

Untersuchungen über die Ursache der Schwangerschaftshyperpigmentierung.

Experimentelle Studien über die Einwirkung des weiblichen Sexualhormons Follikulin auf die Pigmentbildung und auf die Brustdrüsen.

Von

Gustav Guldberg, Oslo.

Mit 10 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 17. November 1934.)

Einleitung¹.

Schon lange hat sich die Auffassung geltend gemacht, daß eine Wechselwirkung zwischen der Pigmentierung und dem endokrinen System besteht. Die Pigmentierung bei Morbus Addisoni, bei Thyreotoxikosen und bei Hypophysenerkrankungen deuten darauf hin.

Vor allem aber gehören die weiblichen Geschlechtsdrüsen zu den endokrinen Organen, denen man einen sehr bedeutenden Einfluß auf die Pigmentierung zugeschrieben hat. Man sieht dies am deutlichsten während der Schwangerschaft, die eine von den Bedingungen darstellt, die in stärkstem Grade die Pigmentbildung im Organismus beeinflussen, und bei der man außer den ganz bestimmten örtlichen Pigmentierungen auch unregelmäßig verteilte diffuse Pigmentflecken, die sog. Chloasmata, findet. Aber nicht nur während der Schwangerschaft, die ja im Bereich des Physiologischen liegt, sondern auch bei einer Reihe von pathologischen Zuständen in den weiblichen Geschlechtsdrüsen treten ähnliche Pigmentierungen wie in der Schwangerschaft auf.

Die Anschauungen über die Abhängigkeit der Pigmentierung von den endokrinen Organen aus sind früher rein hypothetisch gewesen, wenn es auch nahelag, die Schwangerschaftshyperpigmentierung auf hormonale Ursachen zurückzuführen und sie mit einer ganzen Reihe der zahlreichen und mannigfaltigen Veränderungen in den endokrinen Organen, die während der Schwangerschaft auftreten, in Verbindung zu setzen. Es stößt indessen auf große Schwierigkeiten nachzuweisen und klarzustellen, in welchem Grade cutane Pigmentveränderungen vom Funktionszustand endokriner Drüsen abhängig sind. Es herrscht auf diesem Gebiet eine große Unsicherheit, und unser Wissen ist in der Hauptsache nach rein empirisch gewesen. Das liegt daran, daß die Methoden zur Diagnose der pathologischen Funktion endokriner Drüsen und die Methoden zum

¹ Diese Arbeit ist ausgeführt worden während meines Studienaufenthaltes von August 1932 bis März 1933 an der Dermatologischen Universitätsklinik in Zürich bei Prof. Dr. med. *Bruno Bloch*.

Nachweis der Hormone im Blut entweder fehlten oder mangelhaft waren, so daß es in den allermeisten Fällen nicht möglich war, im lebenden Organismus leichtere Funktionsstörungen in den endokrinen Drüsen mit Sicherheit zu erkennen.

In bezug auf die weiblichen Geschlechtsdrüsen hat dieser Umstand im Lauf der allerletzten Jahre eine beträchtliche Veränderung erfahren; man hat jetzt Methoden, um das wirksame Prinzip, das weibliche Sexualhormon — das Follikulin — sowohl qualitativ wie quantitativ nachzuweisen. Wir wissen jetzt, daß das Follikulin von Bedeutung ist für die Regulierung des Wachstums und der Funktion der weiblichen Geschlechtsorgane, für die Auslösung des sog. Sexualzyklus und der rhythmischen Veränderungen, die dabei im weiblichen Organismus stattfinden. Dazu tritt als wichtiges Glied in der Funktion des Follikulins sein Einfluß auf die Entwicklung der sekundären (akzidentellen) Geschlechtscharaktere, unter denen die Hyperpigmentierung und die Mammahypertrophie eine hervorragende Stelle einnehmen.

Die Wege, die man eingeschlagen hat, um die Funktion der weiblichen Geschlechtsdrüsen zu erforschen, sind dieselben, deren man sich bei der Erforschung der übrigen endokrinen Organe bedient hat, nämlich:

1. Die Exstirpationsmethode — Kastration.
2. Die Transplantationsmethode mit Geschlechtstransformation.
3. Injektion von Organextrakten.

Durch die Exstirpations-, Transplantations- und Geschlechtstransformationsversuche (*Knauer, Halban, Steinach, Sand, Lipschütz, Pezard* u. a.) erhielt man den Beweis für die spezifische Funktion der Geschlechtsdrüsen. Schon *Steinach* konnte in seinen ersten Geschlechtstransformationsversuchen im Jahre 1912 an kastrierten männlichen Meerschweinchen mit subcutan implantierten Ovarien wenige Wochen nach der Ovarienimplantation die Entwicklung der rudimentären männlichen Mammae zu turgeszierenden weiblichen Mammae, wie man sie bei 8—10 Monate alten weiblichen Meerschweinchen findet, beobachten. Papille, Areola und Brustdrüse entwickeln sich in Form und Größe wie bei normalen Weibchen. Diese Befunde sind später von *Athias* (1915), *Sand* (1918), *Moore, Harms* und *Lipschütz* bestätigt worden.

Dann folgte eine Reihe von Versuchen Organextrakte herzustellen, die die weiblichen Sexualhormone enthielten. Die ersten Untersucher (*Adler, Aschner* und *Schickele*) benutzten wässrige Ovarien- und Placentarextrakte, die Uterusveränderungen bei den Versuchstieren hervorzurufen vermochten. Da in allen diesen älteren Untersuchungen [*Fellner* (1913), *Frank* (1917), *Fränkel* (1923), *Hermann* (1915), *Faust, Zondek, Laqueur, Steinach* (1925)], nur das Wachstum des Uterus die Probe für die Reinheit des injizierten Stoffes hinsichtlich des Follikelhormongehaltes bildete, so ist ein Vergleich mit den Ergebnissen, die durch unsere jetzigen Methoden erreicht sind, von geringem Wert.

Laqueur und seine Mitarbeiter, *E. Dingmanse, I. E. de Jongh* (1926—1928) haben später durch Injektion des von ihm dargestellten weiblichen Sexualhormons Menformon (Follikulin) gezeigt, daß das weibliche Sexualhormon das Hormon ist, das für die sog. „Präparation“ der Mammdrüse verantwortlich ist und sie bewirkt. Durch Injektion bei kastrierten und unkastrierten Männchen sowie bei virginellen Weibchen, namentlich bei Meerschweinchen und Ratten, aber auch bei Hunden, gelang es

Laqueur, Vergrößerung der Brustdrüsen und Milchsekretion hervorzurufen. Bei Meerschweinchen traten diese Veränderungen schon 24 Tage nach Injektion von 130—300 M.E. pro Tag ein. Die von *Steinach* entdeckte und in die Wege geleitete Hyperfeminisierung ist später von *Sand*, *Lipschütz* u. a. fortgesetzt und weiter erforscht worden.

Lipschütz nahm die Versuche *Steinachs* auf breiterer Grundlage auf und fand bei den kastrierten männlichen Meerschweinchen nach intrarenaler Transplantation von Ovarien außer Wachstum der Brustdrüse auch vermehrte Pigmentierung der Areola. Er hatte den Eindruck, daß bei den hyperfeminisierten Meerschweinchenmännchen die Pigmentierung rascher und ausgedehnter eintrat als die Pigmentierung, die bei Meerschweinchenweibchen normalerweise während der Schwangerschaft an der Brustwarze und der Areola stattfindet. *Lipschütz* weist darauf hin, daß nach Transplantation von Ovarien auf kastrierte männliche Meerschweinchen, die Pigmentierung von Areola und Brustwarzen nur da entsteht, wo die Areola in einem pigmentierten Hautfeld liegt oder von vornherein pigmentiert ist. Die starke Pigmentierung der Mammæ kann außerdem einseitig auftreten, was von den Pigmentverhältnissen in der umgebenden Haarbekleidung abhängt. Ferner findet *Lipschütz*, daß die Pigmentierung unvollständig sein kann, indem sowohl pigmentierte wie unpigmentierte Partien auftreten. Er weist in seinen Versuchen einen direkten Zusammenhang zwischen Pigmentierung und Ovarienfunktion nach.

Lipschütz' Beobachtungen sind auch insofern sehr bedeutungsvoll, als sie einen neuen Weg für das Studium der Bedingungen der Pigmentbildung im Organismus eröffnen. In den hyperfeminisierten Männchen besitzt man ein ausgezeichnetes Material für das Studium des Einflusses der endokrinen Organe, speziell der Sexualdrüsen auf die Pigmentbildung. Diese Versuche von *Lipschütz* sind später von *Bloch* und *Schrafl* (1932) durch Intrarenaltransplantation von Ovarien bestätigt worden. *Bloch* und *Schrafl* zeigten ferner, daß die Ovarientransplantation durch Injektion oder Fütterung mit den Handelspräparaten des weiblichen Sexualhormons (Menformon, Oestroglandol) ersetzt werden kann, die dadurch erzeugte Hyperpigmentierung der Brustwarzen und Areolæ war ebenso stark wie die entsprechenden Veränderungen bei trächtigen Meerschweinchen. Prolan dagegen hatte keine Wirkung. Die Hyperpigmentierung kam nur an den Brustwarzen zum Vorschein, die von vornherein eine gewisse Pigmentierung besaßen, aber nicht an den vollständig albinotischen. Daraus konnten die Verfasser den Schluß ziehen, daß das Hormon sich nur geltend macht, wenn das pigmentbildende Ferment, die *Blochsche* Dopaoxydase, in den Basalzellen der Epidermis vorhanden ist. Sie fanden auch, daß alle oder fast alle Basalzellen mit der Dopareaktion positiv reagierten. *Bloch* und *Schrafl* wiesen auch in ihren Versuchen nach, wie die Dopareaktion während der Injektionsperiode bzw. der Periode, in der die Ovarientransplantate ihre hormonale Wirksamkeit ausübten, zunahm, und konnten dabei beträchtliche Grade der Intensität erreichen.

Mit dem Ergebnis der bisher erwähnten Untersuchungen ist indessen die Ursache der Schwangerschaftspigmentierung und ihr Mechanismus noch nicht geklärt. Gewiß geht aus den mustergültigen Untersuchungen von *Bloch* und *Schrafl* hervor, daß ein Zusammenhang zwischen der Pigmentierung und den Ovarialhormonen besteht, aber ob das Follikulin oder andere Stoffe aus den Ovarien die Ursache sind, ist noch immer nicht entschieden. Die Frage, die zunächst und vor allen Dingen auftaucht, ist die, ob die von *Bloch* oder *Schrafl* erzeugte Hyperpigmentierung und Mammahypertrophie durch das in dem verwendeten Handelspräparat vorhandene weibliche Sexualhormon, Follikulin, verursacht werden oder

möglicherweise durch noch unbekannte Beimischungen. Den schlüssigen Beweis dafür, daß die durch Hyperfeminisierung erzeugten Überpigmentierungen und die Mammahypertrophie wirklich auf Rechnung des weiblichen Sexualhormons Follikulin kommen, erhält man nur, wenn man das chemisch rein dargestellte Follikulin verwendet und damit durch Injektion bei kastrierten Meerschweinchenmännchen Mammahypertrophie und Überpigmentierung und alle die übrigen Hyperfeminisierungsveränderungen erzeugt, wie sie *Lipschütz* und *Bloch* und *Schrafl* durch ihre Ovarientransplantationen erzeugten.

Ein anderes Problem von großer Wichtigkeit ist dies: Welchen Einfluß übt das Follikulin auf die Pigmentbildung aus?

Aus *Lipschütz*', *Blochs* und *Schrafls* experimentellen Untersuchungen wissen wir, daß die Pigmentierung nur an bestimmten Stellen der Haut auftritt, die von vornherein für die Pigmentbildung besonders disponiert erscheinen. Ob das Follikulin die pigmentbildenden Zellen direkt oder indirekt angreift, ist schwer zu entscheiden. *Lipschütz* hält es für unwahrscheinlich, daß das Follikulin die pigmentbildenden Zellen selbst angreift und betont, daß die Pigmentierung eine Folge der Hypertrophie sei und sie begleite.

Eigene Untersuchungen¹.

Die Untersuchungen, über die in dieser Arbeit berichtet werden soll, zerfallen in 2 Abteilungen:

A. Untersuchungen, die bezwecken zu beweisen, daß die Veränderungen der Hautpigmentierung und der Mammae, die während der Schwangerschaft und bei der Hyperfeminisierung auftreten, wirklich von dem rein dargestellten weiblichen Sexualhormon, dem Follikulin, hervorgerufen werden.

Das rein dargestellte weibliche Sexualhormon — Follikulin — in krystallinischer Form wurde mir durch Vermittlung von Prof. Dr. *Bruno Bloch* von Privatdozent Dr. *A. Butenandt* in Göttingen überlassen, dem ich für sein liebenswürdiges Entgegenkommen meinen verbindlichsten Dank ausspreche. Dieses krystallinische Follikulin (*Butenandt*) und Oestroglandol wurden in verschiedenen Versuchsreihen Meerschweinchen injiziert, und zwar kastrierten und unkastrierten Meerschweinchen verschiedenen Alters.

Die Untersuchungen umfassen Pigmentveränderungen der Mammae, der Genitalien, sowie der haarlosen Partien an den Pfoten, Ohren und der Schnauze und auch die Pigment- und Farbenveränderungen am Pelz der Tiere. Ferner umschließen die Untersuchungen auch die Einwirkung des Follikulins auf die Mamma, um so mehr als die Brustdrüsen in dem

¹ In einer vorläufigen Mitteilung sind einzelne von diesen Untersuchungen veröffentlicht in *Bloch u. Guldberg*: Klin. Wschr. 1933, 734.

wichtigsten Beobachtungsfeld für die Hyperpigmentierung liegen. Da die Mammahypertrophie ein sehr wichtiges Graviditäts- und Hyperfeminisierungszeichen ist, so gibt das Auftreten der Mammahypertrophie die Gewißheit, daß das injizierte Follikulin eine positive Wirkung auf die akzidentellen Geschlechtscharaktere gehabt hat. Die Mammahypertrophie ist also ein Indicator dafür, daß durch die Einwirkung des Follikulins außer der Überpigmentierung wirklich Schwangerschaftsveränderungen hervorgerufen sind.

Die Versuchsreihen sind folgende:

Versuchsreihe I. Versuche mit Injektion des rein dargestellten krystallinischen Follikulins (*Butenandt*) an kastrierten männlichen Meerschweinchen. 6 Tiere.

Versuchsreihe II. Versuche mit Injektionen von Oestroglandol an kastrierten männlichen Meerschweinchen. 8 Tiere.

Versuchsreihe III. Versuche mit Injektionen von Oestroglandol an nichtkastrierten männlichen Meerschweinchen. 10 Tiere.

Versuchsreihe IV. Verhalten der Pigmentierung und der Mammdrüse bei männlichen Meerschweinchen nach Kastration *ohne* Follikulininjektionen.

Kontrollgruppe 1: Kastrierte erwachsene männliche Meerschweinchen. 6 Tiere.

Kontrollgruppe 2: Kastrierte jugendliche männliche Meerschweinchen. 5 Tiere.

Kontrollgruppe 3: Kastrierte männliche junge Meerschweinchen. 5 Tiere.

B. Untersuchungen, die bezwecken, den Mechanismus bei der Schwangerschaftsüberpigmentierung klarzustellen. — Diese Versuche haben das Ziel zu erforschen, ob die Einwirkung des Follikulins auf die Hyperpigmentierung bei Gravidität und Hyperfeminisierung eine Folge der lokalen Hypertrophie ist, die bei dem Zustand auftritt (*Lipschütz'* Theorie), oder ob die Hyperpigmentierung ihre Entstehung einer direkten Hormonwirkung verdankt und ausschließlich davon abhängig ist, daß das pigmentbildende Ferment — die *Blochsche* Dopaoxydase — in den Zellen vorhanden ist, und daß die Hyperpigmentierung also ohne gleichzeitige oder nachfolgende Hypertrophie auftreten kann. Um durch Follikulininjektionen Hyperpigmentierung in Hautregionen ohne gleichzeitige Hypertrophie hervorzurufen, wurden diese Versuche an Frauen angestellt (Versuchsreihe V), bei denen in der Schwangerschaft Hyperpigmentierungen (Chloasmata) ohne begleitende Wachstumsprozesse auftreten. Betrachtet man das Follikulin als ein „Pigmentierungshormon“, daß das Pigmentierungsvermögen der Melanoblasten aktiviert und steigert, so müßte man annehmen, daß eine Überdosierung von Follikulin über die Dosen hinaus, die notwendig sind, um die gewöhnlichen Schwanger-

schaftshyperpigmentierungen hervorzurufen, das Pigmentierungsvermögen noch weiter steigern müßte und möglicherweise teils stärkere Überpigmentierungen, teils Hyperpigmentierungen außerhalb der sonst bei der Schwangerschaft bevorzugten Hyperpigmentierungsfelder hervorrufen müßte.

Indessen besteht auch die Möglichkeit, daß die verstärkte Pigmentierung erst bei gleichzeitiger Zufuhr eines künstlichen Melanogens eintreten wird.

Die Versuchsreihen sind folgende:

Versuchsreihe V. Die experimentelle Erzeugung von Schwangerschaftshyperpigmentierung (Chloasmata) bei *nicht* graviden Frauen.

Versuchsreihe II. Versuche mit Überdosierung von Follikulin. 6 Tiere.

Versuchsreihe III. Versuche mit Überdosierung von Follikulin und gleichzeitiger Zufuhr eines Melanogens (Pigmentvorstadium). 5 Tiere und 5 Kontrolltiere.

Technik.

Als Tiermaterial für die Versuche sind hauptsächlich ausgewachsene männliche Meerschweinchen benutzt worden (Versuchsreihe I, II, III und Kontrollgruppe I, Versuchsreihe IV) und ferner in zwei Versuchsreihen junge Meerschweinchen (Kontrollgruppen 2 und 3, Versuchsreihe IV).

Die angewandte Kastrationstechnik war folgende:

Die Testikel wurden auf scrotalem Wege aufgesucht. Durch Druck auf das Abdomen werden die Testikel in das Scrotum herabgepreßt. Die äußere Haut und die übrigen Scrotalhäute werden durchtrennt, die Tunica vaginalis freigelegt und hervorgezogen. Darauf wird die Tunica vaginalis vorsichtig gespalten und die Testes mit den großen Fettmengen am oberen Testispol werden herausgelagert. Die Tunica vaginalis mit dem Funiculus und den Gefäßen wird unterbunden und die Hoden im ganzen entfernt. Die Scrotalhäute und die äußere Haut werden dann mit Klammern, die nach 8 Tagen entfernt werden, geschlossen. Die Operation wurde in Äthernarkose ausgeführt. Bei sämtlichen kastrierten Meerschweinchen heilten die Operationswunden per primam.

Die Dosierung des Follikulins.

Butenandts Follikulin wurde Meerschweinchen einmal täglich subcutan injiziert. Zu den Injektionen wurde eine gesättigte wässrige Lösung von *Butenandts* Follikulin verwendet, die in 1 ccm 100 M.E. enthielt.

Die Herstellung dieser Lösung von *Butenandts* Follikulin erfolgte nach Vorschrift des Dr. chem. *Fritz Schaaf* in Zürich: Von dem *Butenandts*chen Follikelhormon wurden auf der Mikrowaage 0,49 mg abgewogen und in 0,2 ccm einer 1% alkoholischen Lecithinlösung gelöst. Diese Lösung wurde tropfenweise einer Menge von 2 ccm abgekochten, abgekühlten Wassers zugesetzt, und dann mit abgekochtem, abgekühltem sterilem Wasser bis auf 19,5 ccm verdünnt. Diese Lösung wurde jeden 3. Tag hergestellt. Bei den übrigen Versuchsgruppen wurde als Follikulinpräparat Oestroglandol (*Hoffmann La Roche*, Basel) verwendet, das in 1 ccm 100 M.E. des weiblichen Sexualhormons enthält.

Mikroskopische Technik.

Die mikroskopische Untersuchung sollte die Pigmentverhältnisse in der Haut und in den Mammae untersuchen. Zu diesem Zweck wurden Frischpräparate in Gefrierschnitten hergestellt, Dopapräparate und Silbernitratpräparate. Ferner

wurden Gewebsstücke in *Bouinscher* Flüssigkeit fixiert und als Paraffinschnitte nach folgenden Färbemethoden gefärbt: Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, *Weigerts* Elastin.

Die Dopapräparate wurden nach der von *Bruno Bloch* angegebenen Methode hergestellt: Die frischen Gefrierschnitte oder Material, das in 5% Formol von 2 Stunden bis zu 3 Tagen fixiert ist, werden in Aqua destillata aufgefangen. Darauf werden die Schnitte in eine 1‰ wässrige Lösung von absolut reinem Dioxypheylalanin (d. h. Dopa, Hoffmann La Roche) gebracht und darin bei Zimmertemperatur von 18° 24 Stunden, oder bei Thermostatttemperatur von 37° 3—6—12 Stunden aufbewahrt. Die Schnitte werden dann in destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol-Xylol behandelt und in Canadabalsam auf dem Objektträger eingebettet. Die Schnitte können auch mit einer schwachen Hämatoxylin-, oder besser mit einer schwachen Pyronin-Methylgrünlösung nachgefärbt werden.

Das verwendete Wasser wurde durch mehrmalige Destillation gereinigt und vor dem Gebrauch durch Kochen von jeder Spur von CO₂ befreit.

Silbernitratmethode.

Gefrier- oder Paraffinschnitte werden vorsichtig mit destilliertem Wasser angefeuchtet und in eine 1% wässrige Ag NO₃-Lösung gebracht, 2—4 Stunden bei 37°. Die Schnitte werden dann etwa 10 Min. in destilliertem Wasser abgespült und 5 Min. lang in eine kalte, gesättigte, wässrige Lösung von Natriumthiosulfat gebracht. Die Schnitte werden von neuem 5—10 Min. in destilliertem Wasser gespült und darauf ganz kurz in eine 92% Alkohollösung gebracht. Dann erfolgt die Behandlung mit Alkohol-Xylol und die Einbettung.

Versuchsreihe I.

Versuche mit Injektion des rein dargestellten krystallinischen Follikulins (Butenandt) an kastrierten männlichen Meerschweinchen.

In diesen Versuchen wurden 6 ausgewachsene männliche Meerschweinchen verwendet, die kastriert wurden, worauf nach einer Beobachtungszeit von 31 Tagen mit der Injektion von *Butenandts* Follikulin, 75 M.E. einmal täglich subcutan, begonnen wurde. Die Tiere wurden 30 Tage lang mit *Butenandts* Follikulin gespritzt und erhielten im Verlauf dieser Zeit 2250 M.E. des Stoffes. Sowohl in dieser wie in den späteren Versuchsreihen wurde das Follikulin meist in wässrigerer Lösung (s. Technik) gegeben und einmal täglich subcutan injiziert.

Kemp und *Pedersen Bjerregaard* erhalten größere Follikulinwirkung bei Subcutaninjektion, soweit es die einzelne Dosis betrifft, wenn sie das Follikulin in Öl gelöst injizieren. Bei langdauernder subcutaner Follikulindosierung erhält man für die wasser- und die ölgelösten Dosen die gleiche Wirkung. Ebenso ist der Effekt derselbe, ob man das Follikulin in einer größeren Dosis einmal täglich gibt, oder auf mehrere kleine Dosen am Tage verteilt ¹.

¹ Im Vorversuch wurde 6 kastrierten männlichen Meerschweinchen einmal täglich 1,2 cem Oestroglandol injiziert, und 6 andere kastrierte männliche Meerschweinchen erhielten die gleiche Dosis auf 3 Injektionen pro Tag verteilt. Die Follikulinwirkung war bei beiden Versuchsgruppen die gleiche hinsichtlich der Überpigmentierung und der Mammaryhypertrophie, sowohl was die Intensität dieser Veränderungen als was den Zeitpunkt ihres Auftretens betrifft.

Von sämtlichen Tieren der Versuchsreihe I wurden die Mammae, die Areola, die Papille und ihre Umgebung, sowie die Genitalien, die Ohren, die Schnauze und die Pfoten gezeichnet und die Farbe in Farbeskizzen vor dem Versuch genau angegeben. Während des ganzen Versuches wurden diese Partien beständig beobachtet und kontrolliert und Farben- und Formveränderungen aufgezeichnet. Ebenso wurde der Pelz der Tiere in bezug auf Farbenveränderungen genau beobachtet.

Die Länge und Breite der Papilla mammae und der Durchmesser der Areola mammae wurden vor dem Versuch, während des Versuches und nach seinem Abschluß gemessen.

Ich gebe hier zwei Versuchsprotokolle aus dieser Versuchsgruppe wieder:

Meerschweinchen Nr. 788.

29. 9. 32. Das Meerschweinchen hat die Farben weiß, schwarz und braun. Der Bauch ist braun und weiß mit schwarzen Flecken, der Rücken schwarz und weiß mit kleinen braunen Flecken. Vorder- und Hinterbeine sind braun mit kleinen schwarzen und weißen Flecken. Die Genitalien sind von hellgelber Farbe ohne Pigmentierung. Gewicht des Tieres 350 g. *Rechte Mamma*: gelbweiß, ohne Pigmentierung. Länge der Papille 1,2 mm. Areola mammae 8 mm im Durchmesser. *Linke Mamma*: weißrosa, ohne Pigmentierung. Länge der Papille 1 mm. Areola mammae 8,5 mm im Durchmesser. 30. 9. 32. Kastration. 1. 11. 32. Gewicht des Tieres 390 g. Größe und Farbe der Mammae wie für 29. 9. 32 angegeben. Mammae und Genitalien gezeichnet. Heute mit Injektionen von *Butenandts* Follikulin, 75 M.E. einmal täglich, angefangen. 6. 11. 32. Beide Mammae zeigen heute deutliche Hypertrophie. Sie sind vergrößert, ödematös und injiziert, mit schwacher Pigmentierung der rechten Mamma. *Rechte Mamma*: Papille 3 mm lang und an der Basis verdickt. Die Areola ist vergrößert. Dunkelbraune Pigmentierung der Papille und stellenweise der Areola. *Linke Mamma* zeigt keine Pigmentierung. Die Papille ist 3,2 mm lang und verdickt. 21. 11. 32. Beide Mammae und die Genitalien gezeichnet. Die Mammaryhypertrophie hat weiter zugenommen. Besonders die Papillen sind vergrößert und teilweise aufgerichtet. *Rechte Mamma*: Papille 4,3 mm lang. Breite an der Basis 1,5 mm. Pigmentierung gesteigert. *Linke Mamma*: Papille 4,5 mm lang, 2 mm breit. Stark hyperämisch vorgewölbt. Keine Pigmentierung. 1. 12. 32. Beide Mammae zeigen ständig zunehmende Hypertrophie. Sie sind turgeszierend mit teilweise erigierten Papillen. Aus beiden Papillen läßt sich milchähnliche Flüssigkeit auspressen. *Rechte Mamma*: Länge der Papille 7,5 mm. Breite an der Basis 1,5 mm. Die Areola hat stark an Größe zugenommen. Die Pigmentierung ist jetzt sehr ausgesprochen dunkelbraun und teilweise schwarzbraun und nimmt die ganze Papille und den größten Teil der Areola ein. *Linke Mamma*: stark ödematös. Länge der Papille 6 mm. Breite an der Basis 2 mm. Keine Pigmentierung. 5. 12. 32. Keine merkliche Zunahme der Hypertrophie oder der Pigmentierung. 15. 12. 32. Größe beider Mammae unverändert. Ebenso die Pigmentierung der rechten Mamma. Sekretion aus der Papille verschwunden. 3. 1. 33. Die Hypertrophie hat an beiden Mammae unbedeutend abgenommen. 20. 1. 33. Beide Mammae zeigen einen deutlichen und gleichmäßigen Rückgang der Hypertrophie. Gleichzeitig sieht man beginnenden Pigmentschwund an der rechten Mamma. 15. 2. 33. Beide Mammae haben beträchtlich an Größe abgenommen und sind nur ganz schwach vorgewölbt. 1. 3. 33. Noch sichtbare Hypertrophie der Mammae. Länge der linken Papille 2,4 mm. Länge der rechten Papille 2,7 mm. Breite 1,2 mm. Noch immer Spuren der Hyperpigmentierung an der rechten Mamma.

Meerschweinchen Nr. 798.

29. 9. 32. Die Farbe des Meerschweinchen ist braun, weiß und schwarz. Bauch und Rücken sind im wesentlichen braun und schwarz mit einzelnen weißen Flecken. Die Vorderbeine sind weiß und schwarz. Hinterbeine: das rechte schwarz, das linke schwarz und braun. Die Brustwarzen sind klein, dünn und trocken, umgeben von einer schmalen Areola, die teilweise vom Bauchhaar bedeckt ist. *Linke Mamma*: Länge der Papille 1 mm. Schwach hellbräunlich pigmentiert. Areola 8 mm im Durchmesser. *Rechte Mamma*: Länge der Papille 0,7 mm. Areola 7,5 mm im Durchmesser. Keine Pigmentierung. *Genitalien* gelb gefärbt, ohne Pigmentierung.

30. 9. 32. Kastration. 1. 11. 32. Gewicht des Tieres 510 g. Größe und Farbe der Mammæ wie am 29. 9. 32. Heute Beginn mit Injektionen von *Butenandts* Follikulin, 75 M.E. einmal täglich subcutan. Mammæ und Genitalien gezeichnet. 6. 11. 32. Die Mamma hat an Größe zugenommen, zeigt eine vergrößerte und vorgewölbte Areola und ist gleichzeitig leicht hyperämisch und ödematös, besonders die Papille. *Rechte Mamma*: Papille 2 mm lang und verdickt. Breite an der Basis 0,8 mm. Keine Pigmentierung. *Linke Mamma*: Papille 3 mm lang. Breite an der Basis 1,5 mm. Hellbraune Pigmentierung der Papille und der angrenzenden Teile der Areola. 21. 11. 32. Die Mammahypertrophie hat bedeutend zugenommen. Die Mammæ sind noch mehr vorgewölbt mit beträchtlich vergrößerten Areolæ und teilweise aufgerichteten Papillen. Die Brustdrüsen sind fühlbar, und aus den Papillen erfolgt Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit. *Rechte Mamma*: hyperämisch mit schwach hellbräunlicher fleckige Pigmentierung der Papille und ihrer Basis. Länge der Papille 4,5 mm. Areola mammæ 1 cm im Durchmesser. *Linke Mamma* ist schwarzbraun pigmentiert, und zwar in ihrer ganzen Ausdehnung, sowohl die Papille wie die vergrößerte Areola. Länge der Papille 5,5 mm. Breite an der Basis 2 mm. Areola mammæ 1,1 cm im Durchmesser. 1. 12. 32. Heute hören die Injektionen von *Butenandts* Follikulin auf. Die Mammæ weitergewachsen, sowohl Papillen wie Areolæ. *Linke Mamma*: Die Papille mißt 6 mm in der Länge. Breite an der Basis 2 mm. Areola 1,2 cm im Durchmesser. Papille und Areola sind vollkommen schwarz pigmentiert. *Rechte Mamma*: zeigt stellenweise kleine Pigmentflecken auf Papille und Areola. Länge der Papille 5 mm. Breite 2 mm. Die Areola mißt 1,1 cm im Durchmesser. Auch sonst keine Pigmentierung oder Farbenveränderungen der Haut oder des Pelzes. 3. 12. 32. *Schwache aber deutliche bräunliche Pigmentierung an der Haut der äußeren Genitalien.* 5. 12. 32. Mammæ seit 1. 12. an Größe unverändert. Die Pigmentierung der rechten Mamma hat sich weiter ausgebreitet. Das Tier wurde heute getötet. Beide Mammæ wurden zur mikroskopischen Untersuchung entnommen.

Mikroskopische Untersuchung von Meerschweinchen Nr. 798.

Rechte Mamma. Im Frischpräparat sieht man an der Areola und an der Papille fleckenweise reichliche bräunliche Pigmentierung in der Basalzellschicht. Die Dendritenzellen mit den verzweigten Ausläufern zeichnen sich sehr deutlich ab. Das Pigment liegt hauptsächlich als kleine Körnchen in den Dendritenzellen und verdeckt an vielen Stellen den Zellkern. In den Ausläufern liegen die Pigmentkörner teils dicht zusammengepackt, teils findet man eine mehr diffuse Pigmentierung. In den übrigen Epidermisschichten, sieht man auch fleckenweise zahlreiche Pigmentkörner, die indes nach der Oberfläche zu rasch abnehmen, wo man nur einzelne Körner zwischen den Hornlamellen liegen sieht. Die Melaningranula sind überall in Haufen innerhalb des Zellprotoplasmas angeordnet. Im Epithel der Milchgänge sieht man nur an ganz wenigen Stellen einzelne kleine Pigmentkörner. In der Cutis finden sich einzelne wenige Chromatophoren.

Dopappräparat. Man sieht eine fleckenweise verteilte positive Dopareaktion von mittlerer Stärke, insofern als die Basalzellschicht an bestimmten Stellen

Tabelle I. Versuchsreihe I. Tabelle über Versuche mit Injektionen von rein

Nummer des Tieres	Gewicht in Gramm vor der Kastration	Beobachtungszeit von der Kastration bis zum Beginn der Follikulininjektionen	Gewicht in Gramm bei Beginn der Follikulininjektion	Farbe des Tieres	Farbe der Brustdrüsen vor Beginn der Follikulininjektion	Pigment- und Volumveränderungen der und nach deren	
						1. Monat	2. Monat
786	360	31 Tage	430	Hellbraun und weiß	Rechte: hellgelb. Linke: weiß. Beide unpigmentiert	Nach 8 Tagen beginnende Hypertrophie beider Mammae, die stetig zunimmt. Hellbraune Pigmentierung der rechten Mamma. Nach 30 Tagen Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit	Hypertrophie und Pigmentierung unverändert. In der 8. Woche die Sekretion verschwunden
787	380	31 Tage	420	Weiß und hellbraun	Rechte: hellrötlich. Linke: gelbweiß. Beide unpigmentiert	Nach 8 Tagen Hypertrophie beider Mammae, später stetig zunehmend. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 21 Tagen. Linke Mamma zeigt beginnende Pigmentierung nach 6 Tagen	Hypertrophie und Überpigmentierung unverändert. In der 7. Woche Aufhören der Sekretion
788	350	31 Tage	390	Weiß, braun und schwarz	Rechte: gelbweiß. Linke: weißrosa. Keine Pigmentierung	Nach 8 Tagen beginnende Hypertrophie beider Mammae, die später stetig zunimmt. Überpigmentierung der rechten Mamma nach 8 Tagen. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 30 Tagen	Hypertrophie und Überpigmentierung unverändert. In der 7. Woche Aufhören der Sekretion
796	460	31 Tage	510	Braun und weiß	Rechte: weiß. Linke: gelbweiß. Keine Pigmentierung	Nach 6 Tagen beginnende Hypertrophie beider Mammae, die später beständig zunahm. Überpigmentierung der linken Mamma. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 30 Tagen	Das Tier wird zur mikroskopischen Untersuchung getötet, 35 Tage nach Beginn des Versuches
797	530	31 Tage	630	Weiß, schwarz und braun	Rechte: hellrötlich, braun, spärlich pigmentiert. Linke: gelbweiß, ohne Pigmentierung	Nach 8 Tagen beginnende Hypertrophie beider Mamma. Rechte Mamma zeigt starke Pigmentierung. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 24 Tagen	Desgl.

dargestelltem Follikulin (*Butenandt*) an kastrierten männlichen Meerschweinchen.

Mammæ während der Follikulininjektionen Aufhören		Hormonwirkung	Gewicht in Gramm des Tieres bei Schluß des Versuches	Bemerkungen
3. Monat	4. Monat			
Mammahypertrophie im Abnehmen. Die Überpigmentierung der rechten Mamma schwindet	Beständiger Schwund der Mammahypertrophie und der Überpigmentierung. In der 16. Woche nach Beginn des Versuches Spuren von Hypertrophie vorhanden	+	590	<i>Rechte Mamma:</i> Länge der Papille von 1,2 bis auf 7 mm gestiegen, vom 1. bis zum 30. Versuchstag <i>Linke Mamma:</i> Im gleichen Zeitraum ist die Länge der Papille von 1 auf 5 mm gestiegen <i>Rechte Mamma:</i> überpigmentiert <i>Linke Mamma:</i> albinotisch Genitalia zeigt schwache Pigmentierung
Die beiden hypertrophischen Mammæ nehmen stetig an Größe ab. Die Überpigmentierung der linken Mamma schwindet	Die Mammahypertrophie nimmt rasch ab. Die Überpigmentierung verschwunden	+	600	<i>Rechte Mamma:</i> Die Länge der Papille nahm während der Follikulininjektionen von 1 mm zu bis auf 4,5 mm <i>Linke Mamma:</i> Die Papille wuchs von 1,5 bis auf 5 mm. Überpigmentierung der linken Mamma. Rechte Mamma: albinotisch
Mammahypertrophie und Überpigmentierung gleichmäßig abnehmend	Mammahypertrophie und Überpigmentierung nehmen beständig ab	+	480	<i>Rechte Mamma:</i> Vom 1. bis zum 30. Tag nach Beginn der Injektionen ist die Papille von 1,2 auf 7,5 mm gewachsen <i>Linke Mamma:</i> Im gleichen Zeitraum hat die Länge der Papille von 1 mm bis auf 6 mm zugenommen Rechte Mamma: überpigmentiert Linke Mamma: albinotisch
—	—	+	570	<i>Rechte Mamma:</i> Die Länge der Papille nahm von 1 bis auf 4,5 mm zu. Farbe albinotisch, ohne Pigment <i>Linke Mamma:</i> Wachstum der Papille von 1,8 bis auf 6 mm Länge Überpigmentierung
—	—	+	710	<i>Rechte Mamma:</i> Die Länge der Papille stieg von 1,8 bis auf 6 mm. Starke braune Pigmentierung <i>Linke Mamma:</i> Länge der Papille von 2 auf 5 mm gestiegen. Keine Pigmentierung

Tabelle 1

Nummer des Tieres	Gewicht in Gramm vor der Kastration	Beobachtungszeit von der Kastration bis zum Beginn der Follikulininjektionen	Gewicht in Gramm bei Beginn der Follikulininjektion	Farbe des Tieres	Farbe der Brustdrüsen vor Beginn der Follikulininjektion	Pigment- und Volumveränderungen der und nach deren	
						1. Monat	2. Monat
798	440	31 Tage	510	Braun, schwarz und weiß	Rechte: bräunlich pigmentiert. Linke: weißrosa ohne Pigmentierung	Nach 6 Tagen beginnende Hypertrophie, die später stetig zunimmt. Rechte Mamma: stark bräunliche Pigmentierung. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 30 Tagen	Nach 32 Tagen leicht bräunliche Pigmentierung der Genitalia externa. Das Tier wurde zur mikroskopischen Untersuchung getötet 35 Tage nach Beginn des Versuches

diffus schwarz gefärbt und an anderen Stellen pigmentfrei ist. Man kann jedoch in den meisten Partien die Dendritenzellen mit teils diffus schwarz gefärbtem, teils granuliertem Protoplasma und verzweigten Ausläufern unterscheiden. Auch in dem angrenzenden Stratum spinosum kann man einzelne dunkelfarbige Melanin granula wahrnehmen. In dem Epithel der Milchgänge findet man hier und dort positive Dopareaktion, ebenso in den Gefäßen und Leukocyten des Corium. *Die Argentumreaktion ist positiv.*

Das Hämatoxylin-Eosinpräparat zeigt eine fleckige Pigmentierung und im übrigen dieselben Epidermisveränderungen, wie sie für die Frisch-, Dopa- und Silbernitratpräparate beschrieben sind. Die Papille ist im zentralen Teil von einem Saccus lactiferus durchsetzt, der von einem kubischen Epithel mit einzelnen Papillen ausgekleidet ist und kleine Mengen eines teilweise vakuolisierten Sekretes enthält. Die Mammadrüse, die makroskopisch bedeutend vergrößert war, grenzt an die Basis der Papille. Das Drüsengewebe besteht aus dichtliegenden, vergrößerten Drüsenlappen, aufgebaut aus teilweise erweiterten, sekretgefüllten Tubuli und aus kompakten Drüsenalveolen mit vakuolisierten Zellen. Man sieht auch Drüsenalveolen mit Lumen, die kleine Reste vakuolisierten Sekretes enthalten. Das Bindegewebsstroma ist stark vaskularisiert.

Linke Mamma. Im Frischpräparat sieht man, entsprechend dem makroskopischen Befund die ganze Epidermis von Pigment durchsetzt. In größter Menge findet man das Pigment in der Basalzellenschicht, wo die Dendritenzellen dicht zusammengepackt und von Melanin granula erfüllt liegen. Die Dendritenzellen kommen infolge der großen Pigmentmengen nur an einzelnen Stellen deutlich zum Vorschein und sind vollständig undurchsichtig und mit den dichtliegenden Melanin granula angefüllt. Auch in der angrenzenden Epidermischicht sieht man reichliche Anhäufung von Melanin granula, aber in geringeren Mengen als in der Basalzellenschicht. Sie liegen intracellulär in Haufen angeordnet, ganz unregelmäßig, zum Teil in kuppenartiger Anordnung um den Zellkern. Die Pigmentkörner nehmen nach der Oberfläche zu rasch ab und treten in der Hornschicht nur als einzelne Granula zwischen den Hornlamellen auf. Auch im Epithel der Milchgänge sieht man einzelne Pigmentkörner. Im Corium finden sich vereinzelt Chromatophoren.

Dopapräparat. Mikroskopisch sieht man eine sehr starke positive Dopareaktion in der Basalzellenschicht, die in großen Partien ein zusammenhängendes schwarzes

Fortsetzung).

Mammæ während der Follikulininjektionen aufhören		Hormonwirkung	Gewicht in Gramm des Tieres bei Schluß des Versuches	Bemerkungen
3. Monat	4. Monat			
—	—	+	625	<i>Rechte Mamma:</i> Länge der Papille von 0,7 auf 5 mm gestiegen. Bräunliche Pigmentierung <i>Linke Mamma:</i> Länge der Papille von 1 auf 6 mm gestiegen. Starke Pig- mentierung Schwach bräunliche Pigmentierung der <i>Genitalia externa</i>

Band bildet, wo die einzelnen Zellelemente infolge der Intensität der Dopareaktion nur schwer zu unterscheiden sind. In anderen Partien, wo die Reaktion nicht so stark ist, sieht man die verzweigten Dendritenzellen mit langen Ausläufern und mit dem diffus schwarz gefärbten oder leicht gekörnten Protoplasma, während der Zellkern und der zunächst gelegene Protoplasmarand nicht schwarz gefärbt sind. Auch in dem angrenzenden Stratum spinosum sieht man außer den Ausläufern aus den Dendritenzellen der Basalzellschicht einzelne Granula mit positiver Dopareaktion. Gefäße und Leukocyten des Corium zeigen positive Reaktion.

Silbernitratpräparat zeigt eine stark positive Silberreaktion, besonders in der Basalzellschicht, deren Dendritenzellen mit den verzweigten Ausläufern diffus schwarz gefärbt sind.

Im Hämatoxylin-Eosinpräparat sieht man in der Epidermis eine sehr starke Pigmentierung, wie sie oben im Frisch-, Dopa- und Silbernitratpräparat beschrieben ist. Die Papille zeigt im zentralen Teil einen erweiterten Milchgang, den Saccus lactiferus, mit einzelnen Resten von teilweise mit Vakuolen durchsetztem Sekret, ausgekleidet von einem höchst unregelmäßigen kubischen Epithel. An der Basis der Papille sieht man die dichtliegenden Lappen des Mammarydrüsenorgans. Dieses besteht aus Drüsenalveolen, die meist kompakt sind, aber vereinzelt auch sekretgefüllte Acini enthalten. Die Zellen der Drüsenalveolen sind angefüllt mit Sekretvakuolen. Das gefäßreiche Bindegewebsstroma in der Papille und im Mammarygewebe enthält einzelne Chromatophoren im subcutanen Bindegewebe.

In Tabelle I sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusammengestellt.

Bei sämtlichen Versuchstieren rief *Butenandts* Follikulin eine sehr ausgesprochene Hormonwirkung hervor, gekennzeichnet durch Hyperpigmentierung der Mammæ und bedeutende Mammaryhypertrophie mit Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit — also dieselben Veränderungen wie bei Schwangerschaft (s. Abb. 1). Schon früher haben *Lipschütz*, *Bloch* und *Schrafl* durch intrarenale Ovarientransplantationen und später *Bloch* und *Schrafl* außerdem durch Injektionen von Oestroglandol ähnliche,

aber bedeutend weniger ausgesprochene Veränderungen hervorgebracht. Während die Mammahypertrophie in dieser Versuchsreihe bei allen Tieren im wesentlichen gleich stark ausgeprägt war und nur kleine individuelle Variationen zeigte, war dagegen die Hyperpigmentierung, was Intensität

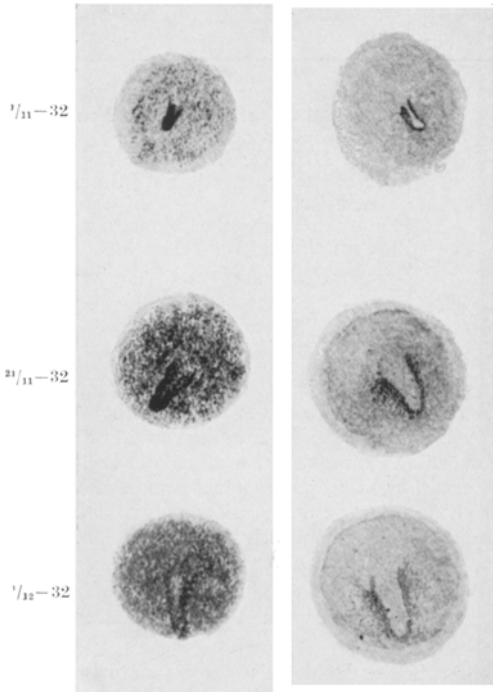


Abb. 1. Meerschweinchen Nr. 797. Versuchsreihe I. Das Tier mit Butenandts rein dargestellten Follikulin injiziert. Das Bild zeigt die zunehmende Pigmentierung der Mammæ während der Follikulininjektionen und gleichzeitig die ausgesprochene Hypertrophie. Linke Mamma albinotisch, rechte stark hyperpigmentiert. (Photographie nach Farbenzeichnung.)

und Ausbreitung betrifft, höchst wechselnd. Die Hyperpigmentierung von Papille und Areola wurde schon 6—8 Tage nach Beginn der Injektionen sichtbar, und die Pigmentierung trat gleichzeitig an den verschiedenen Teilen der Mamma auf. Die Pigmentierung nahm rasch zu, solange die Follikulininjektionen dauerten. Nach Aufhören der Injektionen hielt sich die Hyperpigmentierung der Mamma unverändert 6 bis 8 bis 10 Wochen lang, worauf sie abnahm und bei Abschluß des Versuches, 3 Monate nach dem Aufhören der Follikulininjektionen in der Hauptsache verschwunden oder nur noch in schwachen Spuren sichtbar war. Die Hyperpigmentierung fand sich nur dort, wo von vornherein in der Mamamahaut Pigment oder Spuren von Pigment vorhanden war, oder wo die Mamma von einer pigmenthaltigen Haarbekleidung umgeben war. Dagegen fand sich keine Pigmentierung, wo die Mamma albinotisch war oder in einer albinotischen, von

weißen Haaren umgebenen Hautpartie lag.

Die Hyperpigmentierung war sehr stark. Doch konnte man verschiedene Pigmentierung sehen, nicht nur beider Mammæ an demselben Tier, sondern auch verschiedene Pigmentierung von Areola und Papille an der einzelnen Mamma und sehr oft fleckenweise verteilte Pigmentierung. Außerdem fand sich bei einzelnen Tieren dieser Versuchsreihe vermehrte Pigmentierung der Haut an den Genitalien. An Schnauze, Pfoten und Ohren fand sich dagegen keine Pigmentvermehrung und auch keine Farbänderung des Pelzes (Abb. 1).

Die Hypertrophie der Mamma war gleichzeitig mit den ersten Spuren der Hyperpigmentierung sichtbar. Sie setzt schon 6—8 Tage nach Beginn der Injektionen ein. Die beginnende Hypertrophie gibt sich durch Hyperämie und erhöhten Turgor zu erkennen, die man schon 3—4 Tage nach Beginn der Follikulininjektionen beobachten kann, und ist am leichtesten an den albinotischen Mammae zu sehen, deren Areola sich schwach rötlich glänzend vorwölbt. Diese Hyperämie, die mehr oder weniger ausgesprochen ist, macht sich in der 1. Woche geltend, verschwindet aber, je weiter die Hypertrophie zunimmt. Der äußere Mammaapparat, die Papille und Areola, nehmen gleichmäßig an Größe zu. Die Areola wölbt sich vor, vergrößert sich und bekommt eine verdickte Haut, gleichzeitig verwandeln sich die kleinen, trockenen, fadenförmigen Papillen bei den kastrierten männlichen Meerschweinchen in große, erigierte, prominierende und ödematöse Papillen. Bei Palpation fühlt man beträchtliche Vergrößerung der Milchdrüsen in der Tiefe.

Schon 21—30 Tage nach Beginn der Follikulininjektionen läßt sich milchähnliche Flüssigkeit aus den Papillen auspressen. Die Mammahypertrophie nimmt während der ganzen Injektionszeit beständig zu, und die Papille wächst von 1—2 mm Länge bei Beginn der Follikulininjektionen bis zu deren Aufhören auf eine Länge von 4,5—7,5 mm. Zugleich nimmt sie auch beträchtlich an Breite zu. Erst gegen Ende der Follikulininjektionen trat reichlichere Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit auf. Die Mammahypertrophie nimmt nach Aufhören der Follikulininjektionen nicht zu, bleibt aber 4—6 Wochen bestehen und nimmt dann kontinuierlich ab, ist aber noch 12 Wochen nach Aufhören der Injektionen vorhanden.

Die Sekretion der milchähnlichen Flüssigkeit verschwindet dagegen schon 14 Tage bis 3 Wochen nach Aufhören der Follikulininjektionen. Die Hypertrophie und die Pigmentierung der Mamma verlaufen teilweise parallel. Während die Mammahypertrophie sich bei allen Tieren der Versuchsgruppe findet, kommt die Hyperpigmentierung der Mamma nur bei einigen vor, und es hängt von den lokalen Pigmentverhältnissen ab, ob Hyperpigmentierung auftritt oder nicht. Die Mammahypertrophie kann daher als eine sichere biologische Probe für die Wirksamkeit des injizierten Follikulinhormons gelten. Außer den beiden bisher besprochenen akzidentellen Geschlechtscharakteren, Mammahypertrophie und Hyperpigmentierung, als Zeichen einer Hyperfeminisierung ergab sich während des Versuches auch eine beträchtliche Gewichtszunahme (s. Tabelle 1).

Mikroskopische Untersuchungen der Hyperpigmentierung der Mammae.

In diesen Untersuchungen über Pigmentbildung nach Follikulininjektionen handelt es sich vor allem darum, festzustellen, ob eine Zelle pigmentbildend ist oder nicht, was sich vermittelt der von *Bruno Bloch* ausgearbeiteten Dopareaktion entscheiden läßt.

Diese Reaktion ist eine Fermentreaktion, die auf einer Fermentwirkung der Oxydase der pigmentbildenden Zellen beruht, die den reagierenden Stoff, Dopa = 3,4 Dioxyphenylalanin in Melanin umwandelt. Die Dopareaktion geht in dem Protoplasma der pigmentbildenden Zellen vor sich und gibt ein klares morphologisches und topographisches Bild der Pigmentbildung.

Zur mikroskopischen Untersuchung der Pigmentveränderungen in der Haut der Mammæ wurden drei von den Versuchstieren dieser Reihe 5 Tage nach Aufhören der Follikulininjektionen getötet.

Die Pigmentierung der Mamma ist sehr wechselnd und zeigt alle Übergänge von schwachen Pigmentspuren bis zu den stärksten Hyperpigmentierungen. Die mikroskopischen Befunde entsprechen vollkommen dem makroskopischen Bild. Wo Pigmentierung vorhanden ist, sieht man Pigmentgranula in allen Epidermisschichten. Im Stratum corneum sind die Pigmentgranula zwischen den Hornlamellen abgelagert und bilden wellenförmige Ketten. In den übrigen Epidermisschichten liegt das Pigment intracellulär. Meist sieht man, daß die Pigmentkörner teilweise den Kernpol, der sich von der Oberfläche der Epidermis abwendet, umschließen. In der Basalzellschicht füllen die Pigmentkörner teilweise die Dendritenzellen und ihre verzweigten Ausläufer aus.

Das mikroskopische Bild der Epidermis wechselt je nach dem Grad der Pigmentierung. Namentlich ist die Intensität der Pigmentierung der Basalzellschicht bestimmend für die Pigmentierung in den übrigen Epidermisschichten. Ist nämlich die Basalzellschicht stark pigmentiert, so findet man reichliche Pigmentgranula nicht nur in dem angrenzenden Stratum granulosum, sondern auch in den übrigen Epidermisschichten und außerdem in der Hornschicht.

In ungefärbten Gefrierschnitten von der Haut der während der Follikulininjektionen stark pigmentierten Mammæ sieht man die Basalzellschicht als ein zusammenhängendes schwarzes Band, da Form und Konturen der Dendritenzellen infolge der reichlichen Ablagerung von Melaningranula vollständig verwischt sind. Das Pigment liegt hauptsächlich intracellulär abgelagert in Form distinkter kleiner Granula in den Dendritenzellen, die außer der gekörnten auch eine diffuse Pigmentierung aufweisen.

In Dopapräparaten sieht man überall, wo Pigment ist, positive Dopareaktion (s. Abb. 2). Die Intensität der Dopareaktion entspricht der Pigmentierung in den Frischpräparaten. Das Protoplasma der reagierenden Zellen ist je nach dem Grad der Reaktion rauchgrau bis ganz schwarz und undurchsichtig. Die Dopareaktion ist stark positiv in der Basalzellschicht, wo die Dendritenzellen mit den verzweigten und gezackten Ausläufern schön zum Vorschein kommen, während diese Zellen in Frischpräparaten nur eine kubische Form mit einzelnen Ausläufern aufweisen.

Bei stark positiver Dopareaktion werden die Zellformen, Zellgrenzen und Zellstruktur verwischt, wie in den Frischpräparaten. Oft sieht man



Abb. 2. Versuchsreihe I. Meerschweinchen Nr. 798. Linke Mamma. Dopapräparat von der linken Papille die starke Pigmentierung der Basalzellschicht der Epidermis zeigend. Meerschweinchen mit 75 M.E. rein dargestellten Follikulins (*Butenandt*) 30 Tage injiziert. Das Tier getötet und mikroskopisch untersucht 5 Tage nach Aufhören der Injektionen. (Siehe Text und Tabelle 1.) 20fache Vergrößerung.

auch, daß die Dopareaktion über die Grenzen der dopapositiven Zelle hinausgeht und diese mit einem grauschwarzen Hof umgibt. Bei weniger

starker Dopareaktion kommen die einzelnen Zellen deutlicher hervor — besonders die Dendritenzellen und ihre Ausläufer, die speziell in dünnen Schrägschnitten ein charakteristisches Bild geben (s. Abb. 3).

In Dopapräparaten ist die Pigmentierung der Dendritenzellen hauptsächlich gekörnt, teilweise aber auch diffus. Außer in der Basalzellschicht sieht man dopapositive Melaningranula zerstreut in den Zellen

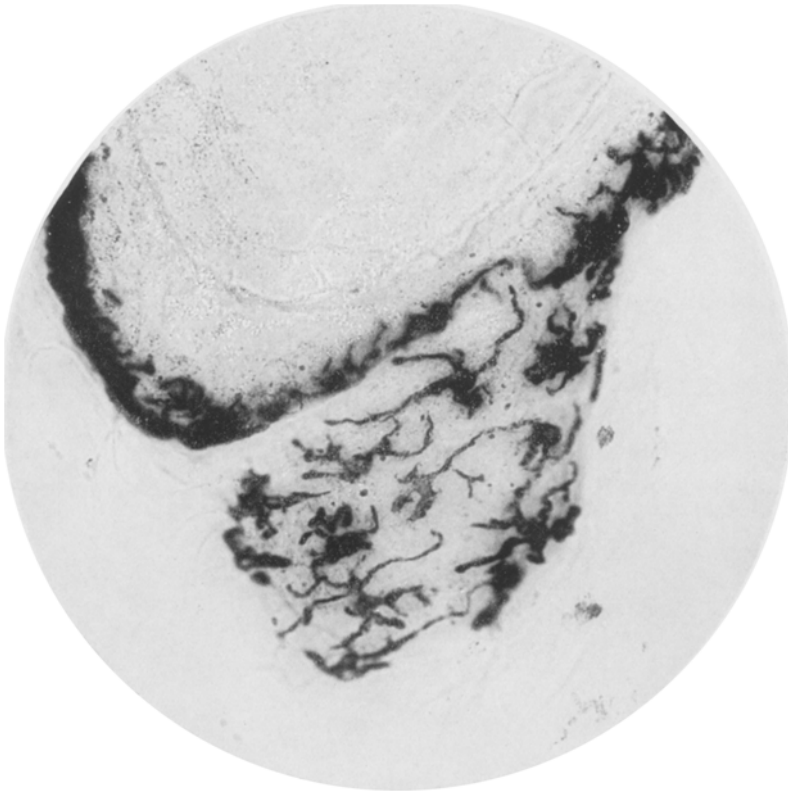


Abb. 3. Versuchsreihe I. Meerschweinchen Nr. 798. Linke Mamma. Detailbild eines Dopapräparates von der linken Papille zeigt die hervortretenden, verzweigten Dendritenzellen in der Basalzellschicht bei der Hyperpigmentierung nach Injektion des rein dargestellten *Butenandischen* Follikulins. Vergrößerung 450fach.

des Stratum spinosum bis hinauf in das Stratum corneum, aber keine protoplasmatische Dopareaktion.

In Reduktionspräparaten mit Silbernitrat ist die Pigmentierung stärker und kompakter als in Frisch- und Dopapräparaten. Die Silbernitratreaktion ist überall positiv, wo Pigment vorhanden ist, gleichgültig, ob das Pigment an Ort und Stelle gebildet ist oder nicht. Die Silbernitratmethode ist keine spezifische Pigmentreaktion. Bei der Silbernitratmethode erfolgt eine Reduktion des Silbernitrats zu metallischem Silber

durch Einwirkung des Melanins, und das Silber bildet eine komplexe Verbindung mit dem Melanin selber, dagegen nicht mit dem Protoplasma der Zellen. Man sieht in Silbernitratpräparaten die einzelnen Melaningranula verändert und bedeutend dunkler, braunschwarz oder schwarz gefärbt, und kompakter und von unregelmäßigerer Form als im Frischpräparat. Dadurch tritt die Pigmentierung um so deutlicher hervor, namentlich gibt das Silbernitratpräparat ein schönes Bild von den Dendritenzellen.

Im Corium sieht man einzelne Chromatophoren, die alle negative Dopareaktion geben. Indessen finden sich auch im Corium einzelne dopapositive Elemente, nämlich Leukocyten und Blutgefäße. Außerdem sieht man hier und da im Epithel der Milchgänge einzelne dopapositive Melaningranula, aber keine diffuse Protoplasmareaktion.

Mikroskopische Untersuchungen der Mammaryhypertrophie.

Die Hypertrophie der Mamma, die bereits 1 Woche nach Beginn der Follikulininjektionen sichtbar ist und die sich, solange die Follikulinzufuhr dauert, weiterentwickelt, bis die Mamma das Aussehen hat wie bei Gravidität, gibt sich auch durch eigenartige Veränderungen des Drüsengewebes zu erkennen.

Bei mikroskopischer Untersuchung zeigt sich, daß die Mammarydrüse beim normalen männlichen Meerschweinchen und bei kastrierten Männchen gleichen Alters nur aus kleinen Ausführungsgängen besteht, die von einem einschichtigen kubischen Epithel ausgekleidet sind und in einem gefäßarmen Bindegewebe und Fettgewebe eingebettet liegen. Bei der unter den Follikulininjektionen erfolgenden Hypertrophie der Mamma kommt es außer zu Bindegewebsproliferation auch zu einem bedeutenden Wachstum des Mammarydrüsengewebes selbst (s. Abb. 4 u. 5).



Abb. 4. Übersichtsbild der Papilla mammae und der Mammarydrüse von einem normalen, ausgewachsenen männlichen Meerschweinchen. 17fache Vergrößerung.

Bei sämtlichen drei Meerschweinchen, die 5 Tage nach Aufhören der Follikulininjektionen getötet wurden, fanden sich bei mikroskopischer

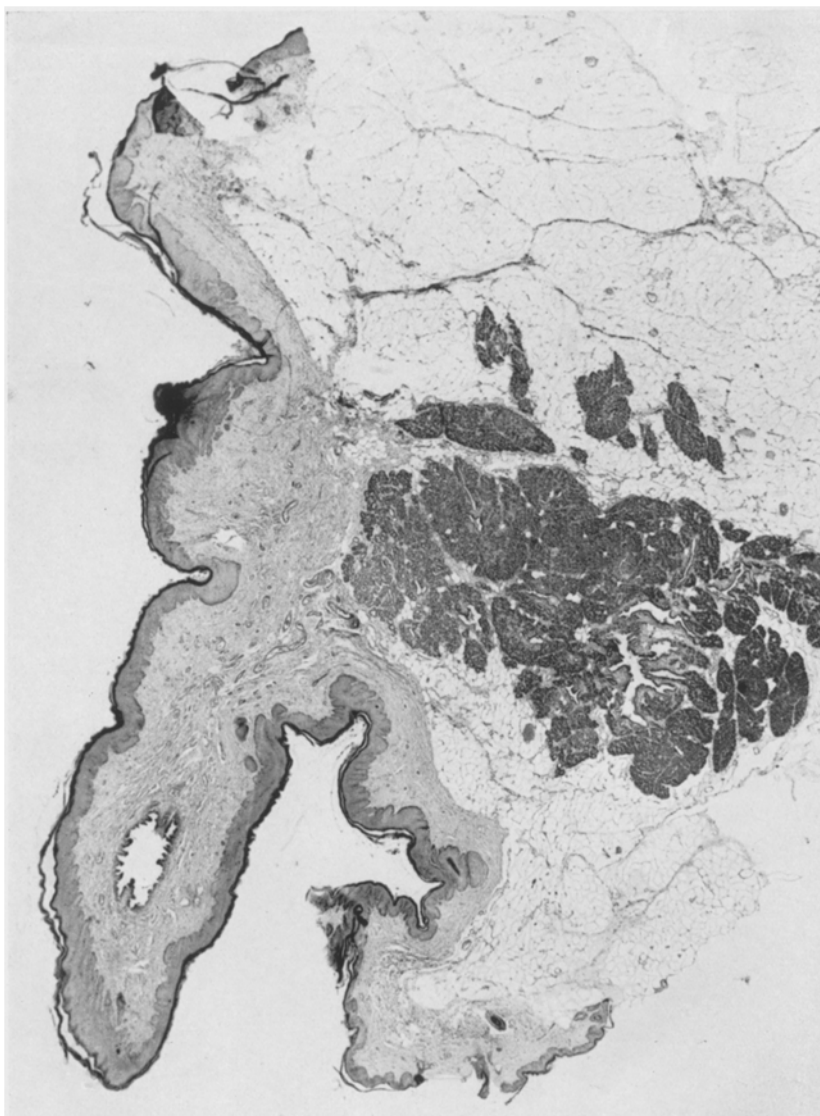


Abb. 5. Versuchsreihe I. Meerschweinchen Nr. 796. Linke Mamma. Übersichtspräparat, die Papille mit Teilen des erweiterten Sinus lactiferus und die beträchtliche Drüsenhypertrophie in der Tiefe zeigend. Das Meerschweinchen erhielt 30 Tage lang Injektionen von 75 M.E. des rein dargestellten Follikulins (*Butenandt*). Das Tier getötet und mikroskopisch untersucht 5 Tage nach Aufhören der Injektionen. (Siehe Text und Tabelle 1).
11–12fache Vergrößerung.

Untersuchung dichtliegende Läppchen von kleinen Drüsenalveolen, aufgebaut aus einem kubischen Epithel mit einem vakuolisierten Protoplasma

und mit sekretgefüllten Acini (s. Abb. 6). Auch die Drüsenausführungsgänge sind bedeutend vergrößert und mit Sekretmassen angefüllt. Ebenso zeigt der Sinus lactiferus deutlich spindel- und sackförmige Erweiterung bei gleichzeitiger starker Zunahme des Bindegewebes der Papillen.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß man bei den kastrierten männlichen Meerschweinchen nach 30tägiger Follikulininjektion die für Schwangerschaft charakteristischen Veränderungen der Mamma findet.

Diese Befunde weichen sehr von denjenigen früherer Beobachter ab.

Es liegen in der Literatur eine ganze Reihe von Untersuchungen über die Einwirkung des Follikulins auf die Mammae kastrierter infantiler Tiere vor (Meerschweinchen, Kaninchen, Mäuse und Ratten) (*Allen, Allen und Doisy Hermann, Laqueur und Mitarbeiter, Lipschütz, Loewe, Steinach und Mitarbeiter, Turner und Frank*). Bei diesen Untersuchungen fand sich eine Mammaphypertrophie (Wachstum der Papille und Neubildung von Ausführungsgängen und Acini), die indessen den Zustand der Mamma bei der Pubertät während des Oestrus der Erwachsenen nicht überschreitet, und bei Aufhören der Follikulinwirkung ließ sich milchähnliches Sekret aus der Papille auspressen. Diese Untersuchungen beruhen auf Transplantationen oder Injektionen von Organextrakten des weiblichen Sexualhormons. Bei unkastrierten infantilen weiblichen Meerschweinchen haben *Scaglione, Vintemberger und Dahl-Iversen* nach Follikulininjektionen eine Entwicklung der Mammae nachgewiesen, die dem Zustand der Mamma in der Pubertät entsprach — und selbst Injektion sehr großer Follikulindosen (*Dahl-Iversen*) änderte diesen Zustand nicht.

Im Gegensatz zu den obenerwähnten Beobachtungen, und mehr in Übereinstimmung mit *Champys* und *Kellers* Beobachtung von einer Mammaentwicklung wie bei Gravidität nach 14—18 Tage dauernder Injektion von lipoidem Ovarialextrakt bei infantilen kastrierten Meerschweinchen, stehen die in meinen Versuchen beschriebenen Befunde.

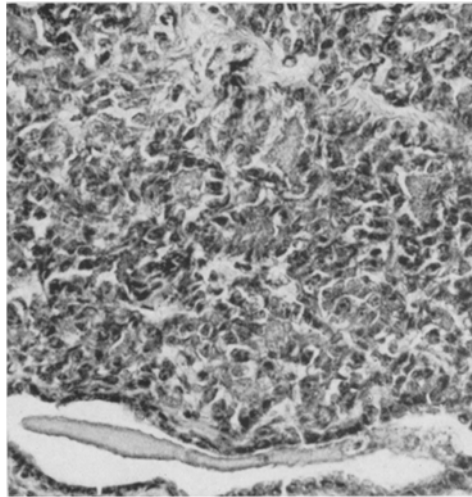


Abb. 6. Versuchsreihe 1. Meerschweinchen Nr. 796. Linke Mamma. Detailbild der hypertrophischen Mammaprüse mit sekretgefüllten Acini und vakuolisiertem Drüsenepithel. Meerschweinchen täglich mit 75 M.E. reindargestellten Follikulins (*Butenandt*) 30 Tage injiziert. Das Tier getötet und mikroskopisch untersucht 5 Tage nach Aufhören der Injektionen. (Siehe Text und Tabelle 1.) Vergrößerung 350fach.

Das mikroskopische Bild der Mammadrüse nach Injektion des rein dargestellten Follikulins (*Butenandt*) zeigt, daß das Follikulin das typische Wachstumshormon ist, das nicht nur eine „Präparation der Mamma“ (*Laqueur*) bewirkt, sondern auch eine bedeutend stärkere Entwicklung des Drüsengewebes bis zur Bildung von sezernierenden Acini wie am Ende der Gravidität.

Faßt man die Resultate dieser Versuchsreihe zusammen so ergibt sich in Kürze folgendes:

Durch tägliche Injektionen des von *Butenandt* rein dargestellten Follikulins während 30 Tagen wurde eine Hypertrophie, Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit und Hyperpigmentierung der Mammae hervorgerufen wie bei Gravidität, und außerdem eine schwache Pigmentierung der Genitalien. Die angewendete Menge des rein dargestellten Follikulins (*Butenandt*) beträgt pro Versuchstier 2250 M.E., gemessen nach dem *Allan-Doisy*-Test. Das Follikulin bewirkt außer Hypertrophie auch eine vermehrte Pigmentierung der Areola und Papilla mammae und außerdem schwache Pigmentierung der Genitalien. Die Mammahypertrophie und die Hyperpigmentierung zeigen 4—6 Wochen nach Aufhören der Follikulininjektionen einen Rückgang, sind aber bei Schluß des Versuches, 3 Monate nach Aufhören der Follikulininjektionen, immer noch sichtbar. Die Pigmentierung tritt nur an den Stellen auf, wo die Haut von vornherein entweder pigmentiert ist oder ein Pigmentierungsvermögen besitzt. Der Grad der Hyperpigmentierung hängt von den lokalen Pigmentverhältnissen in der Haut vor Beginn der Follikulininjektionen ab. Wo die Mamma von vornherein in einem pigmentlosen oder albinotischen Feld der Haut gelegen ist, tritt keine Überpigmentierung ein.

Die hyperpigmentierten Partien der Epidermis enthalten große Mengen Melanin, besonders in der Basalzellschicht. Das Pigment zeigt überall positive Dopareaktion, namentlich in der Basalzellschicht, deren Dendritenzellen deutlich zum Vorschein kommen. Die hypertrophischen Veränderungen der Mammadrüsen entsprechen sowohl makroskopisch wie mikroskopisch denen, die man bei der Schwangerschaft findet.

Versuchsreihe II.

Versuche mit Injektionen von Oestroglandol an kastrierten männlichen Meerschweinchen.

Um die Wirkung des rein dargestellten *Butenandtschen* Follikulins mit der anderer Ovarialhormonpräparate vergleichen zu können, unternahm ich zur Kontrolle gleichzeitig Injektionen von Oestroglandol, 100 M.E. subcutan pro Tag, einmal täglich 30 Tage lang, an 8 kastrierten ausgewachsenen männlichen Meerschweinchen (Meerschweinchen Nr. 789, 790, 791, 792, 799, 800, 801, 802).

Schon früher haben *Bloch* und *Schrafl* gleichzeitig mit den intrarenalen Ovarientransplantationen wie *Lipschütz* Injektionen von Ovarialhormon

in der Form des Handelspräparates Oestroglandol vorgenommen. Die Veränderungen in bezug auf die Entwicklung der akzidentellen Geschlechtscharaktere: Mammahypertrophie und Hyperpigmentierung, die damit erzielt wurden, waren bedeutend weniger ausgesprochen als bei den intrarenalen Ovarientransplantationen.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist in Tabelle 2 zusammengestellt. In Kürze soll hier 1 Versuchsprotokoll wiedergegeben werden.

Meerschweinchen Nr. 799.

28. 9. 32. Farbe des Meerschweinchens: braun und weiß mit einzelnen schwarzen Flecken an beiden Ohren, um die Augen, auf dem Bauch und dem rechten Hinterbein. *Rechte Mamma* leicht pigmentiert, von gelber Farbe. Die Areola mißt 7 mm im Durchmesser. Länge der Papille 2 mm. *Linke Mamma* von gelbweißer Farbe, ohne Pigmentierung. Länge der Papille 2,1 mm. Areola 9 mm im Durchmesser. Keine Pigmentierung der Genitalien. Gewicht 400 g. 30. 9. 32. Kastration. 1. 11. 32. Gewicht des Tieres 450 g. Mamma und Genitalien unverändert. Auch sonst keine Farbenveränderungen an dem Tier. Heute Beginn mit subcutanen Injektionen von Oestroglandol 1 ccm — 100 M.E. täglich. 8. 11. 32. Keine Hypertrophie oder vermehrte Pigmentierung. 15. 11. 32. Mamma unverändert. 21. 11. 32. Beginnende Hypertrophie beider Brustdrüsen, die Turgescenz, leichtes Ödem und etwas Hyperämie zeigen. Rechte Mamma zeigt deutlich erhöhte Pigmentierung. Linke Papille zeigt schwache beginnende Pigmentierung. *Rechte Mamma*: Länge der Papille 3 mm, Breite 1 mm. Areola 10 mm im Durchmesser. Braunschwarze Pigmentierung der Papille und der angrenzenden Teile der Areola. *Linke Mamma* zeigt fleckenweise leicht beginnende Pigmentierung der Papille und ihrer Basis. Länge der Papille 3,2 mm. Breite 1,4 mm. Areola 10 mm im Durchmesser. 1. 12. 32. Erhöhte Pigmentierung der rechten Mammae. Aufhören der Oestroglandolinjektionen. 7. 12. 32. Die Mammahypertrophie ist jetzt sehr beträchtlich. *Rechte Mamma*: Areola 11,5 mm im Durchmesser. Länge der Papille 3,5 mm. Braunschwarze Pigmentierung von Papille und Areola. *Linke Mamma*: Areola 10 mm im Durchmesser. Länge der Papille 3,7 mm. Breite 1,8 mm. Die Genitalien weisen keine Pigmentierung auf. Auch keine Farbenveränderung des Pelzes. Das Tier wurde heute getötet. Beide Mammae wurden mikroskopisch untersucht.

Mikroskopische Untersuchung von Meerschweinchen Nr. 799.

Die mikroskopische Untersuchung bei Meerschweinchen Nr. 799 wurde in derselben Weise und mit denselben Färbungsmethoden wie in Versuchsreihe I vorgenommen.

Im *Frischpräparat* von der rechten Brustwarze sieht man in der Basalzellschicht und auch in den darüberliegenden Epidermisschichten Massen von dicht liegenden schwarzbraunen Körnchen im Protoplasma. In der Basalzellschicht sieht man deutlich Dendritenzellen mit Ausläufern, die meistens eine diffuse braunschwarze Färbung des Protoplasmas zeigen, aber auch Anhäufung von Melanin granula, die an vielen Stellen das Protoplasma vollständig erfüllen und den Zellkern verdecken. Melanin granula finden sich in sämtlichen Epidermisschichten, aber sehr spärlich gegen die Oberfläche hin. In den übrigen Epidermisschichten sieht man die Melanin granula zum Teil sehr charakteristisch angeordnet, indem sie wie eine Art Kappe um den einen Pol des Zellkerns versammelt sind, aber sonst sieht man die Melanin granula ganz unregelmäßig im Protoplasma der Zelle angeordnet.

Tabelle 2. Versuchsreihe II. Versuche mit Follikulininjektionen

Nummer des Tieres	Gewicht in Gramm vor der Kastration	Beobachtungszeit von der Kastration bis zum Beginn der Follikulininjektionen	Gewicht in Gramm bei Beginn der Follikulininjektionen	Farbe des Tieres	Farbe der Brustdrüsen vor Beginn der Follikulininjektionen	Größen der Pigmentveränderungen der tione von	
						1. Monat	2. Monat
789	300	30 Tage	340	Weiß, schwarz und braun	Rechte: blaßgelb. Linke: weiß. Beide unpigmentiert	Nach 2 Wochen beginnende Hypertrophie. Rechte Papille zeigt Spuren von Pigment	Stärkere Hypertrophie. Rechte Papille deutlich pigmentiert
790	350	30 Tage	430	Braun und weiß	Beide blaßrosa und unpigmentiert	Nach 2½ Wochen beginnende Hypertrophie. Keine Pigmentierung	Stärkere Hypertrophie, keine Pigmentierung
791	330	30 Tage	400	Braun, weiß und schwarz	Rechte: weißrosa. Linke: blaßgelb. Beide unpigmentiert	Nach 3 Wochen beginnende Hypertrophie. Linke Papille zeigt Spuren von Pigmentierung	Nach der 5. Woche stärkere Hypertrophie. Linke Mamma zeigt leichte Pigmentierung
792	310	30 Tage	370	Schwarz braun und weiß	Rechte: weißrosa. Linke: gelb. Beide unpigmentiert	Nach 3 Wochen beginnende Hypertrophie. Linke Mamma zeigt leichte beginnende Pigmentierung	Bis zu 5 Wochen weitere Hypertrophie. Linke Brustwarze bräunlich pigmentiert
799	420	30 Tage	450	Braun, schwarz und weiß	Rechte: rötlichbraun mit schwacher Pigmentierung. Linke: hellgelb ohne Pigmentierung	Nach 2½ Wochen beginnende Hypertrophie. Rechte Mamma pigmentiert, linke zeigt schwach beginnende Pigmentierung der Papille	Bis in die 5. Woche anhaltende Hypertrophie. Rechte Mamma stark pigmentiert. 7. 12. Das Tier zur mikroskopischen Untersuchung getötet
800	410	30 Tage	430	Weiß und braun	Rechte: gelb. Linke: weißgelb. Beide unpigmentiert	Nach 2½ Wochen beginnende Hypertrophie. Keine vermehrte Pigmentierung. Rechte Mamma zeigt beginnende Pigmentierung	Bis in die 5. Woche deutliche Volumvermehrung. Linke Mamma leicht pigmentiert. Rechte Mamma leicht pigmentiert
801	470	30 Tage	560	Braun und schwarz	Beide gelb mit Spritzern von kleinen hellbräunlichen Pigmentflecken	Nach 2 Wochen beginnende Hypertrophie und Pigmentvermehrung	Bis in die 5. Woche deutliche Hypertrophie und zunehmende Pigmentierung. 7. 12. 32 Das Tier zur mikroskopischen Untersuchung getötet

(Oestroglandol) an kastrierten männlichen Meerschweinchen.

Mamma während und nach den Injektionen Oestroglandol		Hormonale Wirkung	Gewicht des Tieres bei Abschluß des Versuches	Bemerkungen
3. Monat	4. Monat			
Von der 11. Woche ab zeigt die Hypertrophie Rückgang	Hypertrophie in der 16. Woche verschwunden. Die Überpigmentierung der rechten Mamma schwindet	+	420	Längenzunahme der rechten Papille von 0,8 auf 3,5 mm. Längenzunahme der linken Papille von 1,6 auf 4 mm während der Oestroglandolinjektionen. Die rechte Mamma liegt in einem Feld von hellbraunen Haaren. Die linke Mamma liegt in einem Feld von albinotischen Haaren.
Von der 12. Woche ab zeigt die Hypertrophie Rückgang	Die Hypertrophie verschwindet	+	510	Längenzunahme beider Papillen von 1,5 auf 3,5 mm. Beide Brustwarzen liegen in einem Feld von albinotischen Haaren
Von der 11. Woche ab ist die Hypertrophie im Rückgang	Die Hyperpigmentierung verschwindet	+	460	Längenwachstum der rechten Papille von 1,8 auf 3,9 mm. Längenwachstum der linken Papille von 1,5 auf 3 mm. Linke Mamma liegt in einem Feld von hellbraunen Haaren. Rechte Mamma liegt in einem Feld von albinotischen Haaren
Von der 12. Woche ab zeigt die Hypertrophie Rückgang	Die Überpigmentierung verschwindet	+	450	Längenwachstum der rechten Papille von 1,7 auf 3,5 mm. Längenwachstum der linken Papille von 1,8 auf 3,5 mm. Linke Mamma von braunen Haaren umgeben. Rechte Mamma von albinotischen Haaren umgeben
—	—	+	490	Längenzunahme der rechten Papille von 2 auf 3,5 mm. Längenzunahme der linken Papille von 2,1 auf 3,7 mm. Rechte Mamma liegt in einem Feld von braunen und schwarzen Haaren. Linke Mamma liegt in einem albinotischen Feld
Von der 10. Woche ab ist die Hypertrophie im Rückgang	In der 14. Woche verschwindet die Überpigmentierung	+	520	Längenzunahme der rechten Papille von 1,8 auf 3,7 mm. Längenzunahme der linken Papille von 2 auf 4 mm. Rechte Mamma liegt in einem Feld von braunen und schwarzen Haaren. Linke Mamma liegt in einem Feld von albinotischen Haaren
—	—	+	600	Längenzunahme der rechten Papille von 1,6 auf 4 mm. Längenzunahme der linken Papille von 1,9 auf 3,8 mm

Tabelle 2

Nummer des Tieres	Gewicht in Gramm vor der Kastration	Beobachtungszeit von der Kastration bis zum Beginn der Follikulininjektionen	Gewicht in Gramm bei Beginn der Follikulininjektionen	Farbe des Tieres	Farbe der Brustdrüsen vor Beginn der Follikulininjektionen	Größen der Pigmentveränderungen der tionen von	
						1. Monat	2. Monat
802	430	30 Tage	450	Braun und weiß	Beide Mammæ hellgelbbraun mit kleinen Spritzern von hellbraunem Pigment	Nach 3 Wochen beginnende Hypertrophie und schwache Überpigmentierung	Bis in die 5. Woche andauernde Hypertrophie und gesteigerte Pigmentierung. 7. 12. 32. Das Tier zur mikroskopischen Untersuchung getötet

Im *Dopapräparat* treten die Basalzellschicht und besonders die Dendritenzellen deutlich hervor. Sie zeigen im wesentlichen diffuse braunschwarze Färbung des Protoplasmas und der verzweigten Ausläufer. Einzelne von den Dendritenzellen enthalten auch deutliche Pigmentgranula. Sonst sieht man wie im Frischpräparat, aber stärker hervortretend, dopapositive Pigmentgranula in sämtlichen Epidermisschichten. Im Stratum corneum liegen die Pigmentkörner zwischen den Hornlamellen angeordnet. Während die Dendritenzellen der Basalzellschicht jetzt diffuse Dopareaktion im Protoplasma zeigen, findet man in den übrigen Epidermisschichten nur eine granuläre Dopareaktion mit dopapositiven braunschwarzen Melaningranula. Im Corium weisen Blutgefäße und Leukocyten positive Dopareaktion auf. Ebenso sieht man dopapositive Melaningranula in einzelnen Ausführungsgängen der Milchdrüsen.

In *Silbernitratpräparaten* sieht man eine deutliche Silberreaktion in den Pigmentgranula der Epidermis, wobei besonders die Dendritenzellen der Basalzellschicht eine stark positive Reaktion annehmen, aber auch die Pigmentkörner in den übrigen Epidermiszellen.

In *hämatoxylin-eosin gefärbten Präparaten* (Paraffinschnitt) sieht man in Epidermis und Corium dieselben Veränderungen wie in Frischpräparaten (Gefrierschnitten). In der Papilla mammae sieht man einen erweiterten Sinus lactiferus und außerdem an der Basis der Papille zahlreiche erweiterte geschlängelte Milchgänge mit einem kubischen Epithel mit einzelnen Vakuolen im Protoplasma. Man findet außerdem sehr kleine Lappen von proliferierenden Mammarydrüsen mit dichtliegenden und zahlreichen kleinen Drüsenalveolen, von denen die meisten kompakt sind. Diese Drüsenalveolen sind von einem kubischen Epithel ausgekleidet mit zahlreichen Vakuolen im Protoplasma und enthalten einzelne Lumina, die zum Teil mit Fettvakuolen und einzelnen weißen Blutkörperchen angefüllt sind.

Das dazwischenliegende Bindegewebsstroma besteht aus einem lockeren, gefäßreichen Bindegewebe, worin man einzelne Chromatophoren sieht.

Linke Brustwarze zeigt im *Frischpräparat* (Gefrierschnitt) an der Papille spärliche Pigmentierung der Basalzellschicht, worin nur einzelne deutliche Dendritenzellen, und nur wenige Melaningranula in den übrigen Epidermisschichten.

Im *Dopapräparat* sieht man positive Dopareaktion. In der Basalzellschicht zeigen die Dendritenzellen teilweise eine diffuse Protoplasmaeaktion.

In den übrigen Epidermisschichten sind die dopapositiven Pigmentkörner dagegen gering an Zahl. Leukocyten, Blutgefäße zeigen positive Dopareaktion. Ebenso sieht man dopapositive Pigmentgranula in einzelnen Epithelzellen der Milchgänge.

(Fortsetzung).

Mamma während und nach den Injektionen Oestroglandol		Hormonale Wirkung	Gewicht des Tieres bei Abschluß des Versuches	Bemerkungen
3. Monat	4. Monat			
—	—	+	480	Längenzunahme der rechten Papille von 2 auf 4,3 mm. Längenzunahme der linken Papille von 2,2 auf 4,5 mm

Silbernitratpräparat gibt positive Silbernitratreaktion der Melaningranula. *Hämatoxylin-Eosinpräparate* (Paraffinschnitte) bieten dieselben Veränderungen dar, wie sie für die rechte Mamma beschrieben sind.

Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, daß die Hypertrophie und Hyperpigmentierung der Mamma nach 2—3 Wochen eintritt und zunimmt, solange die Oestroglandolinjektionen dauern. Es wurde jedoch keine Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit und auch keine Pigmentierung der Genitalien hervorgerufen. Von der 11.—12. Woche an nehmen Hypertrophie und Pigmentierung ab. Bei Abschluß des Versuches, 3 Monate nach Aufhören der Oestroglandolinjektionen, war die Pigmentierung verschwunden, aber Spuren der Mammahypertrophie waren noch vorhanden.

Die Versuchstiere, die mit Oestroglandol gespritzt wurden, zeigen qualitativ dieselben Mammaveränderungen wie bei Injektion mit dem rein dargestellten Follikulin (*Butenandt*), aber quantitativ sind diese Veränderungen bedeutend weniger ausgesprochen, sowohl hinsichtlich der Hypertrophie wie der Pigmentierung. Dieser Umstand ist von großem Interesse, weil die oestroglandolbehandelten Tiere anscheinend mehr von dem weiblichen Sexualhormon Follikulin, gemessen an dem *Allan-Doisy*-Test erhalten haben, als die in der 1. Versuchsreihe beschriebenen Tiere, die mit dem rein dargestellten Follikulin (*Butenandt*) gespritzt wurden. Dies liegt möglicherweise daran, daß im Oestroglandol hemmende Stoffe vorhanden sind, oder, was am wahrscheinlichsten ist, daß das von *Butenandt* rein dargestellte Follikulin in seiner Wirkung stärker ist.

Versuchsreihe III.

Einwirkung des Follikulins auf die Pigmentierung und die Mammdrüse bei nicht kastrierten männlichen Meerschweinchen.

Schon in seinen ersten Transplantationsversuchen äußerte *Steinach* (1912) die Vermutung, daß ein Antagonismus zwischen der implantierten

Geschlechtsdrüse von dem entgegengesetztem Geschlecht und den Geschlechtsdrüsen in situ bestände. Und diese Hypothese ist stehen geblieben, wenn sie auch nicht in ihrem vollen Umfang aufrecht erhalten werden konnte. Durch intratestikuläre Ovarientransplantationen konnten Sand und Lipschütz einen hormonalen Effekt des weiblichen Sexualhormons erzielen, selbst wenn beide Testikel vorhanden sind. Daher wäre der Versuch von Bedeutung festzustellen, in welcher Ausdehnung das Follikulin auf die Pigmentbildung und die Mammadrüsen bei Vorhandensein des Testishormons, also auf unkastrierte männliche Meerschweinchen wirkt. Man müßte von vornherein annehmen, daß sich ein starker Antagonismus geltend machen würde.

In den bisher mitgeteilten Untersuchungen in Versuchsreihe I und II ist die Wirkung des reindargestellten Follikulins (*Butenandt*) und die eines Handelspräparates des weiblichen Sexualhormons — des Oestroglandols — auf männliche Kastraten beschrieben worden. Die Wirkung der beiden Follikulinpräparate war qualitativ ungefähr die gleiche, wenigstens in bezug auf die Wirkung auf das Hautpigment und die Mammadrüse, zeigte aber quantitativ einige Unterschiede.

Da ich für meine Untersuchungen nur ein bestimmtes Quantum des von *Butenandt* rein dargestellten Follikulins zur Verfügung hatte, ist zu dieser Versuchsreihe Oestroglandol verwendet worden. Als Versuchstiere wurden 10 unkastrierte, männliche, ausgewachsene Meerschweinchen benutzt, denen einmal täglich Oestroglandol, 100 M.E. — 1 cem pro Tag 30 Tage lang injiziert wurde, und die dann 4 Monate beobachtet wurden.

In Kürze soll folgendes Versuchsprotokoll wiedergegeben werden:

Meerschweinchen Nr. 870.

16. 11. 32. Farbe des Tieres braun mit schwarzen und weißen Flecken. Bauch bräunlich meliert mit weißen Flecken. Gewicht 400 g. Beide Mammae sind von hellgelber Farbe, die Papillen ganz klein und fadenförmig. *Rechte Mamma*: Areole 7 mm im Durchmesser. Länge der Papille 1,7 mm. Breite 1 mm. Farbe hellgelb mit angedeuteten ganz kleinen Pigmentflecken. *Linke Mamma*: Areola 9 mm im Durchmesser. Länge der Papille 2 mm, Breite 1 mm. Farbe hellgelb mit deutlichen Pigmentflecken an der Basis der Papille. Genitalien blaßgelb ohne Pigmentierung. 20. 11. 32. Beginn der Oestroglandolinjektionen (Hoffmann La Roche, Basel) 100 M.E. einmal täglich subcutan. 17. 12. 32. Spuren von Pigmentvermehrung und ein schwacher Ansatz von beginnender Hypertrophie beider Mammae. 20. 12. 32. Die Oestroglandolinjektionen hören auf. 3. 1. 33. Deutliche Hypertrophie beider Mammae, die etwas vorgewölbt sind und leichte Turgescenz sowie vermehrte Pigmentierung aufweisen. Besonders ist die Verlängerung der Papille auffallend. *Rechte Mamma*: Länge der Papille 3 mm. Pigmentvermehrung auf der Papille und ihrer Basis. Im übrigen kleinfleckige helle Pigmentierung in den zentralen Partien der Areola. *Linke Mamma*: Länge der Papille 3,2 mm. Verstärkte dunkelbraune Pigmentierung der Papille und der angrenzenden Teile der Areola. Areola 10 mm im Durchmesser. Die Genitalien zeigen keine Hyperpigmentierung. Der Pelz ist wie oben angegeben. 5. 1. 32. Die Areola ist jetzt an beiden Mammae vorgewölbt. Die Pigmentierung dunkelbraun, auf beiden Papillen diffus, auf der Areola fleckig. Keine Milchsekretion. Länge der Papille und Durchmesser der

Areola wie oben angegeben. 8. 2. 33. Die Hypertrophie der Mammæ ist in Rückgang. Die Turgeszenz geringer. Namentlich haben die Papillen an Größe abgenommen. Die Pigmentierung geringer. 16. 2. 33 Die Pigmentierung weiter abnehmend. 20. 3. 33. Beide Mammæ zeigen jetzt nur ganz schwache Spuren von Hypertrophie und die Größe nähert sich der normalen. Die Hyperpigmentierung ist fast verschwunden. *Rechte Mamma*: Länge der Papille 2 mm. Areola 7 mm im Durchmesser. Nur sehr schwache Pigmentierung an der Basis der Papille. *Linke Mamma*: Länge der Papille 2 mm. Areola 9 mm im Durchmesser. Keine Spur von Pigmentierung.

Bei sämtlichen Versuchstieren in dieser Versuchsreihe wurde eine positive Follikulinreaktion mit Hyperpigmentierung und Hypertrophie der Mammæ erzielt, aber in bedeutend geringerem Grad als bei den kastrierten Tieren. Spuren der Hyperpigmentierung und Mammahypertrophie erscheinen am Ende der 4. und 5. Versuchswoche, beide waren aber erst in der 6.—7. Woche deutlich und nahmen von der 9.—10. Woche an wieder ab. Beim Abschluß des Versuchs drei Monate nach Aufhören der Follikulininjektionen ist die Hyperpigmentierung und die Hypertrophie der Mamma verschwunden.

Bei Vergleich der Follikulinwirkung in dieser Versuchsreihe mit Versuchsreihe I und II (Follikulininjektionen bei kastrierten männlichen Meerschweinchen) erweist sich der hormonale Effekt in den letztgenannten Versuchsreihen als außerordentlich viel stärker. Sowohl die Hyperpigmentierung wie die Mammahypertrophie traten zu einem späteren Zeitpunkt ein, waren weniger ausgesprochen und verschwanden rascher als bei den *kastrierten* männlichen Meerschweinchen, die mit Follikulin gespritzt wurden. In dieser Versuchsreihe konnte keine Hyperpigmentierung der Genitalien nachgewiesen werden und auch keine Sekretbildung in den Mammæ. Mammahypertrophie und Hyperpigmentierung waren geringer als bei den kastrierten Tieren und ebenso war die Gewichtszunahme geringer.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist in Kürze folgendes:

Durch Follikulininjektionen, 100 M.E. pro Tag, einmal täglich subcutan, 30 Tage lang, wird bei unkastrierten männlichen Meerschweinchen schwache Hyperpigmentierung und Hypertrophie der Mammæ hervorgerufen, aber in viel geringerem Grade als bei den follikulingespritzten kastrierten männlichen Meerschweinchen in Versuchsreihe I und II. Die Hyperpigmentierung zeigt mikroskopisch qualitativ dieselben Veränderungen, ist aber quantitativ bedeutend schwächer als in Versuchsreihe I und II.

Ebenso findet man hinsichtlich der Mammahypertrophie geringere Proliferation des Drüsengewebes mit bedeutend geringerer Entwicklung von Acini und keine Vakuolisierung des Drüsenepithels oder Sekretbildung.

Die schwächere Entwicklung der Hyperpigmentierung und der Mammahypertrophie in dieser Versuchsgruppe muß wahrscheinlich der

antagonistischen Wirkung der männlichen Sexualdrüse zugeschrieben werden — in Übereinstimmung mit dem, was *Steinach* und *Lipschütz* früher nachgewiesen haben.

Versuchsreihe IV.

Das Verhalten der Pigmentierung und der Mammarydrüse bei männlichen Meerschweinchen nach der Kastration.

Bisher ist in dieser Arbeit der Erfolg von Follikulininjektionen auf die Pigmentierung und die Pigment- und Volumveränderungen in der Mammarydrüse bei kastrierten und unkastrierten männlichen Meerschweinchen behandelt worden. Um die Wirkungen des Follikulins beurteilen zu können, ist es indessen notwendig klarzustellen, welche Einwirkung die *Kastration allein* auf die Pigmentierung und besonders auf die Pigment- und Volumveränderungen der Mammæ hat.

Zu diesem Zweck wurden Meerschweinchen von 3 verschiedenen Altersgruppen kastriert und dann durch einen Zeitraum von 4 Monaten beobachtet.

Diese 3 Kontrollgruppen waren folgende:

1. Kastrierte ausgewachsene männliche Meerschweinchen, 6 Tiere.
2. Kastrierte jugendliche männliche Meerschweinchen. 5 Tiere.
3. Ganz junge männliche Meerschweinchen. 5 Tiere.

Das Ergebnis dieser 3 Kontrollgruppen ist folgendes: Bei den männlichen Kastraten in einzelnen Fällen ist eine schwache Zunahme der Pigmentierung der Mammæ und ebenso eine leichte Volumzunahme derselben zu beobachten. Daß dies bei einzelnen Versuchstieren, so bei den *Infantilkastraten* und den *ganz jungen Kastraten* vorkommt, ist nicht weiter eigentümlich. Es muß bei diesen noch nicht ausgewachsenen Tieren als ein Wachstumsphänomen betrachtet werden — wie ja auch die Pigmentierung mit dem Alter zunimmt.

Für das Verhalten der ausgewachsenen Kastraten — der *Spätkastraten* — trifft diese Erklärung kaum zu.

Nach *Bernhard Zondeks* Untersuchungen zeigt die Hypophyse bei Kastraten nicht nur morphologische Veränderungen, sondern auch eine erhöhte Funktion, so z. B. in Form einer gesteigerten Produktion von Hypophysenvorderlappenhormon (Prolan A). Indessen fanden *Bloch* und *Schrafl* weder Hyperpigmentierung noch Mammaryhypertrophie nach Prolaninjektion bei Kastraten oder normalen Meerschweinchen. Doch kann man auch an die Möglichkeit denken, daß die leicht erhöhte Pigmentierung, die man in einzelnen Fällen bei Spätkastraten findet, durch die verstärkte Aktivität der Hypophyse verursacht wird, die sich vielleicht in Form einer gesteigerten Intermedinbildung geltend macht.

Die sehr schwachen Pigmentierungen und Volumveränderungen, die bei Infantilkastraten während des Wachstums beobachtet sind, und

die sporadischen kleinen Pigmentierungen bei Spätkastraten sind, verglichen mit den Volumveränderungen, die durch Follikulininjektionen hervorgebracht werden, ganz verschwindend.

Versuchsreihe V.

Die experimentelle Erzeugung von Schwangerschaftshyperpigmentierung (Chloasmata) bei nicht graviden Frauen.

Die Beziehung der Hyperpigmentierung zu lokalen Wachstumsprozessen und zur Hypertrophie.

Die Meerschweinchenversuche zeigen, daß die Hyperpigmentierung und die Mammahypertrophie der Wirkung des eigentlichen weiblichen Sexualhormons zu verdanken sind. In diesen Tierversuchen sieht man die Hyperpigmentierung nur an prädisponierten Stellen der Haut und nur dort, wo Hypertrophie ist, und gleichzeitig mit dieser. Auf Grund seiner Versuche mit intrarenalen Ovarientransplantationen bei kastrierten männlichen Meerschweinchen hat daher *Lipschütz* die Theorie aufgestellt, daß die Hyperpigmentierung bei Gravidität und die Hyperfeminisierung eine Folge der lokalen Hypertrophie ist, die bei diesen Zuständen auftritt. Nach *Lipschütz'* Auffassung sollten die starken lokalen Wachstumsprozesse, die besonders in den Brustdrüsen stattfinden, die Faktoren auslösen, die die Hyperpigmentierung bewirken, indem er es für ausgeschlossen hält, daß das Ovarialhormon die pigmentbildenden Zellen in der Epidermis direkt beeinflußt. So fand *Lipschütz* nach einseitiger Kastration eines Kaninchens starke Pigmentierung der Scrotalhaut über dem zurückgebliebenen Hoden, der beträchtliche vikariierende Hypertrophie aufwies.

Um die Frage nach den Ursachen und der Pathogenese der Schwangerschaftshyperpigmentierung zu klären, würde es entscheidend sein, wenn man die Schwangerschaftshyperpigmentierung auf experimentellem Wege erzeugen und nachweisen könnte ohne gleichzeitige oder nachfolgende Hypertrophie. Um diese Frage zu beantworten, müßte man die Wirkung von Follikulininjektionen auf die Hyperpigmentierung in Hautregionen beobachten, die nicht wie die Mammergegend gleichzeitig der Sitz lokaler Wachstumsprozesse sind. Dies läßt sich am leichtesten beim Menschen durchführen, wo die Graviditätshyperpigmentierung auch in Partien der Haut auftritt, die keine lokale Hypertrophie zeigen, nämlich in Form der sog. Chloasmata.

Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, indem nicht gravide Frauen regelmäßig Oestroglandolinjektionen erhielten. Indessen wurden die Untersuchungen in beträchtlichem Grade dadurch erschwert, daß die Injektionen längere Zeit fortgesetzt werden mußten, und da das Follikulin ein kostbarer Stoff ist, mußte man die tägliche Dosis so einschränken, daß man in diesen Versuchen bedeutend geringere Follikulindosen gab als in den Meerschweinchenversuchen, sowohl absolut, wie pro Kilogramm Körpergewicht. Dieser Umstand beschränkte auch die Zahl der Versuche.

Im ganzen wurden drei Frauen im Alter von 22—28 Jahren mit Oestroglandol gespritzt. Von diesen gaben zwei positiven Ausfall.

Fall 1. 22jährige Nullipara, die an chronischer Gonorrhoe litt, aber sonst keine Krankheitszeichen aufwies (Wa.R. \div). Die Haut war normal ohne Pigmentierungen.

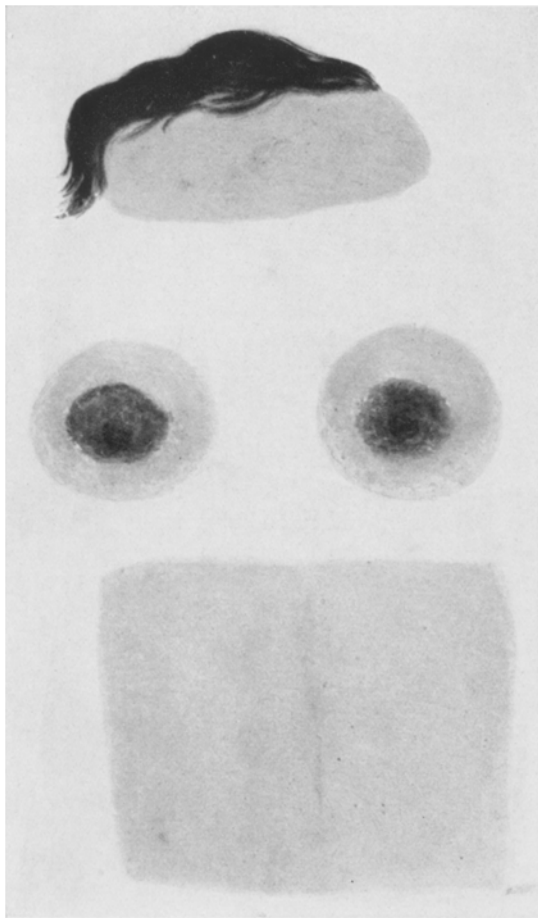


Abb. 7. Fall 1. Versuchsreihe V. 22jährige Nullipara vor den Follikulininjektionen.

Die Menstruation der Patientin war während der ganzen Dauer des Versuches regelmäßig. Gewicht 54 kg. Die Patientin erhielt täglich 1 ccm = 100 M.E. Oestroglandol. Die Patientin wurde 66 Tage gespritzt und erhielt in diesem Zeitraum 66 ccm = 6600 M.E. Oestroglandol. Nach 54 Tagen begann sich schon eine leichte Pigmentierung an der Stirn und in der Linea alba zu zeigen. Diese Pigmentierungen nahmen zu, und bei Abschluß des Versuches 12 Tage später am 66. Injektionstag konnte man folgendes beobachten:

Außer einer leichten Pigmentierung der Linea alba sieht man eine deutliche Pigmentierung der Areola und Papilla mammae und eine sehr stark entwickelte Pigmentierung auf der Stirn und auf der Oberlippe (s. Abb. 7 und 8). Ihrem Aussehen und ihrer Verteilung nach entsprechen diese Hyperpigmentierungen vollkommen einem Chloasma uterinum von mittlerer Stärke. Siehe Abbildung: Stirn, Oberlippe, Linea alba, Mammae. Die Patientin wurde weitere 4 Wochen beobachtet, und in diesem

Zeitraum hielten sich die Hyperpigmentierungen unverändert. Biopsie von dem Chloasma an der Stirn ergab stark positive Dopareaktion.

Fall 2. 28jährige Frau, Gewicht 63 kg, Nullipara, die an chronischer Gonorrhoe litt. Status praesens im übrigen normal, speziell keine Hautpigmentierungen (Wa.R. \div). Menses während der Follikulininjektionen regelmäßig. Die Patientin wurde einmal täglich subcutan mit Oestroglandol, 1 ccm = 100 M.E., gespritzt, 70 Tage lang. Erhielt im ganzen 7000 M.E. Am 65. Tag der Injektionen sah man eine leichte Pigmentierung in der Linea alba und an der Schläfe. Bei Auf-

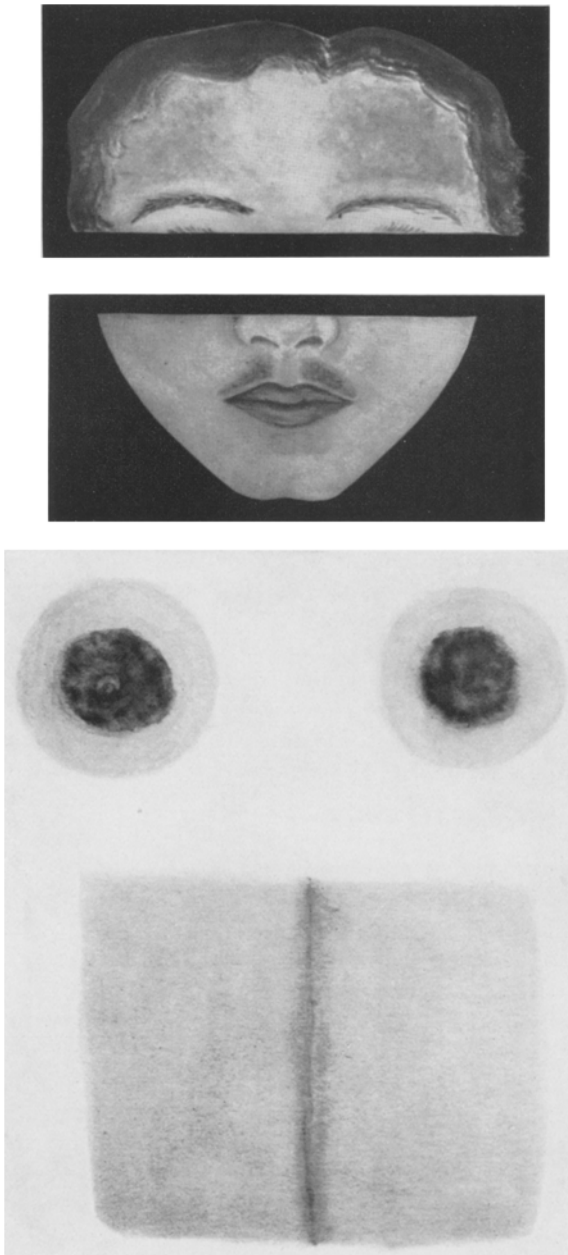


Abb. 8. Fall 1. Versuchsreihe V. 22jährige Nullipara, *nicht gravid* nach den Injektionen von 100 M.E. Follikulin (Oestroglandol) im Lauf von 66 Tagen = 6600 M.E. Das Bild zeigt die ausgesprochene Hyperpigmentierung der Mammae und der Linea alba, sowie Chloasmata an der Stirn und auf der Oberlippe. (Photographie nach Farbenzeichnung.)

hören der Injektionen nach 70 Tagen war der Befund folgender: Leicht beginnende Pigmentierung der Linea alba und der Areola und Papille mammae. Ein schwach gelblich pigmentierter Fleck an der Schläfe. Die Hyperpigmentierung bedeutend schwächer als bei Fall 1.

Fall 3. 27jährige Frau, Gewicht 58 kg, Nullipara, an chronischer Gonorrhoe leidend. Status praesens im übrigen normal. Die Haut zeigt keine Pigmentierung. Die Patientin erhielt 1 cm \equiv 100 M.E. Oestroglandol einmal täglich subcutan. Nach 28 Tagen mußte der Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen werden, ohne daß bis zu diesem Zeitpunkt eine Überpigmentierung in der Haut aufgetreten war. Die Patientin hatte bei Aufhören der Follikulininjektionen 28 Tage lang je 100 M.E. erhalten, im ganzen 2800 M.E.

Die Hyperpigmentierungen die in diesen Versuchen erzeugt wurden entsprechen vollkommen den Schwangerschaftsüberpigmentierungen.

Die ausgesprochene Hyperpigmentierung der Oberlippe, die in Fall 1 experimentell hervorgerufen wurde, hat eine große Ähnlichkeit mit der perioralen Hyperpigmentierung, die man bisweilen bei seborrhoischen Jungfrauen sehen kann (*Chloasma virginum periorale v. Poor*).

Durch diese Versuche hat man die Gewißheit erhalten, daß zwischen den Pigmentbildungen in der Haut und dem weiblichen Sexualhormon, Follikulin, ein Zusammenhang besteht, und zugleich geht aus den Versuchen hervor, daß die Schwangerschaftshyperpigmentierung auf einer Überschwemmung des Organismus mit dem weiblichen Sexualhormon Follikulin beruht. Die infolge der Injektionen stark gesteigerte hämatogene Zufuhr von Follikulin erhöht das Pigmentierungsvermögen der Melanoblasten in bestimmten Hautregionen, die die Fähigkeit besitzen sich zu pigmentieren (nicht in albinotischen Hautpartien) und löst hier in den Melanoblasten eine Hyperpigmentierung von wechselnder Intensität aus.

Die Versuche liefern somit den experimentellen Beweis dafür daß die Schwangerschaftshyperpigmentierung von dem weiblichen Sexualhormon, Follikulin, hervorgebracht wird.

Diese Schlüsse bleiben unerschüttert stehen, auch wenn es Loeser nicht gelang, das Follikulin in der Haut von Schwangeren nachzuweisen. Die von Loeser angewandte Methodik: Implantation von Hautstücken von schwangeren Frauen auf infantile Ratten — ist indessen zu grob, um genaue Werte liefern zu können.

Der Nachweis eines direkten Zusammenhanges zwischen Pigmentierung und Hormonwirkung ist von bedeutendem allgemeinpathologischem Interesse, namentlich im Hinblick auf die Ätiologie der verschiedenen Pigmentanomalien, von denen man bei einer Anzahl vermutet hat, daß sie durch endokrine Störungen entstehen. Man muß da vor allen Dingen an die Hyperpigmentierung bei Morbus Basedowi, bei Sklerodermie, bei Acanthosis nigricans, namentlich aber an die Hyperpigmentierung bei Morbus Addisoni denken, deren Pathogenese noch immer im dunkeln liegt.

Dadurch, daß man Chloasmata im Gesicht bei nicht graviden Frauen durch langdauernde Follikulininjektionen hervorruft, erhält man den Beweis, daß die Schwangerschaftshyperpigmentierung nicht als eine Folge gleichzeitiger lokaler Wachstumsprozesse entsteht, sondern dadurch, daß das Follikulin die pigmentbildenden Zellen in der Epidermis unmittelbar beeinflußt.

Durch die vermehrte Follikulinzufuhr nimmt das Pigmentierungsvermögen der Epidermismelanoblasten zu und wird zu einer mehr oder minder kontinuierlichen Pigmentbildung in bestimmten Lokalisationen während der Schwangerschaft angeregt. Die Melanoblasten scheinen an diesen Stellen als dasjenige Organ zu fungieren, durch das die Follikulinwirkung ausgelöst wird, und bilden eine Art von Erfolgsorgan für die Follikulinwirkung.

Obgleich diese Versuche zeigen, daß Schwangerschaftshyperpigmentierungen auftreten können, ohne von gleichzeitigen Wachstumsprozessen oder von Hypertrophie begleitet zu sein, so bleibt es doch die Erfahrung der Geburtshelfer, daß die Schwangerschaftshyperpigmentierung vorzugsweise dort auftritt, wo gleichzeitig hypertrophische Prozesse stattfinden.

So treten namentlich in der letzten Hälfte der Schwangerschaft Hyperpigmentierungen in frischen Narben mit starker Vaskularisierung auf. Es ist auch gelungen, Überpigmentierung von Narben durch Injektion von großen Follikulindosen experimentell hervorzurufen (s. den Abschnitt: Versuche mit Überdosierung von Follikulin, Versuchsreihe VI).

Man sieht diese Hyperpigmentierung bei Graviden auch auftreten nach Einwirkung hyperämisierender Reizmittel, besonders auf dem Abdomen, so z. B. nach Einwirkung von Wärme (warme Umschläge, Wärmekissen) und Licht (*Jesionek*).

Es muß die lokale Hyperämie mit der darauf folgenden starken Vaskularisierung sein — mag sie durch Wärme, Licht Entzündungen oder Traumen (Excisionen, Operationen) hervorgerufen sein — die als pigmentfördernder Reiz in diesen Fällen wirkt.

Versuchsreihe VI.

Versuche mit Überdosierung von Follikulin.

Der Mechanismus bei der Schwangerschaftshyperpigmentierung ist durch die bisher besprochenen Untersuchungen noch nicht vollständig geklärt.

Eine Möglichkeit, die besonders bei der *Addison'schen* Krankheit viel erörtert und in verschiedener Weise beantwortet worden ist, ist die, daß das Hormon selber das Melanogen repräsentiert. Diese Möglichkeit, die man für das Adrenalin bei der Addison-Hyperpigmentierung angenommen hat, kommt für die Graviditätshyperpigmentierung nicht in Betracht.

Tabelle 3. Versuchsreihe VI. Versuche mit Überdosierung von

Nummer des Tieres	Ge- wicht g	Farbe	Überpigmentierungen und Volumveränderungen nach Beginn der Follikulin-	
			1. Monat	2. Monat
913	410	Weiß, schwarz und braun	Nach 6 Tagen beginnende Hypertrophie und Überpigmentierung beider Mammæ. Auch der Genitalien. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 20 Tagen	Stark ausgeprägte Hypertrophie und Pigmentierung beider Mammæ. Pigmentierung der Genitalien hervortretend. Nach 8 Wochen Aufhören der Sekretion
914	450	Weiß, braun und schwarz meliert	Nach 8 Tagen beginnende Mammahypertrophie. Pigmentierung erst nach 14 Tagen. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 18 Tagen	Ausgesprochene Hypertrophie beider Mammæ. Überpigmentierung geringer. Keine Pigmentierung der Genitalien. In der 8. Woche Aufhören der Sekretion
915	400	Weiß und bräun- lich meliert	Nach 5 Tagen beginnende Hypertrophie und Pigmentierung der Mammæ. Genitalien ebenfalls pigmentiert. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 24 Tagen	Überpigmentierung und Mammahypertrophie unverändert. Sekretion hat in der 7. Woche aufgehört
916	470	Weiß, schwarz und braun	Nach 6 Tagen beginnende Hyperpigmentierung und Hypertrophie der Mammæ. Genitalien ebenfalls pigmentiert. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 21 Tagen	Hypertrophie und Überpigmentierung unverändert. Die Sekretion hat nach 8 Wochen aufgehört
917	420	Weiß, schwarz und braun	Nach 5 Tagen beginnende Hypertrophie beider Mammæ und Überpigmentierung der linken Mamma. Rechte Mamma albinotisch. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 18 Tagen	Hypertrophie und Überpigmentierung unverändert. Die Sekretion hat nach 7 Wochen aufgehört. Genitalien nur spärlich pigmentiert
918	440	Braun und schwarz	Nach 5 Tagen deutlich beginnende Mammahypertrophie und Überpigmentierung der rechten Mamma und der Genitalien. Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit nach 18 Tagen	Hypertrophie und Überpigmentierung unverändert. Sekretion nach 7 Wochen verschwunden. Schwache Pigmentierung der linken Mamma in der 5. Woche

Das Follikulin, dessen Konstitution durch *Butenandts* Untersuchungen festgestellt ist, ist eine stickstofffreie, nicht chromogene Substanz. Die Annahme, daß das Follikulin, das während der Schwangerschaft in großen Überschuß im Blut zirkuliert, und das in diesen Versuchen in großen Mengen injiziert wurde, durch die die in der Haut von vornherein vorhandene Dopa oxydase zu Melanin umgebildet werde, und dadurch

Follikulin an kastrierten männlichen Meerschweinchen.

von Meerschweinchen injektionen		Ge- wicht g	Bemerkungen
3. Monat	4. Monat		
Abnehmende Hypertrophie und Pig- mentierung	Nach 16 Wochen noch immer Spu- ren von Mamma- hypertrophie und Pigmentierung	430	Beide Mammae hypertrophisch und überpigmentiert. Längenzunahme der rechten Papille von 1 auf 6 mm. Längen- zunahme der linken Papille von 1,7 auf 5,8 mm vom 1. bis zum 30. Versuchs- tag. Genitalien überpigmentiert
Desgl.	Mammahypertro- phie und Überpig- mentierung stark reduziert, aber noch immer sicht- bar	470	Beide Mammae stark hypertrophisch. Geringere Überpigmentierung. Vom 1. bis zum 30. Versuchstag: Längenzu- nahme der rechten Papille von 1,2 auf 6,1 mm, Längenzunahme der linken Pa- pille von 1,5 auf 5,8 mm. Die Genitalien liegen in einem schwarz pigmentierten Feld
„	Mammahypertro- phie und Überpig- mentierung fast verschwunden	390	Vom 1. bis zum 30. Versuchstag: Längen- zunahme der rechten Papille von 1,4 auf 6,3 mm, Längenzunahme der linken Pa- pille von 1,2 auf 6 mm. Beide Mammae und die Genitalien stark pigmentiert
„	Nach 16 Wochen die Mammadrüsen- hypertrophie noch immer sichtbar. Überpigmentierung fast verschwunden	490	Vom 1. bis zum 30. Versuchstag: Längen- zunahme der rechten Papille von 1 auf 6,4 mm, Längenzunahme der linken Papille von 0,9 auf 5,5 mm. Beträcht- liche Überpigmentierung beider Mam- mae und der Genitalien
„	Mammahypertro- phie und Überpig- mentierung stark im Abnehmen, je- doch noch sichtbar nach 16 Wochen	440	Vom 1. bis zum 30. Versuchstag: Längen- zunahme der rechten Papille von 1,2 auf 5,8 mm, Längenzunahme der linken Pa- pille von 1,3 auf 6,0 mm. Linke Mamma stark, Genitalien schwach überpigmen- tiert. Rechte Mamma albinotisch
„	Mammahypertro- phie und Überpig- mentierung im Schwinden, doch immer noch sicht- bar nach 16 Wochen	450	Vom 1. bis zum 30. Versuchstag: Längen- zunahme der rechten Papille von 1 auf 6,5 mm. Längenzunahme der linken Papille von 0,9 auf 5 mm

die Hyperpigmentierung hervorrufen sollte — diese Annahme fällt weg. Bloch und Schrafl stellten die Hypothese auf, daß das Follikulin auf das pigmentbildende Ferment — die Dopaoxydase einwirke und sie aktiviere. In solchem Fall muß man annehmen, daß das Follikulin als ein Pigmentierungshormon wirkt, das das schon von vornherein vorhandene Pigmentierungsvermögen aktiviert und steigert.

Geht man von dieser Betrachtung und Auffassung der Wirkungsweise des Follikulins aus, so muß man a priori vermuten, daß eine Überdosierung mit Follikulin ein gesteigertes Pigmentierungsvermögen und eine rascher eintretende Hyperpigmentierung, möglicherweise auch von größter Intensität, verursacht.

Um zu untersuchen, in welchem Grade eine bedeutend vermehrte Follikulinzufuhr eine stärkere und rascher eintretende Pigmentierung bewirken würde, nahm ich eine Überdosierung mit Follikulin an kastrierten, ausgewachsenen männlichen Meerschweinchen vor.

Versuchsreihe VI.

6 ausgewachsene männliche Meerschweinchen wurden am 2. 12. 32 kastriert, der Versuch am 2. 1. 33 begonnen mit Injektionen von 2 cem Oestroglandol, einmal täglich subcutan 30 Tage lang.

Von den Mammae, Genitalien, Ohren, Schnauze und einer Vorderpfote wurden bei Beginn des Versuches farbige Zeichnungen angelegt und 4 Monate kontrolliert (s. Tabelle 3).

Bei den meisten Versuchstieren zeigte sich die beginnende Mammahypertrophie und Hyperpigmentierung schon nach der 5.—6. Oestroglandolinjektion. Später in den ersten 2—3 Wochen des Versuches nahmen Hyperpigmentierung und Hypertrophie der Mammae stark zu, und bei den meisten Versuchstieren stellte sich schon nach 18—20 Tagen Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit ein. Die Sekretion nahm nach Aufhören der Follikulininjektionen noch zu.

Die Hyperpigmentierung von Mammae und Genitalien nahm während der Oestroglandolinjektionen stetig zu und war in der Regel am stärksten ausgesprochen in der 4.—5. Woche nach Beginn des Versuches — also zu dem Zeitpunkt, an dem die Versuchstiere die maximale Oestroglandoldosis, d. h. 6000 M.E. pro Versuchstier, erhalten hatten (s. Abb. 9).

Man findet mit anderen Worten, daß das Maximum der Hyperpigmentierung und ebenso der Mammahypertrophie mit dem Maximum der Follikulindosierung zusammenfällt. Vergleicht man diese Versuchsreihe mit Versuchsreihe I, wo jedes Versuchstier 75 M.E. täglich von dem rein dargestellten Follikulin (*Butenandt*) — im ganzen 2250 M.E. pro Tier im Verlauf von 30 Tagen — und mit Versuchsreihe II (30 Tage lang 100 M.E. Oestroglandol täglich — im ganzen 3000 M.E. pro Tier) in bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens und den Grad der Hyperpigmentierung und der Mammahypertrophie, so findet man folgendes: Überdosierung mit Follikulin (Oestroglandol) ruft ein früheres Auftreten der Hyperpigmentierung und der Mammahypertrophie hervor — schon nach 5—6 Tagen —, als es kleinere Dosen tun. Der Grad der Hyperpigmentierung und Hypertrophie ist außerdem stärker, erreicht rascher sein Maximum und ist von längerer Dauer nach Aufhören der überdosierten Follikulininjektion, als es bei Gebrauch geringerer Dosen in den übrigen

Versuchsgruppen der Fall ist. Die Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit tritt ebenfalls früher — schon nach 18—24 Tagen — bei Überdosierung des Follikulins auf.

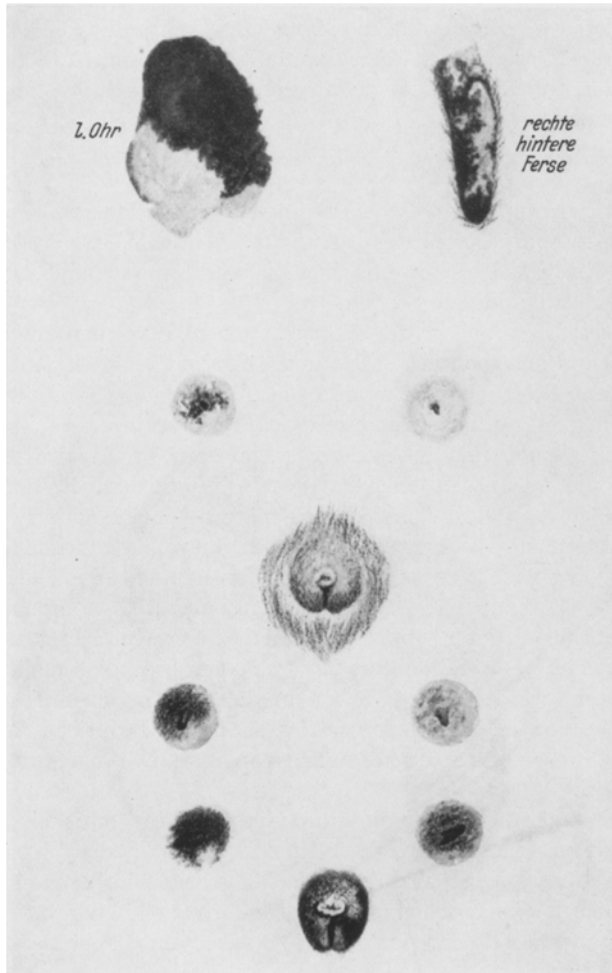


Abb. 9. Meerschweinchen Nr. 913. Versuchsreihe VI. Follikulin-Überdosierung. Das Bild zeigt Mammae und Genitalien vor dem Versuch, sowie die Hyperpigmentierung von Mammae und Genitalien nach Abschluß der Injektionen. (Photographie nach Farbenzeichnung.)

Es ist ferner von großem Interesse, daß man bei Überdosierung des Follikulins auch eine Hyperpigmentierung der Genitalien hervorruft, was in Versuchsreihe I, Meerschweinchen Nr. 786 und 798, bei einer Dosierung von 75 M.E. pro Tag für die Dauer von 30 Tagen, bei

Verwendung des reindargestellten Follikulins (*Butenandt*) beobachtet wurde.

Von den anderen Körperteilen, die beobachtet wurden: Schnauze, Ohren, Pfoten und der übrige Pelz, war keine hyperpigmentiert.

Diese Versuche zeigen, daß die Menge des Follikulins, die eingespritzt wird und den Organismus überschwemmt, in hohem Grade dafür bestimmend ist, welche Hyperpigmentierungen in den durch ihren sekundären Geschlechtscharakter dafür disponierten Pigmentierungsgebieten der Haut auftreten werden, und für die Intensität dieser Hyperpigmentierungen.

Durch Überdosierung wird das Pigmentierungsvermögen des Organismus nicht nur an Orten der sekundären Geschlechtscharaktere, die ja das Wirkungsfeld des weiblichen Sexualhormons sind, gesteigert, sondern auch an anderen Stellen.

An 2 Meerschweinchen der Versuchsreihe VI wurden zugleich mit der Kastration 2 Narben in der Haut des Abdomens gesetzt. Bei jedem der genannten Versuchstiere wurde die Abdominalhaut außerhalb des Pigmentierungsfeldes der sekundären Geschlechtscharaktere an 2 Stellen durchschnitten und mit Klammern geschlossen. Und zwar in einem albinotischen Feld und in einer Partie mit bräunlich melierten Haaren.

Diese Narben stellten sich 1 Monat später — bei Beginn der Oestroglandolinjektionen — als vollkommen lineare weiße Streifen dar. Am 24. und 29. Tag nach Beginn der Oestroglandolinjektionen, als die Versuchstiere 4800 M.E. und 5800 M.E. eingespritzt bekommen hatten, trat eine deutliche, später intensiver werdende Pigmentierung der Narben ein, die in dem Teil der Abdominalhaut mit dem bräunlich melierten Pelz gelegen waren, während die Narben in den albinotischen Hautpartien kein Zeichen von Pigmentierung aufwiesen. Bei Biopsie aus den pigmentierten Narben fand sich bei mikroskopischer Untersuchung positive Dopareaktion.

Bei Überdosierung des Follikulins findet man somit ein erhöhtes Pigmentierungsvermögen nicht nur in den Gebieten der primären und sekundären Geschlechtscharaktere (die Kastrationsnarben am Scrotum waren nämlich stark hyperpigmentiert), sondern auch in der übrigen Haut. Kurz zusammengefaßt ergeben diese Versuche mit Überdosierung von Follikulin folgendes:

Überdosierung von Follikulin erzeugt eine früher auftretende Mammaryhypertrophie und Hyperpigmentierung, die rascher ihr Maximum erreicht und teilweise auch stärker und von längerer Dauer ist, als bei Verwendung geringerer Follikulindosen in den übrigen Versuchsgruppen.

Bei Überdosierung wird außerdem Hyperpigmentierung von Genitalien und Narben in der Haut, die außerhalb der Gebiete der primären und sekundären Geschlechtscharaktere liegen, erzielt — was man bei kleineren Follikulindosen nicht findet.

Durch große Follikulindosen erhalten die Melanoblasten ein erhöhtes Pigmentierungsvermögen auch außerhalb der Gebiete der primären und sekundären Geschlechtscharaktere, so z. B. in der Abdominalhaut.

Die großen Follikulindosen rufen also nicht nur ein erhöhtes Pigmentierungsvermögen in Form einer größeren Reagibilität gegenüber pigmenterzeugenden Reizen hervor, sondern auch eine größere Intensität in der Pigmentfunktion der Melanoblasten.

Versuchsreihe VII.

Versuche mit Überdosierung von Follikulin bei gleichzeitiger Zufuhr von Melanogen (Pigmentvorstadium).

Sowohl *Butenandts* Untersuchungen über die Konstitution des Follikulins, aus denen hervorgeht, daß das Follikulin eine stickstofffreie, nicht chromogene Substanz ist, wie die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen über die Ursache der Schwangerschaftshyperpigmentierung beweisen, daß das Follikulin nicht selber als Melanogen in die Pigmentbildung eingeht. Die Ursache der Hyperpigmentierung in der Schwangerschaft liegt darin, daß das Follikulin eine Steigerung des Pigmentierungsvermögens und der Pigmentfunktion der Melanoblasten bewirkt.

Die Versuche mit Überdosierung von Follikulin zeigen, daß die Intensität der Hyperpigmentierung und ihre Ausbreitung innerhalb gewisser Grenzen von der Menge des zugeführten Follikulins abhängig ist.

Um den Mechanismus bei der Schwangerschaftshyperpigmentierung weiter aufhellen und die Wirkungsweise des Follikulins bei diesem Prozeß klarlegen zu können, würde es von Bedeutung sein, ob man bei Zufuhr eines Pigmentvorstadiums in großen Dosen und gleichzeitiger Überdosierung von Follikulin eine ausgedehntere und möglicherweise stärkere Hyperpigmentierung erzielen könnte als mit Überdosierung von Follikulin allein.

Durch Injektionen von 3—4 Dioxyphenylalanin allein bei Meer-schweinchen und Kaninchen erhielt *Bloch* keine vermehrte Pigmentierung. Man sollte jedoch von vornherein annehmen, daß das erhöhte Pigmentierungsvermögen, das durch die großen Follikulindosen hervorgerufen wird, die Umbildung des künstlichen Melanogens (in diesem Falle Dopa) zu Melanin erleichtern könnte.

Es ist noch nicht gelungen, das natürliche Melanin oder das natürliche Melanogen rein darzustellen und chemisch zu charakterisieren. Selbst durch Versuche mit künstlicher Pigmentbildung aus chemisch wohl-definierten Substanzen und unter den einfachsten Bedingungen (*Bloch* und *Schaaf*) ist es nicht gelungen, das Melanin oder ein seiner Vor- oder Mittelstadien zu isolieren. Da die organischen Verbindungen, die bei oxydativen Prozessen Melanin bilden können, ungeheuer zahlreich sind,

so wird die Zahl der möglichen Melanogene sehr groß. Alle neueren Melanogentheorien fußen indessen auf der von *Fürth* aufgestellten Hypothese, daß das natürliche Pigmentvorstadium von einer zyklischen Verbindung des Eiweißmoleküls repräsentiert werde, die durch Oxydation in Melanin übergeht. Das natürliche Melanogen glaubt man unter folgenden Stoffen zu finden: Tyrosin, Brenzcatechinderivaten, Tryptophan und Pyrrolderivaten. Es sind alles Substanzen, die physiologisch sind oder höchstwahrscheinlich unter physiologischen Verhältnissen vorkommen, und die durch Oxydation leicht in Melanin übergehen. Als Melanogen wurde Dopa = 3—4 Dioxyphenylalanin gewählt, das, wie nach *Blochs* Untersuchungen anzunehmen ist, dem natürlichen Melanogen sehr nahesteht. Um festzustellen, ob dieses künstlich zugeführte Melanogen wirklich in den Organismus der Versuchstiere aufgenommen wird, wurde 4 Meerschweinchen eine Suspension von Dopa in physiologischer Salzlösung (0,5 g Dopa zu 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung) intraperitoneal injiziert und der Urin zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion auf Dopa untersucht.

Dopa nachgewiesen im Urin.
Zahl der Stunden nach der intraperitonealen Injektion.

Meerschweinchen	Gewicht in Gramm	2 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden	96 Stunden
947 a	400	+	+	+	+	÷
947 b	370	+	+	+	+	÷

Dopa im Urin nachgewiesen.
Zahl der Minuten und Stunden nach der intraperitonealen Injektion.

Meerschweinchen	Gewicht in Gramm	20 Min.	30 Min.	45 Min.	1 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	64 Std.	72 Std.	96 Std.
948 a	300	—	—	+	+	+	+	+	+	+	÷
948 b	410	—	—	—	+	+	+	+	+	+	÷

Durch den Nachweis von Dopa im Urin ¹ von $\frac{3}{4}$ Stunde bis 3 Tage nach der intraperitonealen Injektion erhielt man die Gewißheit, daß der Stoff, der als Melanogen dienen sollte, wirklich resorbiert und ausgeschieden wurde, und daß die Ausscheidung verhältnismäßig langsam erfolgt.

In den Versuchen wurden 5 männliche Meerschweinchen verwendet, denen nach Kastration am 2. 12. 32 vom 27. 1. 33 ab bis zum 10. 2. 33 täglich 1 ccm Oestroglandol = 100 M.E. und vom 8. 2. 33 ab 2 ccm = 200 M.E. Oestroglandol einmal täglich subcutan injiziert wurden. In dem Zeitraum vom 22. 2. 33 bis 30. 3. 33 erhielten die Tiere einmal täglich eine intraperitoneale Injektion von 0,5 g Dopa, in 3—4 ccm physiologischer Salzlösung aufgeschwemmt. Zur Kontrolle erhielten 5 ausgewachsene männliche Meerschweinchen nach am 2. 12. 32 erfolgter

¹ Durch Zusatz von FeCl_3 und darauf Na_2CO_3 .

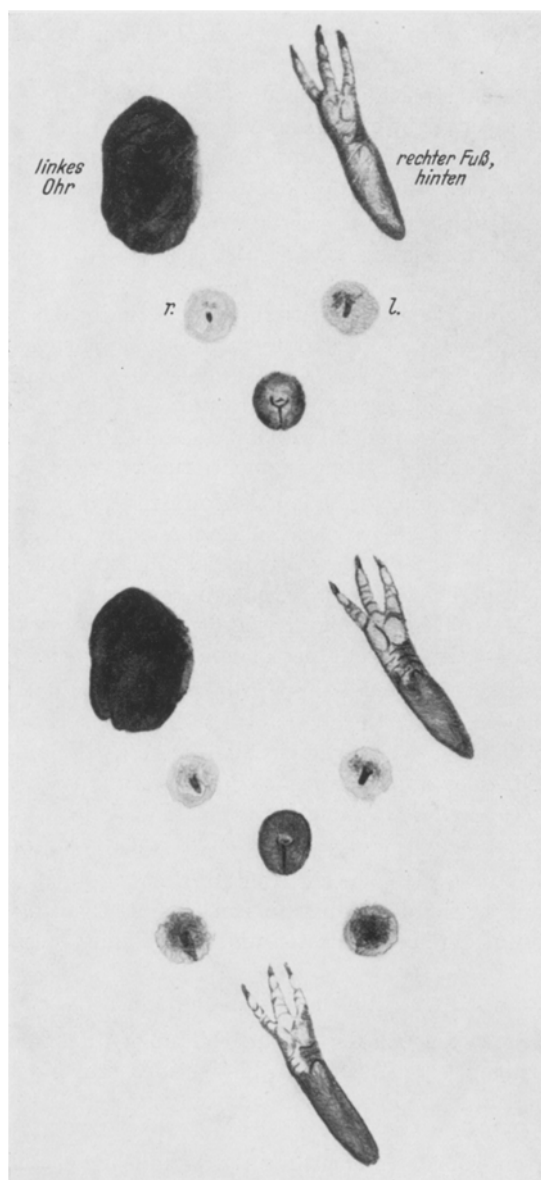


Abb. 10. Meerschweinchen Nr. 953. Versuchsreihe VII. Follikulinüberdosierung und gleichzeitige Zufuhr eines Melanogens (Pigmentvorstadium): Injektionen von Dopa. Das Bild zeigt die Hyperpigmentierung des linken Ohres, der rechten Hinterpfote und der Genitalien und ferner die Hypertrophie und die Hyperpigmentierung der Mammae. (Photographie nach Farbenzeichnung.)

Kastration intraperitoneale Injektionen von in 3—4 ccm physiologischer Salzlösung aufgeschwemmten Dopa in dem Zeitraum vom 22. 2. bis zum 30. 3. 33. Von den Versuchstieren und den Kontrolltieren wurden vor, während und nach Abschluß des Versuches Zeichnungen angefertigt. Das Beobachtungsfeld für mögliche Überpigmentierungen war dasselbe wie in den früheren Versuchsgruppen, nämlich: Mammae, Genitalien, Ohren, Schnauze und Pfoten und dazu die Farbe des Pelzes.

Bei allen Versuchstieren in dieser Versuchsreihe sah man eine verstärkte Follikulinwirkung in Bezug auf Überpigmentierung und Hypertrophie von Mamma und Genitalien. — Bei zwei von den Versuchstieren wurde eine Hyperpigmentierung außerhalb des gewöhnlichen Wirkungsfeldes der Follikulinwirkung hervorgebracht, nämlich einmal Überpigmentierung des linken Ohres (Meerschweinchen Nr. 951) und des linken Ohres und der rechten Hinterpfote bei einem anderen Meerschweinchen (Meerschweinchen Nr. 953) (s. Abb. 10). Die Kontrolltiere zeigten keine Zeichen von Hyperpigmentierung.

Über die Rolle des Dopa als Melanogen kann man hieraus keine Schlüsse ziehen. Der Nachweis einer positiven Dopareaktion im Urin nach den intraperitonealen Injektionen beweist nichts anderes, als daß das injizierte Dopa wieder ausgeschieden ist. Und ein sicherer Schluß, inwieweit das natürliche Melanin in den pigmentbildenden Zellen wirklich aus Dopa oder dessen Vorstadien besteht, ist ebenfalls unmöglich.

Auch wenn diese Versuchsgruppe infolge Sterbens der Versuchstiere bedeutend eingeschränkt wurde, so geht doch aus diesen Versuchen deutlich hervor, daß *eine Überdosierung von Follikulin und gleichzeitige Zufuhr eines Melanogens eine erhöhte Pigmentierung auch außerhalb der gewöhnlichen Hyperpigmentierungsfelder des Follikulins, also außerhalb der Gebiete der primären und sekundären Geschlechtscharaktere, bewirkt.*

Damit geben diese Versuche eine weitere Bestätigung der Anschauung, daß die Wirkungsweise des Follikulins in einer Steigerung des Pigmentierungsvermögens der Melanoblasten und ihrer Pigmentfunktion besteht.

Zusammenfassung.

Die endogenen Ursachen der Pigmentbildung in der Haut unter normalen und pathologischen Zuständen bieten noch immer viele und unge löste Probleme, und namentlich sind die endokrinen Ursachen ein fast unerforschtes Gebiet.

Unser Wissen von der Bedeutung der weiblichen Geschlechtsdrüsen für die Pigmentbildung im Organismus ist im wesentlichen von morphologischer Art gewesen, beruhend auf pathologisch-anatomischen und klinischen Beobachtungen.

Die Untersuchungen der letzten Jahre über die weiblichen Sexualhormone und ihre Wirkungsweise haben indessen die Frage nach der

Schwangerschaftshyperpigmentierung und ihren Ursachen aus einer morphologischen Frage zu einem allgemeinen biologischen Problem gemacht.

Lipschütz zeigte mit seinen intrarenalen Ovarientransplantationen auf kastrierte männliche Meerschweinchen, daß Ovarientransplantationen pigmentbefördernd in bestimmten Hauptpartien wirkten. Und *Bloch* und *Schrafl* stellten später fest, daß sich dieselbe Wirkung auch mit Injektionen oder Fütterung mit einem Handelspräparat des weiblichen Sexualhormons (Menformon, Oestroglandol) erreichen ließ. Aus diesen Versuchen ging hervor, daß unter gewissen Verhältnissen ein Zusammenhang zwischen den weiblichen Geschlechtsdrüsen und der Pigmentbildung in der Haut besteht.

Den experimentellen Beweis dafür, daß das pigmentbefördernde Prinzip das weibliche Sexualhormon, Follikulin, sei, konnte man indessen nur erhalten, wenn man das rein dargestellte weibliche Sexualhormon benutzte. Es war daher die Aufgabe für meine Untersuchungen, die Abhängigkeit der Hyperpigmentierung von dem rein dargestellten weiblichen Sexualhormon nachzuweisen und ferner zu versuchen, den Mechanismus bei der Wirkung des weiblichen Sexualhormons auf den Pigmentapparat der Haut aufzuklären.

Durch subcutane Injektionen des von *Butenandt* reindargestellten, krystallinischen weiblichen Sexualhormons Follikulin wurde bei kastrierten männlichen Meerschweinchen Hyperpigmentierung und Hypertrophie der Mammæ mit Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit — ganz wie bei der Gravidität — hervorgerufen und gleichzeitig damit eine schwache Hyperpigmentierung der äußeren Geschlechtsorgane. Das von *Butenandt* rein dargestellte Follikulin zeigt eine bedeutend stärkere Wirkung auf die Hyperpigmentierung und die Mammahypertrophie, sowohl in quantitativer Hinsicht wie auch in bezug auf den Zeitpunkt ihres Auftretens, als das Oestroglandol.

Das rein dargestellte Follikulin erzeugte außerdem ausgedehntere Hyperpigmentierungen. Weder bei normalen Meerschweinchen noch bei kastrierten Meerschweinchen (Kontrollgruppe 1, 2 und 3) findet man so starke Hyperpigmentierungen wie bei den follikulinbehandelten Tieren. Auch bei den unkastrierten männlichen Meerschweinchen, denen Follikulin (Oestroglandol) injiziert wurde (Versuchsreihe III), kam es zu so ausgesprochener Hyperpigmentierung und Mammahypertrophie wie bei den kastrierten Follikulintieren, eine Folge der antagonistischen Wirkung des anwesenden männlichen Sexualhormons.

Diese Meerschweinchenversuche beweisen, daß die Hyperpigmentierung und die Mammahypertrophie während der Gravidität auf eine Wirkung des weiblichen Sexualhormons Follikulin zurückzuführen sind.

Was den Mechanismus der Wirkung des Follikelhormons auf die pigmentbildenden Elemente der Haut anlangt, so stellte *Lipschütz* die

Theorie auf, daß die Hyperpigmentierung bei Gravidität und die Hyperfeminisierung durch die lokale Hypertrophie, die gleichzeitig bei diesen Zuständen auftritt, bedingt sei, und hielt es für unwahrscheinlich, daß das Follikelhormon die pigmentbildenden Zellen direkt angreift. Hyperpigmentierung und Hypertrophie zu trennen, ließ sich durch Hyperfeminisierungsversuche an Meerschweinchen nicht ausführen, da die Hyperpigmentierung bei Meerschweinchen nur an ganz bestimmten Lokalisationen auftritt, die gleichzeitig der Sitz lokaler Wachstumsprozesse sind (Mamma und Genitalien).

Beim Menschen erfolgt die Pigmentbildung während der Schwangerschaft nicht nur auf den Gebieten der primären und sekundären Geschlechtscharaktere, sondern auch außerhalb derselben.

Durch Injektion von Follikulin, 100 M.E. pro Tag wurden bei 2 nicht graviden Frauen nach bzw. 66 und 70 Tagen (Totaldosis) 6600 M.E. und 7000 M.E. Follikulin) deutliche Chloasmata im Gesicht und gleichzeitig damit die übrigen Schwangerschaftsüberpigmentierungen der Mamma — Areola und Papille —, sowie der Linea alba hervorgerufen.

Diese Versuche liefern den experimentellen Beweis, daß die Schwangerschaftsüberpigmentierung beim Menschen durch das weibliche Sexualhormon Follikulin hervorgebracht, und daß außerdem die Schwangerschaftshyperpigmentierung unabhängig von lokalen Wachstumsprozessen erzeugt wird.

Daß indessen Hyperpigmentierungen besonders häufig an Stellen vorkommen, wo lokale Wachstumsprozesse und Hypertrophien vor sich gehen, das zeigen die zahlreichen Beobachtungen von Hyperpigmentierungen an Narben (Operationsnarben) namentlich in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft. Es gelang auch in den Hyperfeminisierungsversuchen an Meerschweinchen Hyperpigmentierungen in Narben am Abdomen bei den follikulinbehandelten Tieren hervorzurufen.

Die experimentelle Erzeugung von Chloasmata zeigt, daß das weibliche Sexualhormon die pigmentbildenden Zellen, die Melanoblasten, direkt beeinflusst, daß also eine direkte Hormonwirkung vorliegt.

Alle histologischen Untersuchungen in meiner Arbeit zeigen eine bedeutend verstärkte Dopareaktion, namentlich in den Basalzellen, wo die Dendritenzellen deutlich zum Vorschein kommen, und eine beträchtliche Vermehrung der Melanoblasten und ihres Melaningehaltes. Die Dopareaktion wirkt da, wo sie positiv ist, als ein Indicator dafür, daß pigmentbildende Oxydase vorhanden ist, und sie wird in der Epidermis nur positiv in Zellen, die die Fähigkeit haben, Pigment zu bilden. Die Intensität der Dopareaktion läuft dem Grade der Hyperpigmentierung parallel.

Die Hyperpigmentierung ist abhängig von den lokalen Pigmentverhältnissen, insofern als Mammae, die in albinotischer Haut liegen, keine Pigmentierung und solche, die in pigmentfreier Haut liegen, nach den Follikulininjektionen nur schwache Pigmentierung zeigen. Auch die

Intensität der Hyperpigmentierungen ist von den lokalen Pigmentverhältnissen abhängig und wird selbst bei Erhöhung der Follikulindosen nicht über gewisse Intensitätsgrade hinausgehen können.

Die hyperpigmentierende Wirkung des Follikelhormons scheint auch auf bestimmte Gebiete beschränkt zu sein, jedenfalls während der Gravidität und solange die Follikulindosierung gewisse Mengen nicht übersteigt.

Durch Überdosierung des Follikulins, mit Dosen, die dem Doppelten von dem entsprechen, was man im allgemeinen braucht, um die gewöhnlichen Schwangerschaftshyperpigmentierungen bei kastrierten männlichen Meerschweinchen hervorzurufen, kann man bei Meerschweinchen Hyperpigmentierungen auch außerhalb des gewöhnlichen Hyperpigmentierungsfeldes des weiblichen Sexualhormons hervorbringen.

Was die Wirkungsweise des Follikulins betrifft, so erwägen *Bloch* und *Schrafl* folgende zwei Möglichkeiten, nämlich: das entweder die hyperpigmentierende Wirkung des weiblichen Sexualhormons in einer Aktivierung und Vermehrung des pigmentbildenden Fermentes, der Dopaoxydase, in den Melanoblasten der Haut besteht, oder in einer Einwirkung auf die endocelluläre Melanogenproduktion. Sie betonen ferner, daß diese Hormonwirkung lokal und auf bestimmte Gebiete beschränkt ist.

Die Meerschweinchenversuche in dieser Arbeit mit Injektion großer Follikulindosen (Versuchsreihe VI und VII) zeigen, daß dabei nicht nur ein verstärktes Pigmentierungsvermögen in Form einer gesteigerten Reaktion gegenüber pigmenterzeugenden Reizen, sondern auch eine Steigerung der Pigmentfunktion der Melanoblasten hervorgerufen wird. Bei den großen Follikulindosen bleibt das erhöhte Pigmentierungsvermögen der Melanoblasten nicht länger so streng lokalisiert, sondern geht auch über die Gebiete der primären und sekundären Geschlechtscharaktere hinaus, sowohl mit wie ohne gleichzeitige Zufuhr eines künstlichen Melanogens (Dopa).

Ob diese Wirkung des Follikulins auf den Pigmentapparat der Epidermis *direkt* geschieht durch ein Eintreten des Follikelhormons in die pigmentbildenden Epidermiszellen *vielleicht* durch Aktivierung von dem pigmentbildenden Ferment oder ob sie *indirekt* erfolgt und durch ein anderes Hormon (Intermedin) vermittelt wird, ist noch immer ein Problem, das weiteren Untersuchungen vorbehalten bleibt.

Schlußsätze.

1. Bei kastrierten männlichen Meerschweinchen werden durch subcutane Injektionen des von *Butenandt* rein dargestellten weiblichen Sexualhormons, Follikulin, Hyperpigmentierungen der Mamma, Mammahypertrophie mit Sekretion milchähnlicher Flüssigkeit und weiterhin eine schwache Hyperpigmentierung der Genitalien hervorgebracht. — Die

Hyperpigmentierungen und die Hypertrophie der Mamma entspricht qualitativ und quantitativ sowohl in makroskopischer wie in mikroskopischer Hinsicht dem, was man bei Gravidität findet.

2. Durch längere Zeit fortgesetzte Injektionen des weiblichen Sexualhormons, Folikulin, bringen bei nicht graviden Frauen Chloasmata, sowie Hyperpigmentierungen der Mamma und der Linea alba, wie bei Gravidität, hervor. — *Damit ist der experimentelle Beweis geliefert, daß die Schwangerschaftshyperpigmentierungen von dem weiblichen Sexualhormon Follikulin hervorgerufen werden.*

3. Die Schwangerschaftshyperpigmentierung erfolgt unabhängig von lokalen Wachstumsprozessen und ist durch eine direkte Einwirkung des weiblichen Sexualhormons auf die pigmentbildenden Zellen der Epidermis, die Melanoblasten, bedingt, deren pigmentbildende Fähigkeit und Pigmentfunktion aktiviert und gesteigert wird. — Die Hyperpigmentierungen zeigen positive Dopareaktion und reichliche Melaninablagerung in den Basalzellen der Epidermis.

4. Die experimentell erzeugten Schwangerschaftshyperpigmentierungen sind in ihrer Intensität und Ausbreitung innerhalb gewisser Grenzen abhängig von der Menge des zugeführten Follikulins. — Bei den großen Follikulindosen bleibt das erhöhte Pigmentierungsvermögen der Melanoblasten nicht länger so streng lokalisiert, sondern geht auch über die Gebiete der primären und sekundären Geschlechtscharaktere hinaus. — Das rein dargestellte, krystallinische Follikulin (*Butenandt*) ruft ein früheres Auftreten dieser Veränderungen hervor und hat eine länger dauernde Wirkung als das Oestroglandol. — Der Grad der Hyperpigmentierung ist abhängig von den lokalen Pigmentverhältnissen in der Epidermis und bestätigt damit die Befunde von *Lipschütz*.

5. Hyperpigmentierung von Narben kann experimentell durch Injektionen des weiblichen Sexualhormons hervorgebracht werden.

6. Bei unkastrierten männlichen Meerschweinchen wird durch Follikulininjektionen geringere Hyperpigmentierung und Mammahypertrophie hervorgerufen als bei kastrierten; möglicherweise infolge der antagonistischen Wirkung des männlichen Sexualhormons.

7. Die schwache Hyperpigmentierung, die man bei Frühkastraten ohne vorausgehende Follikulinbehandlung beobachten kann, ist als Wachstumsphänomen zu erklären, das in Verbindung mit der mit dem Alter zunehmenden Pigmentierung steht.

Schrifttum.

Allen: Sex and Internal Secretions. Baltimore 1932. — *Allen and Doisy*: Physiologic Rev. 7, 4 (1927). — *Adler, Ludwig*: Arch. Gynäk. 95, 349 (1912). — *Aschner*: Arch. Gynäk. 99, 534 (1913). — *Athias*: C. r. Soc. Paris Biol. 91, 232 (1924). — *Bloch, Bruno*: Arch. f. Dermat. 144 (1917). — Z. physiol. Chem. 98 (1917). —

Zbl. Hautkrkh. 8 (1923). — Das Pigment. Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Herausgeg. von *J. Jadassohn*, Bd. I/1. Berlin: Julius Springer 1927. — *Bloch* u. *Guldberg*: Klin. Wschr. 734 (1933). — *Bloch* u. *Schaaf*: Biochem. Z. 162, 181 (1925). — *Bloch* u. *Schrafl*: Arch. f. Dermat. 165, 268 (1932). — *Butenandt, Adolf*: Hoppe-Seylers Z. 191, 127 (1930); 191, 140 (1930). — Abh. Ges. Wiss. Göttingen, III. F. 1931, H. 2. — Angew. Chem. 45, 655 (1932). — *Dahl Iversen*: Hosp.tid. (dän.) 77, Nr 21, 593 (1934). — *Doisy* and *Thayer*: J. of biol. Chem. 86, 499; 87, 357 (1930). — *Fellner*: Pflügers Arch. 189, 199 (1921). — *Frank, R. T.*: Surg. etc. 25, 329 (1917). — The female sex hormon. London 1929. — *Fränkel* u. *Fonda*: Biochem. Z. 141, 379 (1923). — *Halban, J.*: Wien. klin. Wschr. 16, 867 (1903). — Arch. Gynäk. 75, 353 (1905). — *Hermann*: Mschr. Geburtsh. 41, 1 (1915). — *Iscovesco, H.*: C. r. Soc. Biol. Paris 73, 104 (1912). *Jesionek*: Lichtbiologie und Lichtpathologie in praktischen Ergebnissen auf dem Gebiete der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Wiesbaden: J. F. Bergmann 1912. — *Kemp* og *Pedersen Bjerregaard*: Ugeskr. Laeg. (dän.) 1932, 215. — *Knauer*: Zit. n. *Butenandt*: Arch. Gynäk. 60, 322 (1900). — *Laqueur, E.*: Klin. Wschr. 1927, 6, 390. — *Laqueur, E., E. Borchardt, E. Dingmause* u. *de Jongh*: Dtsch. med. Wschr. 1928 I, 465. — *Laqueur, E., E. Borchardt* u. *de Jongh*: Arch. Entw.mechan. 112, 350 (1927). — *Laqueur, E., S. E. de Jongh* u. *M. Tausk*: Dtsch. med. Wschr. 1927, 53, 867. — *Lipschütz, A.*: Die Pubertätsdrüse und ihre Wirkungen. Bern 1919. — Pflügers Arch. 207, 548 (1925); 211, 305, 722 (1926). — Virchows Arch. 276, 665, 676 (1930). — *Lipschütz, A., M. Tiitso, D. Svikul* u. *S. Vesnjakov*: Pflügers Arch. 211, 279, (1926). — *Lipschütz, A., M. Tiitso, H. E. v. Voß, S. Vesnjakov* u. *L. Adamberg*: Pflügers Arch. 211, 697 (1926). — *Loeser*: Zbl. Gynäk. 19, 1155—1158 (1932). — *Marrian*: Biochem. J. 24, 1021 (1931). — *Marrian* and *Haslewood*: Biochem. J. 26, 25 (1932). — Lancet 1932, 6. Aug. — *Moore, Care R.*: J. of exper. Zool. 33, 129 (1921). — *Pezard, A.*: Le conditionnement physiologique des caracteres sexuels secondaires chez les viseaux. Thèse de Paris 1918. — *Pezard, Sand* et *Caridur*: C. r. Soc. Biol. Paris 89, 947 (1923). — *Sand, Knud*: Experimentelle Studier over Kønsskarakterer hos Pattedyr. Disputats København 1918. — *Scaglione*: Riv. ital. Ginec. 8, 200 (1928); 9, 463 (1929). — *Steinach, E.*: Pflügers Arch. 144, 71 (1913). — *Steinach, E., H. Henlein*. u. *B. P. Wiesner*: Pflügers Arch. 210, 598 (1925). — *Turner* and *Frank*: Science (N. Y.) 73, 295 (1931). — *Vintemberger*: Zit. n. *Dahl-Iversen*. — *Zondek, Bernhard*: Die Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens. Berlin: Julius Springer 1931. — *Zondek, Bernhard* u. *Brohn*: Klin. Wschr. 1925, 4, 2445. — *Zondek* u. *Krohn*: Klin. Wschr. 1933 I, 405, 849, 1293.