. Der generative Anteil oder die Samenkanälchen

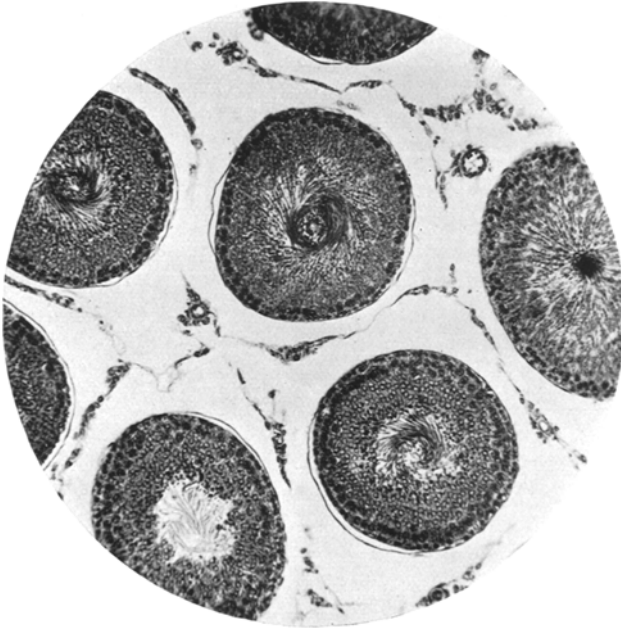


Abb. 3. Hoden eines mit synthetischer Kost, nebst Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 148. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 10. Okul. Homal I. Vergr. 110fach.

enthalten nach der allgemeinüblichen Bezeichnung einen abortiven Teil, die Sertolizellen, deren biologische Bedeutung immer noch eine Frage der Forschung ist, und den generativen Teil, nämlich das Samenepithel. Dieses setzt sich aus den Spermatogonien, Spermatocyten erster und zweiter Ordnung (Prä spermatiden) und den Spermatiden zusammen. Die Spermatocyten zweiter Ordnung sind kurz dauernde Übergangsformen, die also eine ganz untergeordnete Rolle spielen. Unter Samenepithel gemeinhin wird also eine Reihe, bestehend aus Spermatogonien, Spermatocyten, Spermatiden und letzten Endes Spermien verstanden.

Die ersten Veränderungen, die wir beobachten, treten in der Zellarchitektur der Kanälchen auf; es bilden sich zwischen den normalerweise gleichmäßig angeordneten Schichten der Spermatiden, Spermatocyten und Spermatogonien mehrere strahlige Spalten, die zwischen Lichtung und Wandbelag kleine enge Straßen darstellen; die Samenfäden sinken in diese Spalten herab und bilden eigenartige sternförmige Anordnungen.

Dies wird noch auffallender, da die Samenfäden in größeren, parallelen Bündeln zusammentreten. Durch das Herabsinken der Samenfäden wird das Lumen der Kanälchen immer leerer, die dichte Füllung mit den spiralig gewundenen langen Samenfäden wird immer lockerer und im Zentrum entsteht eine Lücke. Dabei nehmen die Fäden an Zahl zusehends ab. So entsteht bald das charakteristische Bild der sternförmigen Anordnung der Samenfäden, während in der architektonischen

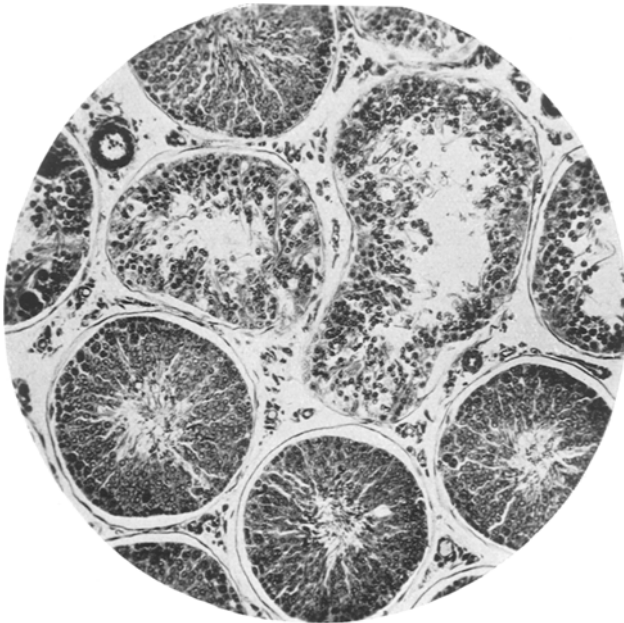


Abb. 4. Hoden eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 106. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 10. Okul. Homal I. Vergr. 110fach.

Harmonie der Kanälchen weitere Änderungen bemerkbar werden. Die Anordnung der Spermatiden wird lockerer und unregelmäßiger, sie sinken zum Teil tiefer zwischen die Spermatocyten herab, zum Teil geht auch der regelmäßige, rundliche Wall gegen das Lumen zu verloren; einige fallen sogar in das Lumen. Jedoch nicht nur die architektonische Anordnung der Spermatiden wird gestört, sondern auch die der tieferliegenden Schichten; die Zwischenzellräume der Spermatocyten werden an vielen Stellen breiter, die Zellen verschieben sich; in den entstandenen Lücken liegen dann meistens unreife Spermien und auch degenerierte Spermatidenkerne. Nur die Sertolizellen bleiben zu der Membrana propria, dem Wandbelag „wandständig“, die sonst ziemlich wandständige Anordnung der Spermatogonien lockert sich ebenfalls, die

regelmäßige Reihe wird zerwerfener, mehrreihig; viele von ihnen liegen dann zwischen den Spermatocyten.

Schon am Anfange dieser „architektonischen Zerklüftung“ der Kanälchen erfahren die Spermien morphologische Veränderungen; sie treten in zopfförmigen Bändern zusammen, mit den Köpfen nebeneinander, so daß sie manchmal Riesenspermien mit ganz seltsam großen Köpfen vortäuschen. Es scheinen auch Verschmelzungen der Köpfe vorzukommen; man sieht oft doppelt oder mehrschwänzige Spermien, ohne ungewöhnlich großen Kopf. Form und Größe der einzeln auftretenden Spermien ist auch verändert und man begegnet in sehr großer Zahl unreifen Spermien. Das Bild in den Hodenschnitten gleicht dem in den Nebenhodenausstrichen.

Den Spermienbündeln, besonders deren Köpfen angelagert oder in deren unmittelbaren Nähe, findet man oft Zellreste, die wie angeklebt erscheinen. Die Zellbruchstücke enthalten chromatinhaltiges Material, sie sind strukturiert und enthalten oft gröbere, stark färbbare Körner. Auch *Evans* fand diese im Scheidenpfropf und auch in den Hodenkanälchen an den Spermien haftend; sie sind sowohl in unseren Hodenschnitten als auch in den Ringeraufschwemmungen leicht aufzufinden. Nach *Evans* und *Burr* stammen diese chromatinhaltigen Zelltrümmer von den Sertolizellen, mit denen die Spermienköpfe verschmelzen sollen; durch rapide Abtrennung der Spermien sollen größere cytoplasmatische Massen abgerissen werden. Solche Auflagerungen von Zellfragmenten auf die Spermienbündel geben diesen das Aussehen von ganz ungewöhnlichen Riesenspermien, deren Kopf gewaltig angeschwollen ist. Tatsächlich kann man beobachten, daß Spermien, speziell die Bündeln, zu Verschmelzungen ganz bis zum Wandbelag herabsinken und mit den Sertolizellen Berührung gewinnen; man bekommt den Eindruck, als ob die Spermien gewaltsam Stoffe aus den Zellen, an denen sie haften, an sich reißen wollten; dies scheint im Falle der Sertolizellen auch möglich zu sein, wenn man die angenommene Rolle dieser Zellen in Betracht zieht. Wenn man jedoch die strukturellen Charaktere der Zelltrümmer besser betrachtet, merkt man, daß sie viel Chromatin enthalten; ihr Gesamtbild erinnert eher an das Chromatingerüst der Spermatocytenkerne. Die Sertolizellen sind sehr hell, der Chromatininhalt ihrer Kerne ist in einen Pseudonucleolus, etwa in der Mitte des Kernes, zusammengeballt, der gefärbt als ein stark dunkler Fleck ohne besondere Struktur auffällt, während der übrige, fein strukturierte Kern hell bleibt. Dagegen sind die Spermatogonien- und die Spermatocytenkerne, und speziell diese letzteren, durch die weite Verteilung der Chromatinmassen im ganzen Kern ausgezeichnet. Die an den Samcnfäden haftenden Bruchstücke erinnern nach Größe und Chromatingehalt an die Spermatocytenkerne, wenn auch Bruchstücke anderen Ursprungs nicht ausgeschlossen werden können. Man kann an vielen Stellen der

Kanälchenquerschnitte die Beobachtung machen, daß die Köpfe der Samenfadensbündel ganz unten, neben den Sertolizellen liegen oder an diesen scheinbar sogar haften; sie kommen oft mit der Membrana propria in Berührung. Während aber neben den Samenköpfen die Sertolizellen ganz normal erscheinen, haften an dem etwas weiter nach oben liegenden Teil der Samenfäden schon große Fragmente, und zwar in einer Höhe, die den Spermatocyten entspricht. In keinem der Präparate wird eine Verschiebung der „Begleitzellen“ mit oder ohne

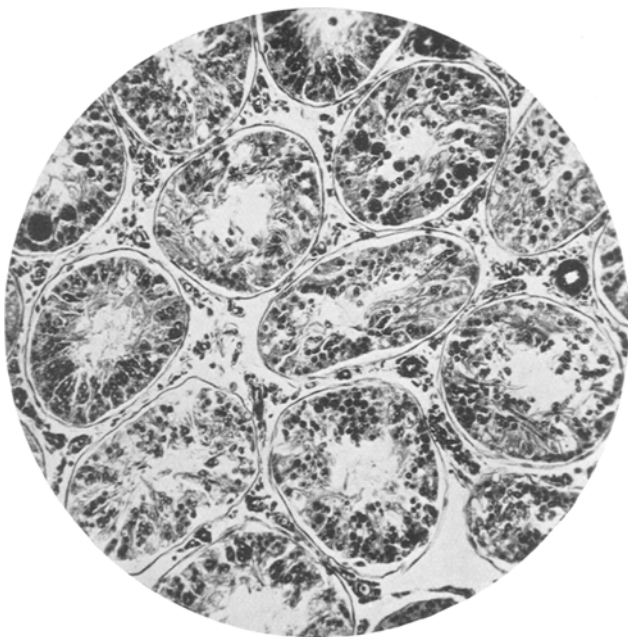


Abb. 5. Hoden eines mit synthetischer Diät, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 148. Versuchstag. Obj. Zeiß Apoehr. 10. Okul. Homal I. Vergr. 110fach.

Zusammenhang mit den Samenfäden aus ihrer „wandständigen“ Lage beobachtet; ebensowenig kann mit Sicherheit das Haften der Samenfäden an diesen Zellen behauptet werden. Wo die Spermienköpfe mit Zelltrümmern beladen sind, liegen sie nie weit peripher den Sertolizellen an, sondern reichen nicht weiter als bis zu den Spermatogonien.

Die ersten Kernveränderungen der Spermatiden werden ziemlich frühzeitig, fast parallel mit der architektonischen Zerklüftung der Samenkanälchen, beobachtet. Es geht in ihnen eine Art Chromatolyse vor; das Chromatin wird ganz homogen, in der Mitte der Kerne dünn, mit einer stärkeren Ansammlung der färbbaren Masse am Rande. Ein Teil des gelösten Chromatins tritt in den Zelleib hinaus, der jetzt dunkler wird und grobe klumpige Einschlüsse enthält. Nur ganz am Anfange

des rückschrittlichen Vorganges wird Spermienbildung beobachtet; die Weiterdifferenzierung führt zu unreifen Spermienformen. Die Anordnung der Spermatiden wird immer unregelmäßiger, sie treten an verschiedenen Stellen der Kanälchen in Gruppen zusammen und durch Zusammenfließen der Protoplasamassen bilden sie typische Riesenzellen. Diese Riesenzellen sind von sehr regelmäßiger Kugel- oder Eiform und enthalten eine größere Anzahl — bis zu 50 etwa — randständiger Kerne.

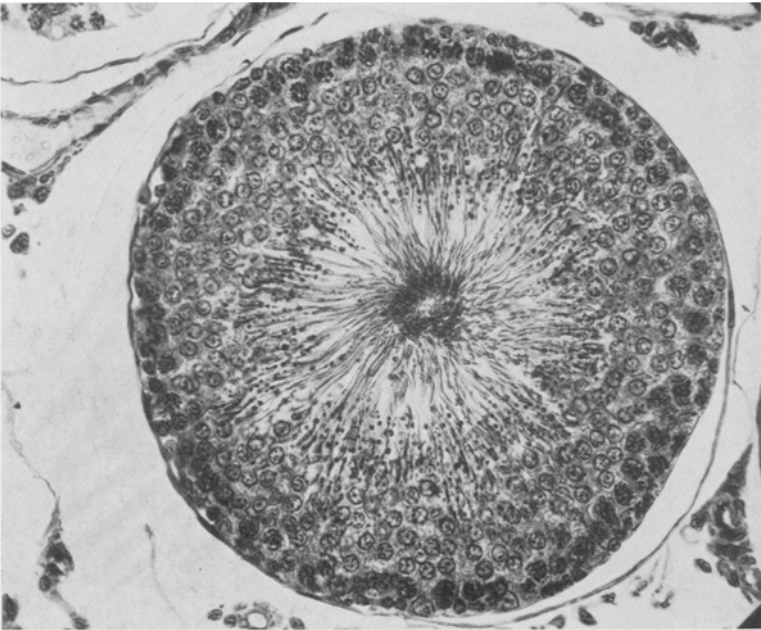


Abb. 6. Samenkanälchen eines mit synthetischer Diät, nebst Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 153. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 20. Okul. Homal 1. Vergr. 300fach.

An gröberen Schnitten kann man bei binokularer Untersuchung die geometrische Anordnung der Kerne gut beobachten: sie schließen regelmäßige Kugeln ein, deren Lumen eine ziemlich dunkel gefärbte, nur spärlich mit grobk lumpigen Massen durchsetzte, sonst aber schon ziemlich homogene Substanz bildet. Neben diesen ganz großen kugelförmigen Riesenzellen findet man kleinere, die, unregelmäßig verteilt, zwei bis mehrere Kerne enthalten. Die Bildung von Riesenzellen aus den pyknotischen Spermatidenkernen ist die allerauffallendste Erscheinung in den durch E-Vitaminmangel geschädigten Hodenkanälchen. In vielen Kanälchen, in welchen die weiter basal liegende Schichten, nämlich die der Spermatocyten und der Spermatogonien schon abgestorben sind, herrschen neben den noch immer wohl erhaltenen Sertoli-

zellen nur noch die pyknotischen Spermatidenkerne und die Riesenzellen vor. Diese stellen keinesfalls einen Wiederherstellungsversuch dar, sie haben keine weiteren Entwicklungsmöglichkeiten, sie entstehen nie durch überstürzte Kernteilung; es scheint aber, das Zusammentreten der Kerne in Riesenzellen schützt sie gegen endgültige Auflösung. Aber nicht alle Spermatiden bilden Riesenzellen; man sieht zerstreut überall haufenweise oder einzeln zerfallene Kerne, die zum größten Teil aufgelöst werden; nur wenige überdauern mit den Riesenzellen zusammen.

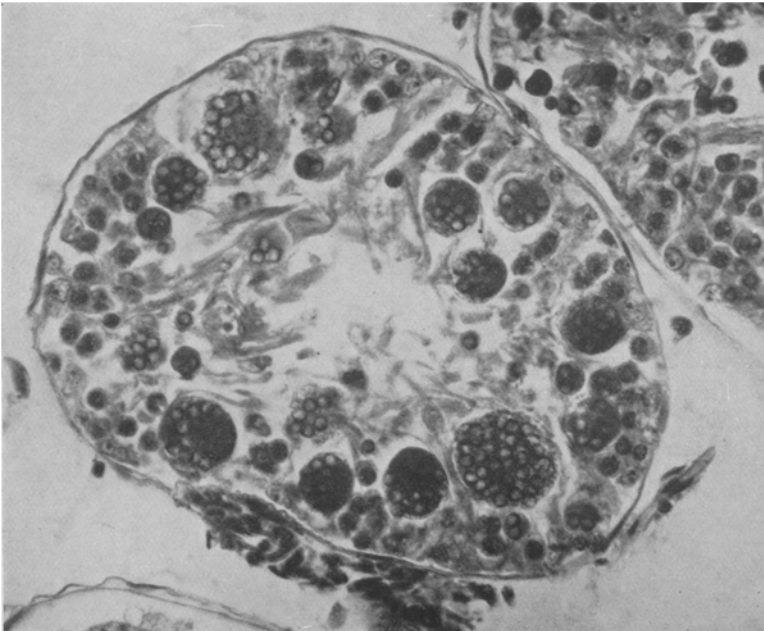


Abb. 7. Samenkanälchen eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 153. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 20. Okul. Homal I. Vergr. 300fach.

Mit der Degeneration der Spermatiden treten gleichzeitig auch in den Spermatogonien und in den Spermatocyten Veränderungen auf.

Die Spermatogonien gehören zu jenen Elementen des generativen Samenepithels, die gegenüber den E-Avitaminoseschäden sich relativ resistent erweisen. Sie verhalten sich jedoch sehr unregelmäßig. Oft findet man ihre Kerne wohl erhalten, mit ziemlich oft wiederkehrenden Teilungsfiguren, insbesondere in Kanälchen, in welchen die Spermatiden ganz fehlen; dies ist jedoch der seltenere Fall. Meistens zeigen die Spermatogonien recht bald Schädigungen und gehen nach oder mit den Spermatocyten gleichzeitig zugrunde; man findet sie nicht mehr, nur noch die Sertolizellen und Spermatidenriesenzellen sind vorhanden.

Die Spermatogonienkerne erfahren meistens Chromatolyse und man sieht recht frühzeitig in der Reihe der wohl erhaltenen Spermatogonien abgestorbene Zelleiber,

deren Kerne kaum mehr zu erkennen sind; diese erscheinen als klare leere Gerüste, die vom übrigen Zelleib kaum zu unterscheiden sind. Andere Kerne sind durch Wandhyperchromatose ausgezeichnet. In diesen Kanälchen scheinen die noch normal erhaltenen Spermatogonien ihre Teilungstätigkeit eingestellt zu haben, auch wenn sie noch kein Zeichen des Absterbens aufweisen. Aber die in immer größerer Zahl auftretende Pyknose weist auf die Atrophie und das Absterben der Elemente hin.

Bei der fortgeschrittenen Nekrose des Keimepithels werden einige, jedoch sehr seltene Riesenzellen aus Spermatogonien gefunden. Diese entstehen scheinbar nicht nur symplasmatisch, wie die Spermatidenriesenzellen, sondern wahrscheinlich

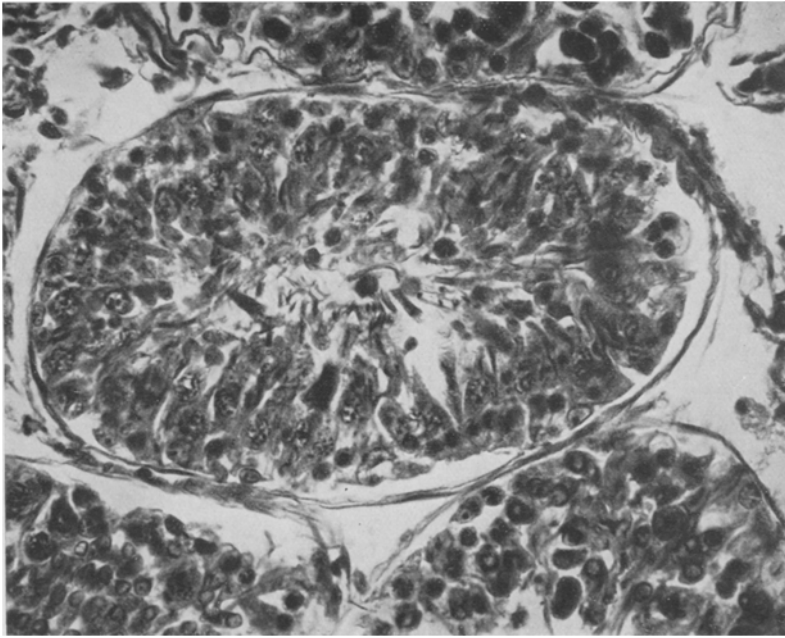


Abb. 8. Samenkanälchen eines mit synthetischer Diät, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 65. Versuchstag. (Obj. Zeiß Apochr. 20. Okul. Homal. I. Vergr. 300fach.)

auch durch überstürzte Kernteilungen. Sie enthalten nur sehr wenige, 2–6 pyknotische Kerne, ihr Protoplasmahof ist auch durch eine „Pyknose“ ausgezeichnet: er ist hellrot, kaum etwas strukturiert und erscheint ziemlich homogen.

Von den verschiedenen Arten des Keimepithels sind die Spermatocyten gegenüber E-Avitaminose am empfindlichsten, sie verschwinden am schnellsten restlos. Dabei ergibt sich auch die Tatsache, daß die Spermatogonien längere Zeit verharren können, ohne sich mitotisch weiter zu differenzieren. Währenddessen gehen in vielen Kanälchen die Spermatocyten weiteren Differenzierungen entgegen; sie werden also einerseits nicht neu gebildet, andererseits gehen sie in weitere Zellformen über, so daß oft die bemerkenswerte Erscheinung beobachtet wird, daß an die ziemlich unregelmäßige Schicht der Spermatogonien sogleich die Spermatiden anschließen. Somit erleidet das Samenepithel eine bedeutende Verminderung seiner Höhe, es

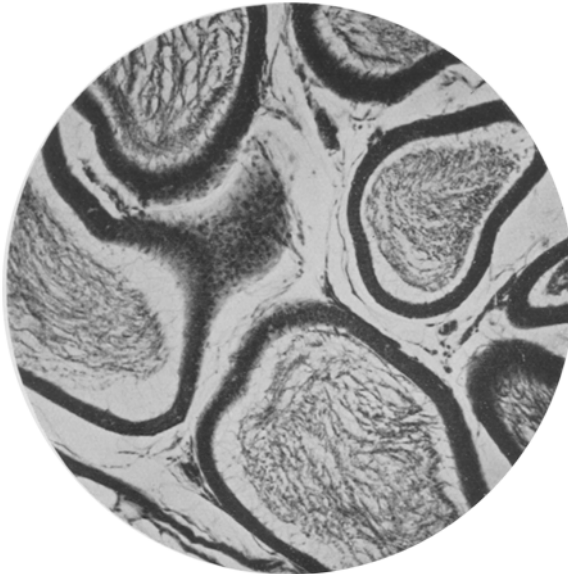


Abb. 9. Nebenhoden eines mit synthetischer Kost, nebst Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 120. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 10. Okul. Phoku-Negativlinse L. Vergr. 150fach.

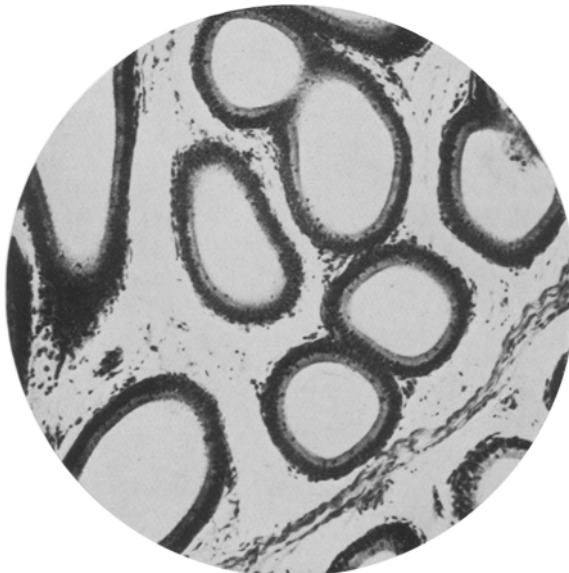


Abb. 10. Nebenhoden eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 120. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 10. Okul. Phoku-Negativlinse L. Vergr. 150fach.

schrumpft. In anderen Kanälchen scheint die Weiterdifferenzierung zu den Spermien stattgefunden zu haben, während die Spermatogonien in Ruhe verharren; in diesen Kanälchen ist das Samenepithel sehr niedrig und über der ziemlich dünnen Schicht der Sertolizellen und Spermatogonien liegen nur in mehr oder weniger großer Zahl abnorme Spermien, deren größter Teil unreife Formen darstellen.

Meistens geschieht jedoch die Atrophie und Nekrose der Spermatocyten gleichzeitig mit der allgemeinen „Depopulation“ der Samenkanälchen. Die anfangs zahlreichen Mitosen werden ganz eingestellt, oder es zeigen sich anfänglich atypische Teilungsfiguren. Die Kerne werden pyknotisch, die Chromatinmassen treten zu großen dicken Klumpen zusammen; man begegnet den verschiedensten Phasen der Karyorrhexis. Das Protoplasma wird hell, nimmt den Farbstoff kaum noch auf und bekommt ein homogeneres Aussehen. Bald stellen sich hierzu Erscheinungen der Karyolyse ein. Die Spermatocytenleichen werden eigentlich nicht abgestoßen, sie werden nie im Lumen der Kanälchen gefunden. Nur ihre Kerntrümmer, teils mit Zeichen der Pyknose oder Chromatolyse, gelangen oft an den Samenfäden haftend in das Lumen und steigen gegen den Nebenhoden zu ab.

Zusammenfassend ist also festzustellen, daß bei dem durch E-Avitaminose bedingten Prozeß erst die Spermatocyten und Spermatogonien der Atrophie und Nekrose anheimfallen; die Spermatidenkerne und die Spermien am längsten widerstehen, sie sind immer noch nachzuweisen, wenn von den mittleren Zellen jeder Rest schon verschwunden ist. Im weiteren Verlauf des Prozesses werden auch die Spermatidenkerne und die Spermien verflüssigt und es bleibt nur noch der nackte Wandbelag mit noch ganz normal erhaltenen Sertolizellen zurück.

Aber nicht in jedem Kanälchen läuft der Depopulationsvorgang so ab. Die Entartung zeigt oft andere Charaktere, die aber nicht von Hoden zu Hoden sich ändern, vielmehr findet man im gleichen Hodenquerschnitt verschiedene Typen der Veränderungen.

In einigen Kanälchen verschwinden die scheinbar so widerstandsfähigen Spermatiden spurlos und man begegnet dennoch relativ gut erhaltenen Schichten der übrigen Elemente. Die Spermatogonien werden mehrschichtig, über diesen liegen in großer Zahl relativ noch gut erhaltene Spermatocyten. Der größte Teil dieser Gebilde trägt schon die Zeichen der Nekrose, mehrere sind abgestorben, sie überdauern dennoch die Spermatiden, deren Kerne sonst in den meisten Kanälchen sich sehr widerstandsfähig erweisen und die vorherrschenden Teile bleiben. Bei dieser Anordnung der Nekrose findet man viele, verhältnismäßig gut erhaltene Samenfäden, meistens in Bündeln, deren Köpfe bis zur Basis des Epithels herabsinken, während ihre langen, fadenförmigen Schwänze in das Lumen hineinragen. In den Spalträumen zwischen den Zellen findet man zahlreiche nekrotische oder noch gut erhaltene, aber unreife Spermien. Aber auch in diesen Kanälchen ist der Ausgang gleich wie in den anderen: die Spermien und die übrigen Elemente verschwinden bis zu der Membrana propria und den noch wohl erhaltenen Sertolizellen, die überall ungeschädigt bleiben.

Wiederum andere Charaktere zeigt der Depopulationsvorgang in einem ziemlich selten gefundenen Bild, das allem Anschein nach einen mißlungenen Wiederherstellungsversuch darstellt. Dieses Bild wurde an verschiedenen Stellen verschiedener Hoden gefunden, inmitten von Kanälchen mit den typischsten Absterbeerscheinungen. Das Samenepithel ist bis auf die Sertolizellen und den Spermatogonien verringert; über diesen nur einige Spermatocytenleichen. Die Spermatogonien zeigen, meistens in einem ziemlich umschriebenen Bezirk, haufenweise Mitosen mit

den typischsten und schönsten Kernteilungsfiguren, die jedes Zeichen des Pathologischen vermissen lassen. Nur gegen das Lumen zu scheinen die letzten Teilungsfiguren, insofern das sich mit Sicherheit behaupten läßt, ungewöhnlich zu sein. Während die übrigen Teilungsbilder, wohl im vierten Monat der Avitaminose, auch in ihrer formellen Schönheit und Symmetrie auffallen, erscheinen die Teilungsfiguren nahe dem Lumen geschädigt; sie sind nicht mehr bipolar, die Chromatinteilehen sind von verschiedener Größe, oft klumpig oder zu einer unregelmäßigen Masse verschmolzen, in der kaum mehr die Teilungsorientierung zu erkennen ist.

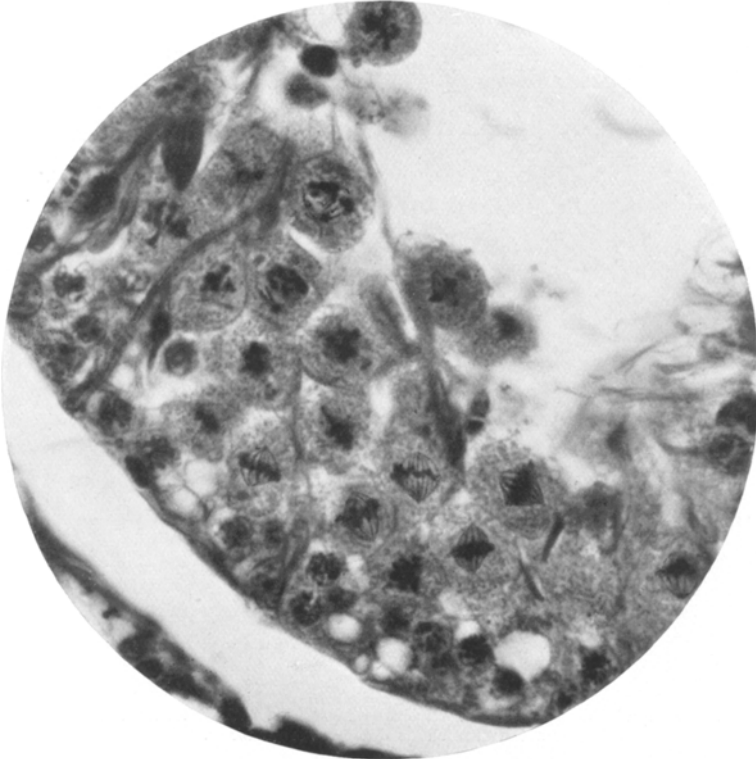


Abb. 11. Samenkanälchen eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 120. Versuchstag. Obj. Zeiß Achr. 4. Okul. Phoku-Negativlinse H. Vergr. 650fach.

Diese isoliert und fast nur gelegentlich auftretende Erscheinung ist schwer zu erklären. Es ist nicht leicht zu bestimmen, wie lokal ein starker Wucherungsreiz, inmitten einer Umgebung, die alle Zeichen des Absterbens zeigt, entsteht. Wahrscheinlich treten diese Teilungen nach einer ziemlich langen Latenz auf, wofür das Fehlen der weiter entwickelten Zellen spricht.

Aber auch dieses Aufflackern der Lebenstätigkeit im Bilde einer üppigen Wucherung führt zu abortiven Teilungen. Wiederbesetzung auch nur einzelner Teile der betreffenden Kanälchen wird nie beobachtet; die die Wucherung fördernde Kraft wird scheinbar plötzlich erschöpft und an die Stelle der Regeneration tritt wiederum die Nekrose und Verödung der Kanälchen. Diese letzteren Typen der

Entvölkerung der Hodenkanälchen, die, wie schon gesagt, äußerst selten getroffen werden, führen zu den gleichen Ergebnissen, wie in den übrigen Samenkanälchen, nämlich zum Schwund des Samenepithels. Die Verödung der Kanälchen tritt auch in diesen Fällen auf, trotz der Regenerationstendenz, wie in den übrigen Kanälchen. Solche verödete Kanälchen sind von anderen umgeben, die noch in großer Zahl Spermatidenkerne und Riesenzellen enthalten.



Abb. 12. Samenkanälchen eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenmännchens am 93. Versuchstag.

Auf die Frage, wie in dem absterbenden Samenepithel plötzlich Regenerationserscheinungen entstehen, eine befriedigende Antwort zu geben, gelang uns vorläufig nicht. Die Tatsache dagegen, daß in einigen Kanälchen die Spermatiden ganz verschwinden, während in anderen Kanälchen eben diese Gebilde als die widerstandsfähigeren sich erweisen, glauben wir dadurch erklären zu können, daß im allgemeinen das frühzeitige Verschwinden einzelner Zellformen während der E-Avitaminose nicht erst durch ihr Absterben und ihre Auflösung bedingt wird, sondern durch ihre Weiterdifferenzierung, während die zu ihnen führende Zellform an ihrer Weiterdifferenzierung schon verhindert ist. Die Spermatiden gehen wahrscheinlich eben wegen ihrer größeren Widerstandsfähigkeit

in die Spermien über, während die Spermatoocyten an ihrer Weiterdifferenzierung schon verhindert werden. Ähnlich verschwinden wahrscheinlich auch die Spermatoocyten, obwohl sie schon frühzeitig der Nekrose ausgesetzt sind.

Eine vollkommene Verödung sämtlicher Kanälchen eines Hodens bis zum Wandbelag und zu den Sertolizellen haben wir nie beobachtet, obwohl einige unserer Tiere bis zu 9 Monaten der E-Avitaminose ausgesetzt waren. Ob eine derartige „Entvölkerung“ überhaupt zu erreichen ist, werden unsere weiteren Versuche lehren.

Die Sertolizellen zeigen — wenigstens nach 8–9 Monate E-Avitaminose, oder besser gesagt, während unserer Versuchsdauer — keine erkennbaren morphologischen Veränderungen. Sie bleiben durch die ganze Zeit hindurch wandständig und wenn vielfach behauptet wurde, daß ihre Kerne von den Spermatogonienkernen unter Umständen schwer zu unterscheiden und deshalb mit den letzteren leicht zu verwechseln sind, ist diese Möglichkeit in unseren Präparaten praktisch meistens schon frühzeitig auszuschließen, da die Spermatogonien Veränderungen erfahren, welche die Unterschiede noch klarer hervortreten lassen. Die Spermatogonien verlassen ihre enge Anordnung am Wandbelag, während die Sertolizellen wandständig bleiben. Um sie erscheinen Spermatogonienleichen. Die Frage, ob diese morphologische Unversehrtheit der Sertolizellen auch im Sinne ihrer funktionellen Tüchtigkeit gewertet werden darf, wollen wir in der folgenden Besprechung der Regenerationsvorgänge der teilweise verödeten Kanälchen unter Zufuhr größerer Mengen E-Vitamins näher behandeln. Es ergibt sich hierbei nämlich wiederum die Frage, ob die Wiederbesetzung der verödeten Kanälchen nur von den Spermatogonien ausgehen kann, oder auch von den Sertolizellen? Diese Frage können wir vorläufig nur dahin beantworten: wir haben Regeneration bis jetzt nur in Hodenkanälchen beobachtet, in denen noch teilungsfähige Spermatogonien zu finden waren. In Hoden, wo nur noch die Sertolizellen intakt waren, fehlte trotz größerer E-Vitamingaben jede Neigung zur Repopulation.

Überblickt man die Vorgänge in den Hodenkanälchen während der E-Avitaminose, so wird man ersehen können, daß eine Regelmäßigkeit in der zelligen Empfindlichkeit gegenüber der Schädlichkeit nicht besteht. Es zeigen sich vor allem zeitliche Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit einzelner Kanälchen: in den verschiedenen Gegenden des Hodens wird der Entartungsvorgang nicht gleichzeitig offenbar. Es zeigt sich aber auch ein Artunterschied im Ablauf des Prozesses selber; in den meisten Kanälchen erweisen sich die Spermatisden als die widerstandsfähigsten Gebilde des Samenepithels (die Sertolizellen selbstredend abgerechnet), während in einigen Kanälchen eben diese Elemente am schnellsten verschwinden. Wir haben uns die Vorstellung gemacht, daß, während ihr Schwund einerseits durch ihre Weiterdifferenzierung bedingt wird, andererseits ihre Neubildung schon eingestellt ist. Die Frage bleibt offen, warum die Schädlichkeit so ungleichmäßig die Wucherungsfähigkeit beeinflußt.

Der intergenerative Anteil des Hodens, das sog. Zwischengewebe, enthält bei den Ratten praktisch kein faseriges Bindegewebe, sondern außer reichlichen Gefäßen fast ausschließlich *Leydigsche* Zwischenzellen. Das Verhalten dieses Gewebes in unseren Versuchen verdient wegen seiner umstrittenen Stellung in der Frage nach den inkretliefernden Bestandteilen

der Keimdrüsen, welche speziell an Röntgenhoden untersucht worden sind, eine gewisse Beachtung. Eben durch die Isolierung des Zwischengewebes durch Absterben des Keimepithels eignet sich der E-Avitaminosehoden gleichfalls zur Inangriffnahme dieses Problems. Ebenso wie bei den Röntgenhoden erfahren die *Leidigschen* Zellen auch in den Hoden unserer Versuchstiere keine Verminderung oder Degeneration. Nun fanden aber *Schinz* und *Slotopolsky* bei den Röntgenhoden, in welchen das Samenepithel der Kanälchen vollständig zerstört wurde, eine Zunahme der Zwischenzellen von über 250%. Es wäre evtl. denkbar, daß durch Absterben des Samenepithels wachstumsfördernde Stoffe frei werden, deren Vorhandensein besonders durch die Methode der Gewebezüchtung vielfach erwiesen worden ist, um nur die Nekrohormone der Pflanzenzellen nach *Haberlandt* zu erwähnen, die neben dem „ex vacuo“-Reiz dem Zwischengewebe zugute kämen. In diesem Falle müßte man aber in dem betreffenden Gewebe an den Zellen die Wirkung des Wucherungsreizes — im Bilde sehr häufiger Mitosen — einwandfrei nachweisen können, was bei den Röntgenhoden unseres Wissens nicht geschah. Eine gesteigerte Wucherung, die binnen etwa 30—35 Tagen zu einer Vermehrung auf das Zweieinhalbfache führt, wie das bei den Röntgenhoden von *Schinz* und *Slotopolsky* der Fall sein sollte, scheint uns auch bei den Röntgenhoden nur durch Unzulänglichkeit der Meßmethoden vorgetäuscht zu sein. Nach unserer Auffassung sind weder die älteren Methoden, wie z. B. die von *Bergonié* und *Tribondeau*, noch die *Stievesche* Methode oder die von *Schinz* und *Slotopolsky* abgeänderte Methode *Stieves* geeignet, über die Mengenverhältnisse auch nur ein annähernd genaues Urteil zu gestatten. — Wir wollen uns auf diese Frage zunächst nicht näher einlassen.

Wir müssen zugeben, daß es uns in unseren Versuchen noch nicht gelungen ist, jeden Rest des Samenepithels bis zu dem Wandbelag und den Sertolizellen abzubauen: eine Voraussetzung, ohne welche die aus den Beobachtungen gezogenen Schlüsse nur bedingten Wert haben können. Es haben schon *Evans* und *Burr* das geschlechtliche Verhalten der Rattenmännchen in der E-Avitaminose gegenüber normalen brünstigen Weibchen beobachtet und konnten das Bestehen der geschlechtlichen Tätigkeit meistens auch in der Zeit noch beobachten, wo im Scheidenpfropf keine Spermien mehr vorhanden waren. Dies schließt aber keinesfalls das gleichzeitige Bestehen des restlichen Samenepithels aus, das für die geschlechtliche Tätigkeit verantwortlich gemacht werden konnte. Es handelt sich bei diesen Tieren sonst stets um erwachsene Tiere, bei denen das Erlöschen jeder geschlechtlichen Begierde auch nach Kastration nur ziemlich spät eintritt.

Von dem Nebenhoden ist nur soviel zu sagen, daß seine Wandung keine Veränderungen erfährt; auch nicht, wenn das Samenepithel schon ganz zerstört ist. Er wird nur weniger prall und etwas kleiner. Anfangs gehen die pathologisch veränderten Samen in den Nebenhoden über,

und man findet sie hier in der beschriebenen Form. Später aber werden sie immer spärlicher, bis jeder Rest der Spermien verschwindet: es findet kein Übertritt von spermienhaltigem Material in den Nebenhoden statt.

Das histologische Bild zeigt in diesem Falle ganz normale Verhältnisse, ohne das geringste Zeichen krankhafter Zellveränderungen, nur die Lichtungen der Kanälchen sind etwas eng, darin zellfreie, klare Flüssigkeit.

Unsere Erfahrungen zeigen, daß sich aus dem histologischen Bild des Hodens keine „Stadien“ der Avitaminoseschädigung aufstellen lassen, da in den verschiedenen Kanälchen der Entartungsvorgang nach Grad und Art verschiedenerweise fortgeschritten ist. Dagegen läßt sich, ähnlicherweise wie das von *Evans* gemacht worden ist, eine praktische Einteilung aus dem Nebenhodenbefund erzielen. Wir teilen die Phasen des Zerfallsvorgangs im Hoden aus praktischen Gründen folgendermaßen ein:

1. *Übertritt von morphologisch und funktionell normalen Spermien in den Nebenhoden*; diese Phase bedeutet Fruchtbarkeit des Männchens.

2. *Übertritt von morphologisch und funktionell minderwertigen Spermien in den Nebenhoden*. In dieser Phase sind die Rattenmännchen schon unfruchtbar.

3. *Kein Übertritt von spermienhaltigem Material in den Nebenhoden*; die Nebenhodengänge sind ganz leer.

Die erste Phase beweist jedoch keinesfalls eine Unversehrtheit des Hodens; wir finden in den Hoden Veränderungen schon lange bevor die Spermien ihre Beweglichkeit einbüßen; während einige Kanälchen offensichtliche Zeichen der Schädigung aufweisen, kann in anderen Kanälchen eine ganz normale Samenbildung vor sich gehen.

Neben örtlichen Unterschieden in der Widerstandsfähigkeit gegenüber dem schädigenden Faktor gibt es auch individuelle; verschiedene Tiere erreichen die drei Stadien der Atrophie nicht nach gleichlanger Zeit; jüngere Tiere pflegen die schweren Schädigungen früher zu zeigen als erwachsene.

Eine vollkommene Widerstandsfähigkeit wurde nicht beobachtet. Sämtliche Tiere wurden innerhalb einer in mäßigen Grenzen wechselnden Zeit unfruchtbar, nämlich in weniger als 5 Monaten. Die Versuche haben, insofern man die gegebenen Vorbedingungen einhält, mit keinen „Unsicherheitsfaktoren“ zu rechnen, sie geben eine „Ausbeute“ von 100%.

Trotz des Fehlens jeder morphologischen Beschreibung der E-Avitaminoseschäden bei den Rattenhoden in der Monographie von *Evans* und *Burr* ist es aus den darin gebrachten Abbildungen ersichtlich, daß unsere histologischen Präparate denen der genannten Forscher vollkommen gleichen; somit stimmen unsere Ergebnisse mit denen von *Evans* und *Burr* überein. Gegenüber dieser Übereinstimmung in den Ergebnissen stehen die Versuchsergebnisse *Bisceglies* in Gegensatz,

der die morphologischen Veränderungen in den Samenkanälchen seiner Versuchstiere folgendermaßen beschreibt¹:

Ratte, 50 Tage E-Avitaminose: „Die Keimlinie zeigt, wie normalerweise, die bekannten Schichten gut differenzierter Zellen. Im Lumen der Kanälchen dagegen wird eine Armut an Spermatozoen gefunden, die an manchen Punkten hochgradig ist. In anderen Kanälchen begegnet man dagegen schon evidenten Läsionen im Keimepithel, speziell der Spermatiden und Spermatocyten. Das Protoplasma der letzteren wird opaker, der Kern hypertrophisch und schwer färbbar. Sonst fallen viele dieser Elemente aus der Linea seminalis ab und bilden im Lumen der Kanälchen größere oder kleinere Ballen (Ammassi)“.

Ratte, 80 Tage E-Avitaminose: „Die Zahl der Spermatozoen ist im Lumen der Kanälchen noch mehr vermindert, fast ganz verschwunden. Der Kern der Spermatocyten wird noch schwerer färbbar und eine größere Zahl dieser Zellen fällt aus der Linea seminalis, um sich im Lumen zu sammeln. An den Spermatogonien werden keine Veränderungen beobachtet“.

Ratte am 120. Versuchstag: „— keine Spur von Spermatogenese. Spermatiden und Spermatocyten, in deren Kernen keine Chromatinzeichnung mehr zu unterscheiden ist, schupfen ab und sammeln sich in mehr oder weniger großen Massen im Lumen der Kanälchen“. Am 170. Versuchstag sind „die Läsionen so tiefgreifend, daß von den Hodenkanälchen nichts mehr übrig bleibt als die Basalmembran, an der noch hier und dort einige isolierte Zellelemente haften“.

Nicht nur diese Beschreibung, sondern auch die beigelegten Abbildungen geben keine Auskunft über Ursache und Herkunft der hier beschriebenen Veränderungen, die weder mit den Befunden der amerikanischen Forscher, noch mit den unsrigen die geringste Übereinstimmung aufweisen. Es ist uns die Annahme naheliegend, daß es sich bei den Ratten *Bisceglies* um eine andere Art Hodenatrophie, wahrscheinlich um eine Hungeratrophie mit oder ohne Mitbeteiligung der E-Avitaminosefaktoren handelte.

Diese unsere Vermutung erhält eine Stütze durch *Bisceglies* Tabelle der Körpergewichte seiner Versuchstiere. Innerhalb 7 Monaten etwa, ausgegangen von Körpergewichten von 128—170 g, wird bloß ein Verlust an Körpergewicht vermerkt, die Tiere erreichen während der ganzen Versuchszeit nie ihr ursprüngliches Gewicht. Und dies in einem Lebensabschnitt, in welchem diese Tiere ihr Körpergewicht verdoppeln sollten.

Der Widerspruch zwischen den Ergebnissen *Bisceglies* und denen aller übrigen Forscher, inbegriffen den unsrigen, wird noch krasser, wenn man seine an den Rattenweibchen gewonnenen Versuchsergebnisse betrachtet.

Ergebnisse an Rattenweibchen.

Unsere Beschreibungen beziehen sich auf Untersuchungen von 23 Rattenweibchen, neben 14 Vergleichstieren, die die beschriebene synthetische Kost erhielten; sie wurden für die 4 verschiedenen Kostformen wie folgt eingeteilt:

¹ *Bisceglie, V.:* La vitamina della fertilità. Boll. Soc. med.-chir. Modena 1927, 1.

Diät	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Vergleichstiere	Zahl der unfruchtbaren	
			Versuchstiere	Vergleichstiere
I.	8	5	8	0
II.	5	3	5	0
III.	5	3	5	0
IV.	5	3	5	0

Die 14 Vergleichstiere wurden mit gleich zusammengestellten Diät plus Weizenöl ernährt. Die Tiere wurden in gesonderten Käfigen gehalten und die brünstigen Tiere von Zeit zu Zeit auf einige Stunden mit normalen Männchen zusammengebracht.

In dieser Mitteilung, die ausschließlich die morphologische Beschreibung der Veränderungen an den Keimdrüsen bezweckt, wollen wir auf die außerordentlichen Mangelercheinungen nicht eingehen. Kurzgefaßt sei nur so viel gesagt, daß die Fruchtbarkeit der E-Avitaminose-Rattenweibchen in den ersten 2 Monaten auf etwa 65% der Vergleichstiere herabsinkt, in den folgenden 2 Monaten auf 20%; in den noch späteren Monaten — bis gegen den 6. Monat — werden sie ganz unfruchtbar. In den ersten Monaten sterben die Jungen bald nach der Geburt. In dem 4. Monate werden sie meistens schon lebensunfähig geboren. Die Zählung der Neugeborenen kann zu Irrtümern führen, da die Tiere ihre Jungen in großer Zahl auffressen. Nicht etwa wegen Vitaminhunger, da auch die Vergleichstiere in gleich großer Zahl ihre Jungen auffressen; wahrscheinlich tun sie das, um die Eintönigkeit der Kost zu ändern. In den späteren Monaten sterben die Früchte nach anfänglicher Entwicklung ab und werden im Uterus aufgesaugt. Die Eibildung, Einnistung und Befruchtung geschieht normal, die Embryonen zeigen dagegen Unterentwicklung, die sich sowohl im Mesoderm, als auch im Entoderm erkennbar macht. Die Ausbildung der Allantois ist gehemmt, die Placenta bleibt bis zum intrauterinen Tod normal und überlebt sogar die Frucht. Bei den Vergleichstieren werden die Früchte ausgetragen und die Jungen wie bei Normalkost aufgezogen.

Es wäre naheliegend daran zu denken, daß diese Unfruchtbarkeit der Weibchen durch pathologische Veränderungen im Eierstock bedingt wird, oder daß solche Veränderungen mit der Unfruchtbarkeit Beziehungen haben. Diese Veränderungen könnten aber keinesfalls tiefgreifend, sondern müßten unbedingt reversibel sein, da bei Darreichung des E-Stoffes in Form von Weizenöl die Fruchtbarkeit sofort eintritt, die Weibchen tragen ihre Früchte wieder aus und können ihre Jungen wie normale Weibchen aufziehen. Die Heilung der E-Avitaminose-unfruchtbarkeit mit dem E-Stoff ist unabhängig von der Dauer der E-vitaminfreien Ernährung; die eingetretene Schädigung bleibt immer umkehrbar. Gegenüber der erwähnten Annahme haben die amerikanischen Forscher schon nachgewiesen, daß in den Eierstöcken während der

E-Avitaminose keine Veränderungen auftreten; die Ursache der Unfruchtbarkeit liegt außerhalb der Ovarien. Weder in der Ovulation, Einnistung, noch in der Befruchtung werden von der Norm abweichende krankhafte Erscheinungen beobachtet.

Diesen Behauptungen stehen wiederum die Ergebnisse *Bisceglies* entgegen, der in den Eierstöcken seiner Rattenweibchen folgende Veränderungen findet:

Rattenweibchen am 97. Tag E-vitaminfreier Ernährung: „In diesen Eierstöcken, die in Serien geschnitten wurden, wurde nicht ein einziger normaler reifer Follikel

gefunden. Der degenerative Prozeß greift auf sämtliche Follikel über, in der die epithelialen Zellen der Granulosa stark degeneriert und fragmentiert sind, während die Reste dem Follikelsaft beige-mengt werden“. Am 134. Versuchstag sind „die Veränderungen den in den vorigen Präparaten ähnlich, d. h. Degeneration der schon reifen Follikel und geringe Bindegewebsreaktion“. Endlich am 170. Versuchstag werden „Läsionen vor allem der Follikel gefunden, mit totaler Degeneration des Keimepithels“.

Weder diese Beschreibungen, noch weniger die mikrophotographischen Aufnahmen geben Aufschluß, um Veränderungen welcher Natur es sich hier handeln konnte. Daher

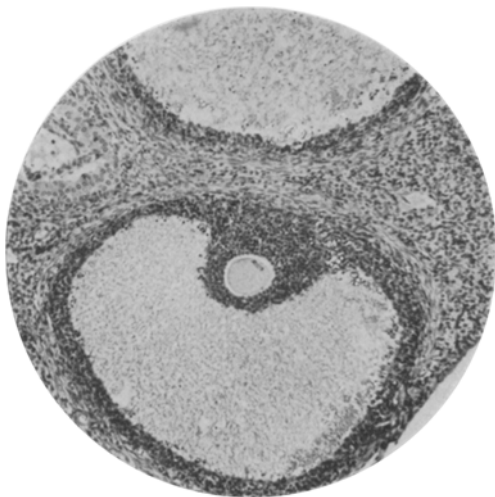


Abb. 13. Normales *Graaf'sche* Follikel im Eierstock eines mit synthetischer Kost, ohne Weizenölkorrektion, ernährten Rattenweibchens am 153. Versuchstag. Obj. Zeiß Apochr. 10. Obul. Phoku-Negativlinse L. Vergr. 90fach.

war es unsere erste Aufgabe an Reihenschnitten nachzuweisen, ob pathologische Veränderungen sich tatsächlich erkennen lassen und im Falle daß diese Frage bejaht werden kann, welche Charaktere diese Veränderungen zeigen.

Die Eierstöcke der größeren, wohl entwickelten grauen Ratten haben einen Längendurchmesser bis 0,5 cm und Breitendurchmesser bis 0,3 cm, während die der jüngeren Exemplare und die der Albinoratten etwas kleiner sind. Normalerweise sind sie grobhöckerig, da die stets in großer Zahl vorhandenen Corpora lutea sich stark vorwölben und sich zwischen ihnen tiefe Einschnürungen bilden. Durch die reichliche Blutversorgung zeigt der Eierstock besonders an der Hilusgegend dunkelrote Färbung, in der die blassen Corpora gut zu unterscheiden sind. Das eigentliche Eierstockgewebe ist quantitativ ganz gering neben den großen Massen der Corpora lutea.

Wird die Ovulation eingestellt so bilden sich keine gelben Körper mehr, der Eierstock wird ganz klein, verliert meistens auch die durch starke Durchblutung erhaltene dunkle Färbung und bekommt eine glatte Oberfläche. Seine Größe kann auch so gering werden, daß man ihn bei Operationen an den Enden der Eileiter suchen muß; man kann ihn von dem umgebenden Gewebe kaum mehr unterscheiden.

Die Eiaufnahme in den Eileiter wird bei den Rattenweibchen durch die geschlossene Eierstockkapsel gesichert, die den Eizellen das Verlassen des Periovarialraumes nur durch die vom Infundibulum umgebene

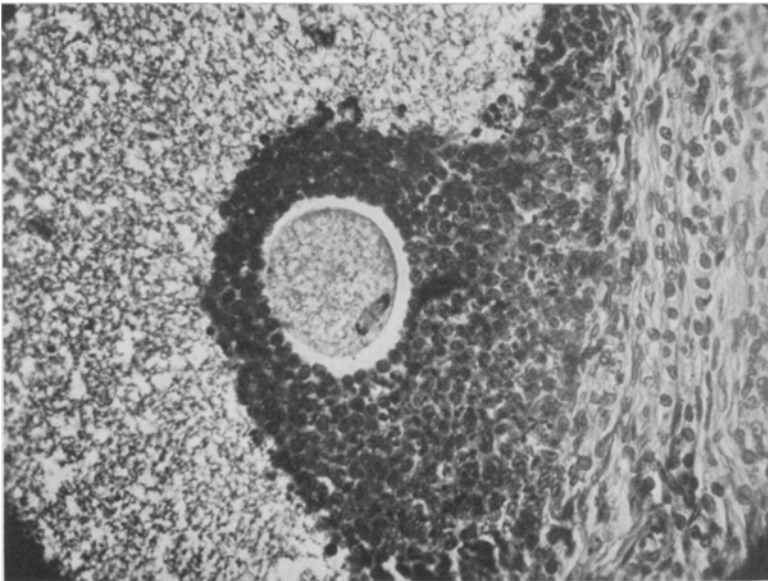


Abb. 14. Normaler Cumulus oophorus mit Ovulum im Eierstock der Abb. 12.
Obj. Zeiß Apoehr. 20. Okul. Homal I. Vergr. 270fach.

kraniale Eileiteröffnung ermöglicht. In den beiliegenden Betrachtungen wollen wir die Eizelle nur bis zur abgeschlossenen Ovulation verfolgen, um zu bestimmen, ob im Eierstock überhaupt morphologisch nachweisbare Veränderungen durch E-vitamin-freie Ernährung hervorgerufen werden.

Makroskopisch ließ sich an den Eierstöcken unserer Versuchstiere nichts Besonderes erkennen. Sie behielten ihre Größe, Farbe und höckerige Gestalt. Schon die Betrachtung mit bloßem Auge wies auf eine vermutlich normale Ovulation, die von der Dauer des Versuches unabhängig war. Auch der Aufhängeapparat, das Ligamentum suspensorium ovarii und das aus glatter Muskulatur zusammengesetzte Ligamentum ovarii prop. wiesen stets normale Verhältnisse auf.

Zur histologischen Bearbeitung wurden die Eierstöcke, gleich wie die Hoden, in Tellyesnitzkylösung, oder in Bouinlösung fixiert und vorwiegend im Stück

mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Mehrere Schnittfärbungen wurden mit Eisen-hämatoxylin verfertigt. Die Methode der Stückfärbung hat bei den Eierstöcken noch bessere Ergebnisse als bei den Hoden, da einerseits das Organ viel kleiner ist, zweitens weil die — wie wir später sehen werden — ungeschädigten Gewebe die Farbstoffe sehr gut binden. Die Organe sind genügend klein, um sie nicht zerstückeln zu müssen, was den Vorteil hat, an den Serienschnitten die Orientierung über die topographischen Verhältnisse leichter zu bewahren.

Die *mikroskopische* Beobachtung der Eierstöcke unserer auf E-vitaminfreier Kost gehaltenen Rattenweibchen wies normale Verhältnisse nach, unabhängig in welchem Zeitabschnitt der Versuche die Eierstöcke

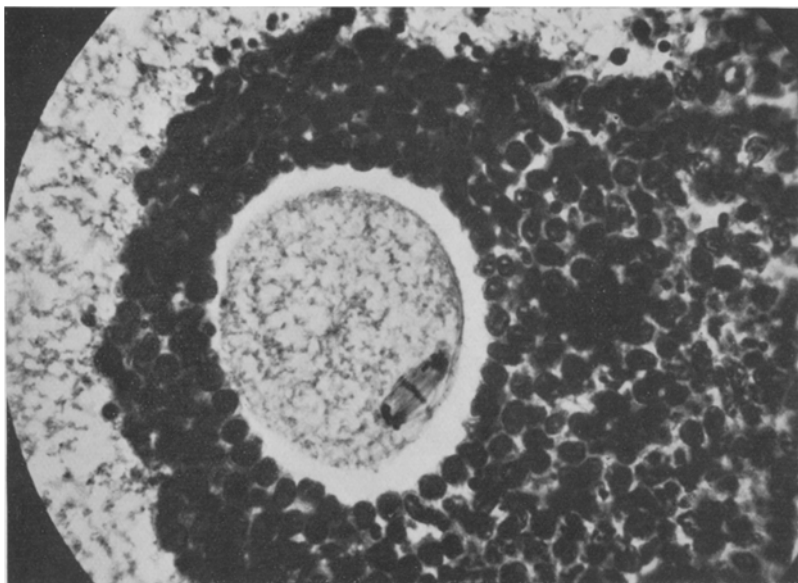


Abb. 15. Ovulum in Reduktionsteilung, ohne Zeichen einer abnormalen Mitose.
Wie Abb. 12. und 13. Obj. Zeiß Achr. 40. Okul. Phoku-Negativlinse H. Vergr. 450fach.

zum Zwecke der histologischen Bearbeitung entfernt wurden. Die Kapsel war stets vollkommen geschlossen. Die in der latero-kranialen Eierstockfläche eintretenden Gefäße sind normalweit, mit Blut gefüllt. Die Zona centralis ist mit reichlichem Stroma gefüllt; in seinen peripheren Teilen sind zerstreut zahlreiche Follikel und Corpora lutea eingebettet. Die Follikel findet man stets in den verschiedensten Reifestadien; sie nehmen, auch in der Zeit vor dem Platzen, im Vergleich zu der Corpora lutea wenig Platz ein. In der Nähe der *Graaf'schen* Follikel, besonders bei den jüngeren Tieren, findet man zahlreiche Primärfollikel, die an vielen Stellen Nester bilden. Das Keimepithel ist tadellos erhalten.

Die Eizelle enthält einen Kern von normaler Größe und Form, an dem deutlich sichtbaren Kernnetz ist auch nichts Verändertes zu

erkennen. In dem Folliculus vesiculosus ist in der nächsten Umgebung der Eizelle eine aus typischen Zylinderzellen bestehende Corona radiata zu sehen, die Granulosa ist dicht geschichtet und auch die Theca folliculi deutlich sichtbar. Nirgends die geringsten Anzeichen einer veränderten Leistung.

Die Beurteilung einer Abweichung in der Mitose bereitet bekannterweise manche Schwierigkeiten, insbesondere da man in den Schnitten verhältnismäßig selten die Eizelle im Teilungszustand zu sehen bekommt. An einigen histologischen Präparaten der Eierstöcke unserer Rattenweibchen, die schon über 4 und 6 Monate an E-vitaminfreier Kost gehalten waren, gelang es uns auch die Teilungsfiguren in den Eizellen zu untersuchen. Die Äquatationsteilungen waren ganz symmetrisch, mit einer sichtlich ganz gleichmäßigen Verteilung der Chromosomenmassen. Die zweite sog. Reduktionsteilung bekamen wir in unseren Schnitten nur ein einzigesmal zu sehen, ohne aber daß daran von der Norm irgendwie abweichende Veränderungen zu sehen waren. Die fertige Eizelle war stets eine vollwertige von normaler Größe. Die Corpora lutea waren von einem Bau und Größe, die man sonst zu sehen gewohnt ist.

Es ergibt sich also, daß in Eierstöcken der Rattenweibchen, die bis über 8 Monate an E-vitaminfreier synthetischer Kost gehalten waren, sich keine pathologische Veränderungen erkennen lassen. Die Ovulation ist vollständig normal. Unsere Beobachtungen an E-Avitaminoseweibchen stimmen mit den Ergebnissen der amerikanischen Forscher, vor allen mit den von *Evans* und *Burr*, vollständig überein und bringen eine Ablehnung der *Bisceglies* Befunde von „tiefgreifenden degenerativen Alterationen, sowohl der männlichen, als auch der weiblichen Keimdrüse“. Die Ergebnisse *Bisceglies* müssen auf andere Ursachen zurückgeführt werden. Es ist jedem Forscher, der sich mit dem Geschlechtsleben der Tiere eingehend beschäftigt hat, bekannt, wie leicht sich Störungen der geschlechtlichen Leistungen einstellen und unerwünschterweise falsche Schlüsse zu ziehen erlauben.

Eben die Tatsache, daß, während bei den Männchen die E-Avitaminose mit einem Nierdengang der Keimdrüsen einhergeht, bei den Weibchen die Eierstöcke ungeschädigt bleiben, ist die beste „Selbstkontrolle“ der eigenen Versuche, um andere schädigende Faktoren mit Sicherheit auszuschließen. Die E-Avitaminose ist der einzige, bis jetzt bekannte, schädigende Faktor der Gonaden, der bloß die männliche Keimdrüse angreift, während er die weibliche Keimdrüse, den Eierstock, unverändert läßt.

Zusammenfassung.

Bei Fütterung von Ratten mit gereinigter, synthetischer Nahrung, in der nur der E-Vitaminfaktor fehlt, entstehen Mangelerscheinungen, die mit den von *Evans* und Mitarbeiter gefundenen übereinstimmen. Bei solcher Ernährung werden sowohl Männchen als Weibchen zur

Erzeugung von Nachkommenschaft ungeeignet. Das hat bei beiden Geschlechtern verschiedene Ursachen. Bei den *Männchen* geht in den Hoden eine Herabsetzung der Lebensvorgänge, bestehend aus Atrophie und Nekrose des Samenepithels, vor sich. Das Samenepithel wird zerstört und man findet letzten Endes die Kanälchen nur noch aus Wandbelag und Sertolizellen bestehend, mit wenigen zerfallenen Kernen der übrigen Bestandteile, insbesondere Spermatidenkerne. Die Sertolizellen und das Zwischengewebe bleiben stets unverändert.

Makroskopisch wird an den Hoden eine Schrumpfung, mit Verlust an Saftgehalt, Turgor und Gewicht verzeichnet.

Bei den *Weibchen* sind die Eierstöcke unverändert und die eingehenden histologischen Untersuchungen, vor allem der Ovulation, lassen jedes Zeichen eines krankhaften Vorgangs vermissen.

Schrifttum.

Bisceglie, V.: Arch. di Biol. **11** (1928). — Riv. Pat. sper. **4**, 192. — *Evans, H.* u. *G. O. Burr*: Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **11** (1925). — (With the assistance of *Th. L. Althausen*): The antisterility vitamin fat soluble E. Univ. of California press, Berkeley 1927. — *Funk, C.*: Die Vitamine. München: J. F. Bergmann 1924. — *Mason, K. E.*: J. Nutrit. **1** (1929). — Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **11** (1925). — *Mattill, H. A.*, *J. S. Carmann* u. *M. M. Clayton*: J. of biol. Chem. **61** (1924). — *Mattill, H. A.* u. *R. E. Conklin*: J. of biol. Chem. **44** (1920). — *McCollum, E. V.* u. *N. Simmonds*: The newer knowledge of nutrition. The Macmillan Co. New-York 1929. — *Stepp* u. *György*: Avitaminosen und verwandte Krankheitszustände. Berlin: Julius Springer 1927. — *Sure, B.*: Dietary requirements for fertility and lactation. I. Bull. Univ. of Arkansas. 1930.
