

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. ERICH MÜLLER).

Über die Einwirkung des Urethans auf den Eierstock der weißen Maus.

Von

KARL FUHRMANN.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Dezember 1949.)

Das seit den Arbeiten von PATERSON, HADDOW, THOMAS und WATKINSON in der Therapie der Leukosen viel verwandte Hypnoticum Äthyl-Urethan (U.), HEILMEYER, BOCK, LINKE und MECHELKE, MOESCHLIN, SCHULZE, MÜLLER und FRITZE u. a., ist nach Ansicht der meisten Untersucher in seiner Wirkung am lymphatischen und auch hämatopoetischen System der Röntgen- bzw. Radiumbestrahlung gleichzusetzen.

Abnahme der Sprungbereitschaft und temporäre Sterilität, die am hiesigen Institut bei Untersuchungen über die morphologischen Veränderungen des Blutes und der blutbildenden Organe nach Urethangaben am Kaninchen auffielen, regten zu einer experimentellen Nachprüfung dieser Beobachtung an, die um so mehr gerechtfertigt erschien, als die Frage der Keimdrüenschädigungen durch Narkotica oder verwandter Stoffe in der Literatur bisher nur eine äußerst spärliche Bearbeitung erfahren hat, im Gegensatz zu zahlreichen Untersuchungen über den Einfluß mannigfaltigster anderer Stoffe auf die Gonaden.

Wir haben es uns deshalb zur Aufgabe gemacht, durch Versuche an der weißen Maus, die wegen ihrer regen Ovarialtätigkeit ein geeignetes Versuchstier darstellt, nachzuprüfen, ob 1. überhaupt durch Urethan ein Einfluß auf die Keimdrüsen ausgeübt werden kann und ob 2. diese Einwirkung schon auftritt, bevor der Gesamtkörper eine Schädigung erfährt, Urethan also ein elektives Keimdrüsengift darstellt. Zunächst haben wir von Fortpflanzungsversuchen Abstand genommen und uns auf reine anatomische Untersuchungen des Ovars beschränkt. Die funktionelle Eierstockstätigkeit wurde dabei durch regelmäßige Kontrolle der Scheidenabstriche überprüft; über sie wird andernorts ausführlicher berichtet werden.

Versuchsanordnung.

Die Untersuchungen wurden an mehr als 60 geschlechtsreifen gleichaltrigen, jungen ausgewachsenen, weiblichen Mäusen aus einer guten Zucht, 25—35 g schwer, unter gleichbleibenden Bedingungen, wie konstante Temperatur, Beleuchtung

und ausreichende abwechslungsreiche, vitaminhaltige Ernährung, in den Wintermonaten November bis März durchgeführt. Es kamen nur solche Tiere in den Versuch, die bei der Kontrolle der Scheidenabstriche über 6 Wochen einen regelrechten Vaginalcyclus gezeigt hatten.

Zu den Versuchen wurde Äthyl-Urethan verwandt, das in 1- oder 10%iger Lösung, auf Körpertemperatur erwärmt, unter die Rückenhaut gespritzt wurde. Der Zeitpunkt der Injektion wurde dabei auf 8, bzw. bei 2maliger Injektion auf 8 und 12 Uhr festgesetzt, um die physiologische Nahrungsaufnahme am Abend möglichst nicht zu beeinträchtigen. Im ganzen wurden 4 Versuchsreihen aufgestellt, deren jede 10 (I), bzw. 15 (II, III) oder mehr Tiere (IV) und je 5 Kontrolltiere umfaßten; diese erhielten, um die Einwirkung des Stichtraumas auszuschließen, während des Versuches physiologische Kochsalzlösung injiziert. Von den jeweils im Versuch stehenden Tieren der Gruppe I—IV wurde ein Teil über festgesetzte Zeiträume behandelt und untersucht, während bei einem anderen Teil nach verschieden langer Zeit mit der Behandlung ausgesetzt wurde, um die Regeneration in den Eierstöcken nach 1—8 Wochen zu überprüfen. Im einzelnen betrug Dosierung und Behandlungszeit:

Tabelle 1.

Nr. der Gruppe	Dosis pro die	Anzahl	Kontrolle	Versuchsdauer (Tage)	Tötung sofort oder Tötung nach Versuchsende (Tage)	Anzahl Spontan- todesfälle
I	1mal	7	5	20—70	sofort	—
	0,05 g/kg ¹	3		20—60	30—60	—
II	1mal	12	5	5—56	sofort	1
	0,3 g	3		5—35	30—60	1
III	2mal	12	5	3—21	sofort	5
	0,3 g	3		3—21	14	2
IV	2mal	10	5	1—14	sofort	4
	0,5 g	15		5—13	28	2

¹ Alle Dosisangaben beziehen sich auf g/kg.

Während der Versuchsdauer wurde der Vaginalcyclus täglich durch Scheidenabstriche nach ZONDEK überprüft. Nach Abschluß des Versuches wurden die Mäuse durch Chloroform getötet, jeweils 3 Std nach der letzten Urethaninjektion, soweit sie nicht spontan umgekommen waren. In der Tabelle ist die Anzahl der Spontan-*todesfälle* angegeben. Die lebensfrischen Organe, insbesondere Milz, Ovarien, Uteri und Vaginae wurden in Formalin-Sublimat-Eisessig oder 10%igem Formalin fixiert, über Methylbenzoat in Paraffin oder Gelatine eingebettet, in Serien geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin, Sudan III, Azan oder nach VAN GIESON gefärbt. Außerdem wurde von der Milz eine Reihe von Spezialfärbungen angefertigt, weil an diesem Organ nach experimentellen Untersuchungen von LENNERT und ILGNER, LORENZ, LUTHER und LORENZ, TISCHENDORF und FRITZE, MASSHOFF u. a. ein etwa von Dosis und Versuchsdauer abhängiger Schwund des lymphatischen Parenchyms einsetzt, dessen Grad einen groben Anhalt für die Urethanschädigung im Körper darstellt.

Eine *Narkosewirkung* des Urethans ist in der Versuchsgruppe I nicht festzustellen, eine sichtbare Änderung im Verhalten der Tiere kann nicht bemerkt werden. In Gruppe II wirkt Steigerung der Dosis auf 0,3 in Übereinstimmung mit den Angaben von PENG, PULEWKA, FÜHNER, MASSHOFF, HEINZEL u. a. bereits

schlaferzeugend (Narkosestadium I nach MAGNUS und GIRNDT), die Grenzdosis liegt etwa bei 0,25. Die Schlafdauer schwankt je nach der individuellen Empfindlichkeit der Tiere ein bis mehreren Stunden. Bei guter Verträglichkeit kann diese Dosis von 0,3 über längere Zeit (bis 8 Wochen) gespritzt werden, ohne daß eine stärkere Störung des Allgemeinzustandes auftritt. Bei 2maliger Zufuhr dieser Dosis pro die (Gruppe III) tritt unter Absinken der Atemfrequenz von 20—40 % zunehmend tiefer Schlaf auf (Narkosestadium), der aber noch durch akustische und sensible Reize unterbrochen werden kann. Allmählich vertieft sich dieser und führt nach etwa 3 Wochen über Seitenlage der Tiere in einem Zustand der Dauernarkose zum Spontanod. Während die ermittelte einmalige tödliche Dosis etwa 2,7 beträgt, liegt die narkotische Dosis bei 1,0; pro die verabreicht, führt diese Gabe (Gruppe IV) nach längstens 2 Wochen unter Absinken der Atemfrequenz bis unter 50 % (Narkosestadium IV—V) und Verminderung der Körpertemperatur in Seitenlage und Dauernarkose zum Spontanod.

Das Körpergewicht der Tiere wurde durch tägliche Wägungen laufend kontrolliert und in besonderen Gewichtskurven erfaßt, deren mittlere Werte in Prozent des Anfangsgewichtes in der Zeiteinheit in Abb. 1 graphisch dargestellt sind.

Wie hier ersichtlich ist, tritt in Übereinstimmung

mit anderen Untersuchern eine merkliche Gewichtsabnahme erst bei Gruppe III und IV direkt proportional der Zeit auf, die gegen Versuchsende in ausgeprägtesten Fällen fast ein Viertel des Körpergewichtes erreicht. Eine Abhängigkeit von dem Anfangsgewicht kann hierbei nicht festgestellt werden. Bemerkenswert ist der in allen Kurven vorhandene Knick infolge Absinkens des Körpergewichtes mit nachfolgendem Wiederanstieg kurz nach Versuchsbeginn, dessen Ursache als Gewöhnungseffekt gedeutet wird. Die Gewichtsabnahme beruht vermutlich in der Hauptsache auf einer Störung des intermediären Stoffwechsels durch Urethan in seiner Eigenschaft als Fermentgift (WARBURG, QUASTEL, FISCHER und STERN, ORMSBY u. a.). Der Gewichtsverlust ist wohl nur zum geringeren Teil in der auftretenden Freßunlust und mangelnder Gelegenheit zur Nahrungsaufnahme durch anhaltenden Schlaf begründet; denn es muß betont werden, daß eine absolute Nahrungsverweigerung nur im Stadium der Dauernarkose gegen Versuchsende in Gruppe III und IV, längstens über 1—2 Tage beobachtet werden konnte.

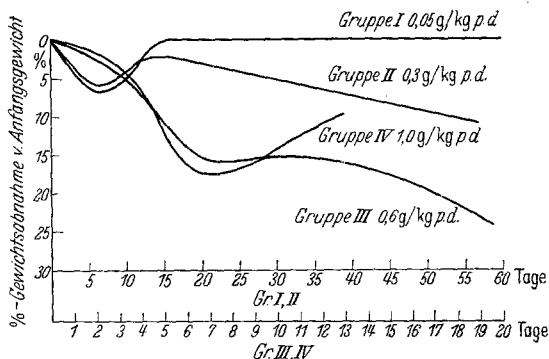


Abb. 1. Mittlere Gewichtsabnahme in Prozent des Anfangsgewichtes.

Untersuchungsergebnisse.

I.

Vor der Schilderung der Veränderungen im feineren histologischen Bild seien zunächst zusammenfassend die Befunde aufgezeigt, die in jeder der vier gespritzten Tiergruppen erhoben werden konnten.

Tiergruppe I (0,05 g/kg täglich). Bei dieser Dosierung, die etwa den bei Menschen üblichen therapeutischen Gaben entspricht, sind

selbst bei langer Verabreichungszeit (bis 10 Wochen) — bis auf eine später näher zu erörternde Verschiebung der Mitosephasen und geringgradigen Wachstumshemmung der Granulosa — keine wesentlichen Veränderungen im morphologischen Bild bezüglich Anzahl, Ausbildung der Follikel und der Corpora lutea in den Eierstöcken festzustellen. Auch an Uterus, Tube und Vagina sind keine krankhaften Befunde zu erheben, Milzveränderungen fehlen. Eine Beeinflussung der funktionellen Eierstockstätigkeit findet nicht statt.

Tiergruppe II (0,3 g/kg täglich). Bei dieser schlaferzeugenden Urethandosis ist dagegen ohne eine merkliche Gewichtsabnahme der Tiere an den Ovarien ganz eindeutig eine zunehmende Follikelatresie und Hemmung des Follikelwachstums aufzufinden. Die vorgefundenen morphologischen Veränderungen sind bereits nach vierwöchentlicher konstanter Urethanverabfolgung mehr oder weniger stark ausgeprägt, ein genauer Zeitpunkt des Beginnes der Eierstocksveränderungen läßt sich wegen der feststellbaren individuellen Empfindlichkeit nicht angeben. Der Befund des Eierstocks der Maus 4a stellt eine mittlere Schädigung des Ovars nach vierwöchentlicher Behandlung dar:

Befund M 4a. Mit 33 g in den Versuch genommen, nach 26 Tagen Urethanbehandlung mit 0,3 g täglich 30 g schwer. Die Ovarien erscheinen makroskopisch verkleinert. Auf Serienschnitten finden sich wenig ältere Corpora lutea, die zum Teil bindegewebig durchwachsen sind. Starke, Follikel aller Stadien umfassende Atresie, von der nur einzelne heranreifende oder Primordialfollikel nicht betroffen sind. Das Stroma ist dicht, zellreich mit mäßiger Ausbildung von interstitiellen Zellen. Der subepitheliale Faserfilz ist schmal, das Oberflächenepithel ist glatt, kubisch. Uterus und Tube sind ohne Besonderheiten. Die Vagina zeigt 1—2-schichtiges Plattenepithel, das von Leukozyten durchsetzt ist, darüber finden sich schleimbildende Zellen.

Welch starke Grade die Ovarschädigung erreichen kann, zeigt die Abbildung des Eierstocks von M 1 nach 8wöchentlicher gleichbleibender Urethanzufuhr. Bei fehlender Heranreifung und unter zunehmendem Schwund der Follikel ist hier bereits eine Ovarialatrophie mit beginnender Zunahme des Bindegewebes festzustellen (Abb. 2).

Befund M 1. Anfangsgewicht 32 g. 8 Wochen 0,3 g Urethan, Endgewicht 29 g. Auf Serienschnitten sind nur noch einige kleine, von Bindegewebe durchwachsene Corpora lutea feststellbar. Es werden zahlreiche Follikel in allen Stadien der Atresie angetroffen, nur ganz vereinzelt finden sich Primordialfollikel oder heranreifende Follikel ohne Degenerationszeichen. Von der Rinde her setzt eine zunehmende Durchsetzung mit Bindegewebe ein unter Verbreiterung der subepithelialen Faserfilzlage. Es sind reichlich interstitielle Zellkomplexe mit protoplasmareichen, lipoidhaltigen großen Zellen vorhanden, deren Entwicklung aus atretischen Follikeln verfolgt werden kann. Das eher zylindrische Oberflächenepithel zeigt in die Tiefe gehende Schlauchbildungen. An Uterus und Tube lassen sich keine Besonderheiten auffinden. In der Vagina wird ein einschichtiges Plattenepithel unter einer Lage schleimbildender Zellen mit mäßig starker Leukozyten-durchsetzung angetroffen.

Der Gewichtsverlust der Tiere dieser Versuchsgruppe ist, wie aus der Abb. 1 hervorgeht, nur unwesentlich, das Allgemeinbefinden ist



a



b

Abb. 2 a u. b. a Übersichtsaufnahme eines normalen Eierstocks (54fach); b atrophischer Eierstock nach 8wöchentlicher Urethanbehandlung (0,3 g/kg) täglich.

in der Regel bis auf eine Resistenzschwäche gegenüber Infektionen nicht beeinträchtigt. Diesen Befunden ist insofern eine besondere Bedeutung

beizumessen, als eine Inanition, die sich in Gruppe III und IV nicht ganz ausschließen läßt, hier offenbar keine Rolle spielt. Neben den Ovarveränderungen ist an der Milz eine Reduktion des lymphatischen Parenchyms in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (LENNERT und ILGNER, TISCHENDORF und FRITZE, LORENZ, MASSHOFF u. a.) anzutreffen. Eierstocksveränderungen ohne beginnenden oder stark ausgeprägten Milzknötchenschwund werden nicht gesehen. *Eine elektive Ovarwirkung muß daher für das Urethan abgelehnt werden.* Die Prüfung der funktionellen Eierstockstätigkeit durch Überprüfung der Scheidenabstriche ergibt eine eindeutige Hemmung der Brunst, die mit Ausnahme von 3 Tieren, bei denen noch ein Schollenstadium auftrat, sofort einsetzt, um während der ganzen Versuchsdauer anzuhalten.

Gruppe III und IV (0,6 und 1,0 g/kg täglich). Bereits nach 21 Tagen (III) bzw. 14 Tagen (Gruppe IV) konstanter Urethanverabfolgung können hier Veränderungen in den Ovarien beobachtet werden, die einem Erlöschen der Ovarialfunktion durch mangelnde Follikelreifung gleichzusetzen sind. Allerdings tritt bei diesen Versuchstieren eine zum Teil erhebliche Gewichtsabnahme bis 25% auf, aber auch bei Tieren, deren Gewichtsverlust nicht über 10% hinausgeht, sind, neben ausgeprägten Milzveränderungen in Form eines Follikelschwundes und starken Hämosiderinablagerungen in den Reticulumzellen, in den Ovarien in der Regel Degenerationerscheinungen an den Eizellen und an dem Granulosaepithel fast aller Ovarfollikel sichtbar, im Vergleich zu normalen Eierstöcken, in denen die Anzahl der atretischen Follikel nach BLOTEVOGEL etwa nur die Hälfte beträgt. Der Befund von M 8 als Bild einer ausgesprochenen Ovaratrophie mit Schwund beinahe sämtlicher Follikel soll dies unter Verzicht auf weitere Wiedergabe von Protokollen unter Beweis stellen (Abb. 3).

Befund M 8. Anfangsgewicht 35 g. 21 Tage, 0,6 g Urethan, Endgewicht 26 g. Die Ovarien sind makroskopisch verkleinert. Von den Corpora lutea sind mehrere kleine, von Bindegewebe durchwachsene Gebilde sichtbar. Auf Serienschnitten fehlen fast sämtliche Follikel, die Hauptmasse des Ovars ist aus einem dichten kleinzelligen Gewebe zusammengesetzt, in welchem mäßig lipoidhaltige Zellkomplexe aus atretischen Follikeln angetroffen werden. Der subepitheliale Faserfilz ist mäßig ausgebildet, das Oberflächenepithel ist glatt. Uterus und Tube sind ohne Besonderheiten, das Vaginalepithel gleicht den oben angeführten Befunden.

Die funktionelle Eierstockstätigkeit bleibt während der ganzen Zeit der Urethanzufuhr unterbrochen. Ein Schollenstadium konnte während der Versuchsdauer nicht beobachtet werden.

Die Tatsache, daß bei allen geschädigten Ovarien unter zahlreichen atretischen Follikeln stets einzelne unversehrte Primordialfollikel aufzufinden sind, also niemals ein völliges Erlöschen der Funktion eintritt, läßt eine Wiederherstellung der Ovarialtätigkeit nach Aufhören einer konstanten Urethanverabfolgung vermuten. Unsere in

dieser Richtung durchgeführten Untersuchungen bestätigen diese Annahme; denn es konnten in allen Gruppen — in Gruppe II nach 28tägiger, in Gruppe III nach 14tägiger Verabreichung — nach Absetzen des Urethans erneutes Follikelwachstum und Wiederauftreten des Brunsteyclus nach 14 Tagen bis 6 Wochen beobachtet werden. Die Grenze, bis zu welcher eine Erholung des Eierstockes möglich ist, kann auf Grund unserer Versuche (zu geringe Tierzahl!) nicht festgelegt werden. Zusammenfassend kann gesagt werden: *Urethan führt in höheren Dosen*



Abb. 3. Eierstocksatrophy durch $2 \times 0,3$ g/kg Urethan täglich, 21 Tage lang. Keine intakten Follikel mehr. Mehrere Corpora lutea, zum Teil unscharf abgegrenzt.

und konstanter Verabfolgung über längere Zeit zur Hemmung des Follikelwachstums, zu einem Untergang des spezifischen Ovarialparenchyms, in schwersten Fällen bis zur Ovarialatrophy; die Eierstocksfunktion ist dabei — wie das Ausbleiben des Vaginalcyclus zeigt — gehemmt.

II.

Weitere Untersuchungen dienen der Frage, ob sich im feineren histologischen Bild, im Vergleich zu den vorliegenden Arbeiten der Literatur über Gifteinflüsse auf Keimdrüsen, irgendwelche Besonderheiten darbieten. Hierzu sollen die einzelnen Zellelemente eine gesonderte Besprechung erfahren.

1. *Eizelle.* Bei Urethaneinwirkung findet der Untergang der Eizelle in Form einer einfachen Nekrobiose statt, die mit Aufblähung der Kernkörperchen einsetzt und unter einer leichten Kernwandhyperchromatose mit einer Chromatolyse des Kernes endet. Dieser Prozeß

wird an reifen Eizellen häufiger angetroffen als an heranreifenden oder an Eizellen in Primordialfollikeln. Von letzteren gelingt es, selbst in schwergeschädigten Ovarien immer noch einige aufzufinden, die bei Anwendung unserer gewöhnlichen Färbemethoden unversehrt erscheinen. An Eizellen degenerierter Follikel kommen häufiger als in normalen Eierstöcken sog. Spindelfiguren (1. Reifeteilung in der Metaphase), deren Bildung nach früheren Untersuchern (FLEMMING, SOBOTTA, HENNEGUY, JANOŠIK, RABL, SCHOTTLÄNDER, MAAK u. a.) auf degenera-

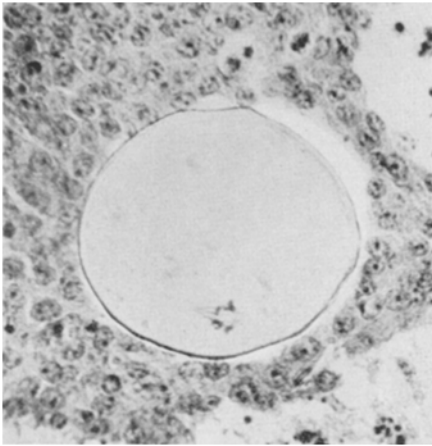


Abb. 4. Sog. „Spindelfigur“ in der Eizelle eines Follikels bei Urethanbehandlung. Eizelle wie Granulosaepithel zeigen deutliche Degenerationszeichen.

tive Vorgänge zurückgeführt, neuerdings aber auch (BESOLD u. a.) als physiologisch angesehen wird, und auch Abstoßung von *Richtungskörpern*, die bei normaler Follikelatresie seltener gesehen wird, in ähnlicher Weise wie beim Benzol (MAAK) zur Beobachtung (Abb. 4). Die Annahme einer Häufung dieser Spindelfiguren liegt hier nahe, zumal dem Urethan in seiner cytostatischen Wirkung eine Hemmung der Zellteilung des Seeigeleies in der Metaphase zukommen soll (WARBURG, BROCK, DRUCKREY und HERKEN u. a.). Mehrkernigkeit und Furchungserscheinungen an Eiern sind

selten anzutreffen, offenbar wirkt Urethan nicht anregend auf eine „parthenogenetische Eiteilung“ (SCHOTTLÄNDER, FLEMMING, in neuerer Zeit HÄGGSTRÖM, BRANCA, CHAMPY, HINSELMANN, LOEB, NOVAK und EISINGER, SANSOM u. a.), wie BATAILLON bei den Narkotica Äther und Chloroform beobachten konnte. Die Aufspaltung der Eizelle in mehrere Teilstücke, teils mit, teils ohne Kerne, ein Vorgang, der von SOBOTTA und BONNET in Ablehnung der Parthenogenese und auch von anderen wie MAAK und MATHIS abgetrennt wird, ist dagegen ein recht häufiger Befund, zum Teil mit *Krystallbildung*.

Abb. 5 zeigt die Aufspaltung einer Eizelle unter Bildung eines perivitellinen Spaltraumes mit 2-rhombischen Krystallen, die in normalen Körperzellen häufig (BERG, HETT, KOLMER, LEHNER, v. LENHOSSEK, LUBARSCH, REINKE u. a.), im normalen Säugetier-Ei dagegen relativ selten von HOLL, WAGNER und POLLAK und in degenerierten unfragmentierten von MAAK, in fragmentierten von MATHIS beschrieben wurden.

Der neben dem großen Krystall sichtbare, offenbar aufgeblähte Kern widerlegt die Ansicht von MATHIS, wonach die Krystalle aus Kernkörperchen entstehen

sollen, auch MAAK hat nie Eikerne oder Reste bei Krystallbildung angetroffen. Das ungleiche Massenverhältnis der Krystalle zum Kern, das Fehlen von Übergangsformen, die eine Entstehung aus eingewanderten Granulosazellen unwahrscheinlich macht, läßt vielmehr an eine Bildung aus Abbauprodukten des Eiweiß im Cytoplasma denken, wofür ihre starke Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin sprechen könnte. Inwieweit eine Beziehung zwischen dem Harnstoffderivat Urethan und den von MATHIS beobachteten Krystallen bei Einwirkung von Schwangerenurin oder Benzol (MAAK) besteht, kann nicht entschieden werden.

Auf Grund der Tatsache, daß bei beginnenden Zerfallserscheinungen am Granulosaepithel stets faßbare Veränderungen an der Eizelle vorhanden sind, muß in Übereinstimmung mit SCHROEDER, STIEVE, HINSELMANN u. a. der Untergang der Eizelle als der primäre Vorgang angesehen werden, dem sekundär der Zerfall des Granulosaepithels folgt. In späteren Stadien sind eingewanderte Granulosazellen (VIRCHOW, PFLÜGER, LINDGREN u. a.) ein häufiger Befund. Das weitere Schicksal der zugrunde gehenden Eizelle und damit des Follikels vollzieht sich im wesentlichen unter den Bildern, die man auch physiologischerweise bei der Atresie (SLAVIANSKY, SCHROEDER, SCHOTTLÄNDER, FLEMMING u. a.) zu sehen gewohnt ist.

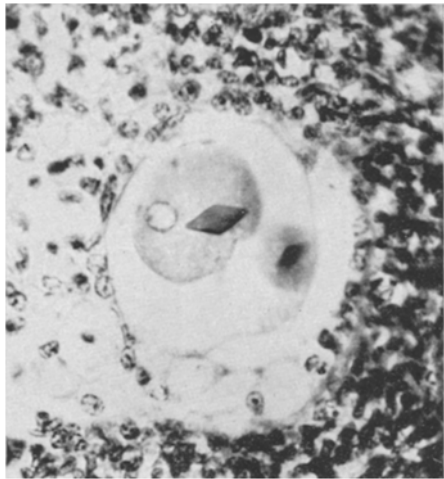


Abb. 5. Krystallbildung in einer zugrunde gehenden, fragmentierten Eizelle bei Urethanbehandlung.

2. *Granulosaepithel*. Der Zerfall des Epithels vollzieht sich unter Bildern, die bei normaler Follikelatresie auch beobachtet werden können, im wesentlichen unter Pyknose der Kerne oder Chromatolyse mit Kernwandhyperchromatose. Auffällig sind abnorm große Chromatinkugeln, wie sie in normalen Eierstöcken nicht gesehen werden (Abb. 6).

Die von v. MÖLLENDORFF, BUCHER, LUDFORD, GEIERSBACH u. a. in Fibroblastenkulturen angenommene Einwirkung des Urethans auf die Regulationskräfte der Mitosen im Sinne einer Hemmung in der Metaphase, die von KÜSTER, SCHULZE, MÜLLER und FRITZE u. a. in vivo am Knochenmark bestätigt, von anderen hingegen wie LINKE und MECHELKE, LENNERT, P. DUSTIN u. a. nicht beobachtet werden konnte, mußte zu einer besonderen Beachtung des Zellteilungsmechanismus des Follikelepithels als eines teilungsfähigen Zellverbandes im Eierstock führen. Die differenzierte Auszählung der Mitosen gibt uns zweifellos

einen sehr zuverlässigen Einblick in den, im Augenblick der Fixierung herrschenden Zustand der Zellgemeinschaft des Granulosaepithels der wachstumsfähigen Follikel, die wegen ihrer normaliter reichlich vorhandenen Mitosen in ähnlicher Weise wie die Thymusrinde, Haarbälge, lymphoiden Keimzentren sowie die Proliferationszonen der LIEBERKÜHNSchen Krypten (DUSTIN, LUDFORD u. a.) zum Studium von Zellteilungsvorgängen sehr geeignet sind. Es interessierte die Frage, ob unter Urethan 1. eine Verschiebung der einzelnen Mitosephasen im

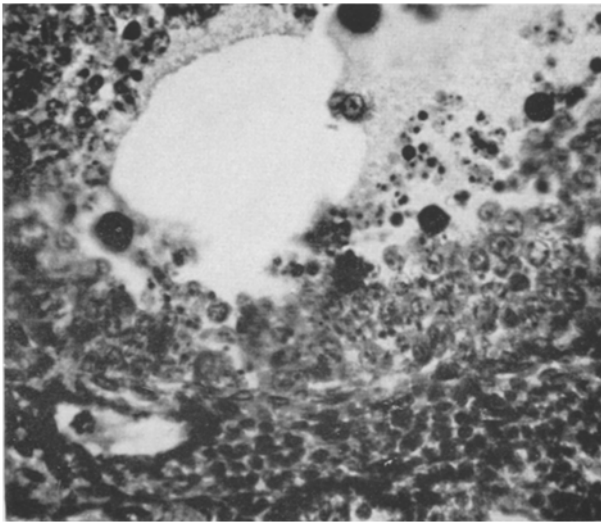


Abb. 6. Große Chromatinkugelbildung in stark degeneriertem Follikel. Über der Theca folliculi sieht man die Reste des Granulosaepithels.

fixierten Schnittpräparat eintritt, und ob 2. die absolute Zahl der angetroffenen Mitosen im Vergleich zu normalen Eierstöcken vermindert ist.

Zu 1. Um an den Granulosazellen eine etwaige Verschiebung der Phasenprozentage der Mitosen aufzudecken und rhythmische Wachstumsvorgänge auszuschließen, mußte eine möglichst große Zahl zur Differenzierung ausgezählt werden und die Ergebnisse statistisch gesichert werden.

Es wurde zunächst eine Auszählung von 1000 Mitosen an normalen Eierstöcken, die von in der Mitte zwischen 2 Östren (Dioestrus) sich befindenden Tieren stammten, ausgeführt und neben den prozentualen Mittelwerten die mittlere Streuung σ und der mittlere Fehler des Mittelwertes σ_M errechnet. Dabei wurde in Anlehnung an v. MÖLLENDORFF ohne eine nähere Unterteilung der Phasen unterschieden (Abb. 7) zwischen Prophase (I) mit noch nicht abgerundeter Chromosomenbildung, Metaphase (II) mit abgerundeter Metakinese bis zur Bildung der Äquatorialplatte, Anaphase (III) mit Auseinanderweichen der Chromosomen,

Telophase (IV) mit Durchschnürung des Zelleibes bis zur abgerundeten Doppelzelle und Rekonstruktionsphase (V) mit vollständiger Rekonstruktion der Arbeitskerne. Die Gesamtheit der Mitosestörungen wurde unter (VI) berücksichtigt; hierunter fallen Verschmelzung von Chromosomen, Störungen in der Spindelbildung und in der Anaphase sowie Telophase, unter denen die Pseudoamitosen einen gewissen Prozentsatz einnehmen.

Sodann wurden die Mitosen in den Eierstöcken aller getöteten und behandelten Tiere, 400–500 in jeder Tiergruppe, differenziert und unter Zugrundelegung einer Tabelle mit der errechneten Streuung und der mittleren Abweichung des Mittelwertes σ_M in der Kurve der Abb. 7 graphisch dargestellt. Hierin sind die Mittelwerte I–VI aller Behandlungsgruppen durch Linien verbunden, die σ_M -Werte sind in einer besonderen Tabelle angegeben. Statistische Sicherung (Signifikanz) ist dick umrandet. Es sind in jeder Versuchsgruppe sowohl kurz dauernd behandelte, als auch lang dauernd behandelte Tiere, die jeweils 3 Std nach der letzten Injektion getötet wurden, zusammengefaßt, um durch Vergrößerung der Zahl zufallsbedingte Abweichungen, die beim Vergleich einzelner Tiere miteinander auftreten könnten, auszuschließen; die angegebenen Mittelwerte entsprechen also der prozentualen Phasenverteilung der Mitosensummen in den einzelnen Versuchsgruppen. In der Regel wurde dabei von jedem Tier ein Ovarium ausgezählt, um auf die oben angegebene Zahl von 400 (Gruppe II, IV) bzw. 500 (Gruppe I, III) zu kommen, mußten mindestens 10 (Gruppe I), höchstens 80 (Gruppe II) 5 μ dicke Schnitte ausgezählt werden.

Als Differenzierungsergebnis findet sich unter Anlegung der zum Ausschluß der zufälligen Ereignisse üblichen 3 σ -Grenze in allen Tiergruppen eine statistisch gesicherte Zunahme der Metaphasen gegenüber

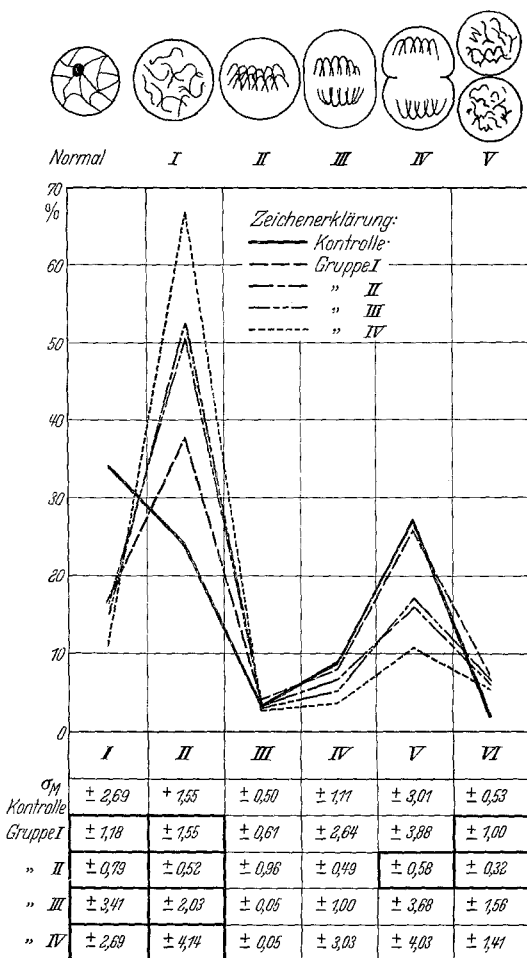


Abb. 7. Schema der Mitosephasen und Mittelwerte der einzelnen Mitosephasen in allen Tiergruppen. Die mittleren Fehler des Mittelwertes sind in der Tabelle angegeben.

normalen Eierstöcken, wie aus Abb. 7 (Kontrollwerte dicke Linie) zu entnehmen ist, nicht dagegen eine Verschiebung in Richtung der Endphasen, wie es v. MÖLLENDORFF bei schwachen Urethankonzentrationen *in vitro* und von KÜSTER und SCHOEN für die Urethanwirkung beim Menschen festgestellt wurde. Die Zunahme der Metaphasen geschieht auf Kosten der Pro- und Rekonstruktionsphasen, die bei den Prophasen statistisch gesichert, bei den Rekonstruktionsphasen aber nur in Gruppe II signifikant ist, da die Streuung in Gruppe III und IV zunehmend größer wird (bis $\pm 4,03$). Eine Zunahme der Mitosestörungen ist aus demselben Grund (hohes σ_M) nur in Gruppe I und II gesichert; ein Überwiegen einer besonderen Form wird nicht gesehen, es sind alle oben angeführten Abweichungen, auch Pseudoamitosen (v. MÖLLENDORFF) vertreten. Der Prozentanteil der Mitosestörungen an der Gesamtheit ist offenbar gering; Urethan unterscheidet sich damit in einem wesentlichen Punkt von anderen Kerngiften wie Colchicin oder Arsenverbindungen (LETTRÉ, DUSTIN, LUDFORD, BUCHER u. a.), Trypflavin und metallorganische Verbindungen u. a. (KLAGES, THOMAS und DREWS u. a.). Mit der Bezeichnung „karyoklastisches Gift“ ist der Gesamtwirkung des Urethans offenbar nicht genügend Rechnung getragen.

Wegen der geringen Zahl der Versuchstiere haben wir uns auf die Bewertung eines Gruppenmittels bei verschiedener Dosis beschränken müssen. Eine Entscheidung darüber, zu welchem Zeitpunkt die Phasenverschiebung zur Metaphase einsetzt, wann sie ihren Höchstwert erreicht und ob sie sich während des Versuchsverlaufes bei längerer Behandlung ändert, kann aus diesem Grunde nicht gefällt werden. Am 3. Tage ist die Metaphasenzunahme jedenfalls in allen Gruppen vorhanden.

Berücksichtigt man die Tatsache, daß die Verhältniszahlen der Phasenkurve in fixierten Schnittpräparaten gleichzeitig den Zeitanteil an der Gesamtdauer der Mitose, den das betreffende Stadium braucht, wiedergeben — denn eine Teilungsphase wird, je länger sie dauert, um so häufiger, eine kürzere dagegen um so seltener angetroffen —, so liegt bei unseren Auszählungsergebnissen ohne Zweifel eine *Hemmung* in der *Metaphase* vor; denn bei der hier vorliegenden Anzahl von Beobachtungen ist ein ziemlich sicherer Schluß auf den Mitoseablauf möglich und ein cyclisches Auftreten der Zellteilungen in Form eines Mitoseschubes mit Stillstand fast aller Kerne in einer Phase ausschließbar.

Unsere Ergebnisse berechtigen in Analogie zu den *in vitro* (v. MÖLLENDORFF, BUCHER, LUDFORD u. a.) und den *in vivo* bei Knochenmarkspunktionen gewonnenen Beobachtungen zu dem Schluß, daß wir es hier mit einer Urethanwirkung zu tun haben. Eine endgültige Beweiskraft kommt diesen Untersuchungen freilich nicht zu, da Vergleichsuntersuchungen *in vivo* fehlen und Phasenverschiebungen oder Beeinflussung der Mitosenabläufe auch durch Einwirkung anderer

Stoffe wie Adrenalin (GOLDNER), Toxine, Säuren, Basen, Metallsalzen und andere mehr (DUSTIN) — nicht nur an dem Thymus —, bedingt werden können. Das Adrenalin verdient besondere Erwähnung, da Urethangaben nach KODAMA und SATO zu einer vermehrten Adrenalin-ausschüttung und zu einer erhöhten Empfindlichkeit der Zelle gegenüber Adrenalin führen sollen. Der Einwirkung eines Ernährungsfaktors kann auch hier (Gruppe I, II oder einzelner Tiere der Gruppe III und IV nach kürzerer Behandlungsdauer) keine Bedeutung beigemessen werden.

Zu 2. Die Häufigkeit der Mitosen im Granulosaepithel ist bei den rhythmischen Wachstumsvorgängen im Eierstock mit Wechsel von Ruhe und Proliferationsstadien des Granulosaepithels (STIEVE) und damit wechselnder Mitose-

zahlen im einzelnen Follikel (DOGLIOTTI) normaliter starken Schwankungen unterworfen. Von der Tatsache einer ungleichen Häufigkeit der Zellteilung im einzelnen Follikel ausgehend, kam es also darauf an, nicht die Anzahl der Mitosen in

Tabelle 2.

Nr. der Gruppe	Mittlere Schnittgröße mm		Absolute Zahl der Mitosen im Schnitt
	Längs	Quer	
Kontrolle	1,43	1,09	65 ± 3,88
I	1,50	1,14	50 ± 4,81
II	1,40	0,95	5 ± 1,46
III	1,65	1,00	33 ± 1,71
IV	1,37	1,07	14 ± 4,40

diesen, sondern die Zellteilungen einmal in möglichst vielen, und zum anderen in möglichst gleich großen Eierstockschnitten auszuzählen. Da die Brunst unter Urethan völlig sistiert, wurden zum Vergleich normale Eierstöcke von Tieren, die im Dioestrus getötet wurden, herangezogen.

Das Mäuseovar kann als ein Rundellipsoid mit einer Follikelmantelzone aufgefaßt werden. Es wurden jeweils die Längs- und Querdurchmesser und die Anzahl der Mitosen in den jeweils 10 größten Schnitten jedes Eierstocks bestimmt. Auch hier erfolgte, um zufallsbedingte Abweichungen möglichst auszuschließen, eine Bewertung der einzelnen Gruppe durch Addition der Mittelwerte aller Schnitte eines jeden Tieres, unabhängig von der Behandlungszeit. Unter Berücksichtigung des mittleren Fehlers des Mittelwertes sind die gewonnenen Mitosezahlen einer Gruppe von 15 Normalovarien gegenübergestellt. Bei einer mittleren Abweichung von $\pm 0,07$ — $0,06$ lassen die mitangegebenen Längs- und Querdurchmesser keine sicheren statistischen Unterschiede erkennen.

Als Auszählungsergebnis (Tabelle 2) finden wir bei Ausschluß des Zufalls unter Anlegung einer $3\text{-}\sigma$ -Grenze in allen behandelten Tiergruppen außer der Gruppe I eine signifikante *Abnahme* der absoluten Zahl der beobachteten Zellteilungen. Bei Gruppe II ist diese am stärksten ausgeprägt, was wohl auf die lange Behandlungszeit zurückzuführen ist.

Nun erlauben absolute Mitosezahlen als solche keine Rückschlüsse auf die Teilungsaktivität, da sie die Resultante nicht nur aus der eigentlichen Proliferations-tätigkeit, sondern auch aus der Geschwindigkeit des Teilungsablaufes darstellen. Eine Verminderung der nachweisbaren Mitosen kann Ausdruck einer verringerten

Zellteilungsaktivität oder einer beschleunigten Mitosengeschwindigkeit sein. Auch hier käme eine Beschleunigung des Mitoseablaufes in Frage, wie sie v. MÖLLENDORFF in einigen seiner Filme über den Mitoseablauf unter Urethaneinwirkung gesehen hat. In Verbindung mit den grob-anatomischen Befunden, wie dem Fehlen der Follikelreife und auch der Brunsthemmung, ist aber hier eine Verminderung der Proliferationstätigkeit als wahrscheinlicher anzusehen. Diese könnte durch Eintrittshemmung in die Mitose bedingt sein. Daß überhaupt Zellteilungen in den vielfach schwer geschädigten Ovarien vorhanden sind, steht nicht im Widerspruch zu obigen Befunden. Es muß hierzu bemerkt werden, daß auch in Follikeln, deren

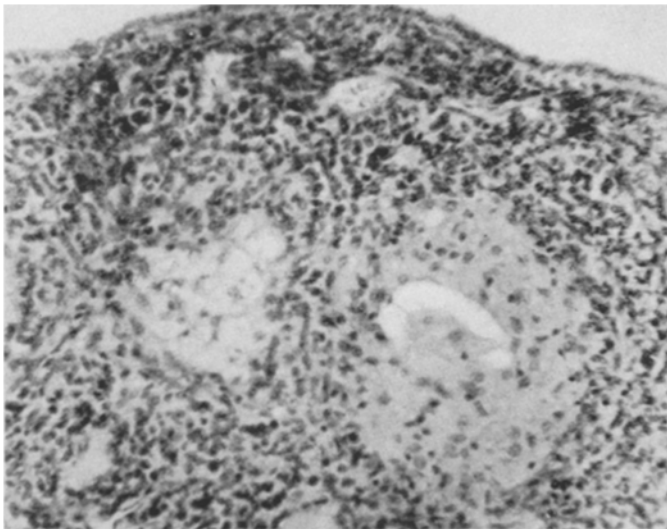


Abb. 8. Untergehende Follikel mit starker Fettspeicherung in den Thecazellen.

Granulosaepithel bereits deutliche Degenerationserscheinungen aufweist, noch Zellteilungsfiguren zu sehen sind. Oft kann in solchen Follikeln der Untergang der Zelle aus der Metaphase unter Aufbröckeln verschmolzener Chromosomen heraus verfolgt werden, diese Tatsache könnte für eine stärkere Einwirkung des Urethans auf die sich teilenden Zellen mit erhöhter Permeabilität im Sinne von SPEK, v. MÖLLENDORFF u. a. sprechen. Eine Weiterentwicklung dieser in der Teilung geschädigten Zellen kann dann ausbleiben, wenn eine irreversible Schädigung erfolgt ist. Daß dies häufig der Fall ist, zeigt die mitunter relativ große Zahl von zugrunde gehenden Mitosen in degenerierten Follikeln, was auf eine Anhäufung von Zellteilungsfiguren, deren Vorkommen bei der normalen Atresie des Follikels von SOBOTTA, FLEMMING, SCHOTTLÄNDER u. a. als selten angegeben wird, schließen läßt. STAEMMLER sah auch bei benzolbehandelten Eierstöcken reichliche Mitosen.

3. *Corpora lutea, Stroma und Oberflächenepithel.* Die Zahl der in Serienschnitten aufgefundenen Corpora lutea erweist sich bei langer Behandlungszeit (Gruppe II) als deutlich reduziert. Die vorgefundenen Gelbkörper oder Reste derselben mit bindegewebiger Durchwachsung zeigen dabei an den Zellen keine besonderen Veränderungen. Frische

Corpora lutea können während der Urethanbehandlung nicht angetroffen werden, eine Ovulation findet offenbar nicht statt.

Das Stroma des Ovars nimmt entsprechend dem untergehenden spezifischen Parenchym unter verstärkter Faserbildung einen zunehmend breiteren Raum ein, so daß in einigen Fällen (Abb. 2 und 3) die Hauptmasse des Eierstocks aus einem dichten, faserreichen Gewebe zusammengesetzt erscheint. Die große Zahl der untergehenden Follikel erklärt auch die Zunahme der in ihrer Gesamtheit als interstitielle Zellen angesprochenen, großzelligen lipoidreichen Zellkomplexe. Besonders ins Auge fallend ist in vielen Eierstöcken bei Urethanbehandlung die starke Fettspeicherung in den Thecazellen zugrunde gehender Follikel (Abb. 8), die wir in normalen Eierstöcken zwar auch, aber nicht in diesem Ausmaß angetroffen haben.

Eine Verstärkung der Speicheringfähigkeit bei Urethaneinwirkung muß erwogen werden, da GEIERSBACH, FISCHER und LASER eine Steigerung der Phagocytosefähigkeit und Fettspeicherung in Gewebskulturen unter Urethaneinfluß beobachten konnten, eine Lipase-Fermenthemmung scheint also nicht vorzuliegen.

Das Oberflächenepithel der Ovarien, das zumeist kubisch, aber auch zylindrisch gestaltet ist, läßt bei Übersichtsvergrößerung (Abb. 2) die seinerzeit von STIEVE bei Hitzeeinwirkung beschriebenen epithelialen, an Drüsen erinnernde und als Regenerationserscheinungen aufgefaßten Schlauchbildungen erkennen.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei der Beurteilung der Untersuchungsergebnisse waren wir uns bewußt, daß neben einer gründlichen Durchmusterung aller angefertigten Serienschnitte nur ein steter Vergleich mit einer großen Zahl von normalen Eierstöcken und eine statistische Sicherung der Auszahlungsergebnisse zum Ziele führen konnte. Fassen wir unsere Befunde zusammen, so muß die eingangs gestellte Frage, ob es mit Urethan möglich ist, einen nachweislichen Einfluß auf den Eierstock auszuüben, bejaht werden. Die unter den genannten Bedingungen gemachten Versuche lassen erkennen, daß das Urethan, dem neben seiner schlaferzeugenden narkotischen Wirksamkeit zahlreiche andere Eigenschaften wie Fermenthemmung und Störung des intermediären Stoffwechsels, des Wasserhaushaltes, von Herzkreislauf und Atmung sowie eine Beeinflussung der Leukämiezelle zukommen, in stärkeren Dosen angewandt, den Charakter eines Keimdrüsengiftes annimmt. Es bewirkt zweifellos eine erhöhte Follikelatresie und führt schließlich bei zunehmendem Schwund des spezifischen Ovarialparenchyms zu einer Ovarialatrophie. Unter den hierbei an der Eizelle auftretenden Degenerationserscheinungen ist das gehäufte Vorkommen von Spindelfiguren, Abspaltung von

Richtungskörperchen und Krystallbildung im Ooplasma zu erwähnen. Die zu beobachtende Reifungshemmung der Follikel haben wir durch Erfassung der vorhandenen Zellteilungen zu objektivieren versucht; die Zahl der angetroffenen Mitosen ist offenbar vermindert. Die Differenzierung in einzelne Mitosephasen zeigt hierbei eine sichere Zunahme der Metaphasenprozente, die vermutlich als Hemmungswirkung des Urethans zu deuten ist. Die funktionelle Eierstockstätigkeit wird gehemmt, diese Hemmung ist reversibel wie auch nach Absetzen des Urethans erneutes Follikelwachstum einsetzen kann.

Bei Berücksichtigung der Tatsache, daß schon ohne eine stärkere Allgemeinwirkung und Gewichtsabnahme diese Ovarialveränderungen angetroffen werden, z. B. in Tiergruppe II, kann in der Ernährungsstörung — wie schon oben betont — nicht die Ursache unserer Ergebnisse gesehen werden. Die Veränderungen am Eierstock, die im Gegensatz zu anderen Mitteilungen über Keimdrüenschädigungen in der Literatur in einer relativ kurzen Zeit bei unseren Versuchstieren auftraten, zeigen, daß dem Urethan gegenüber anderen Stoffen, wie Nicotin, Coffein, Jod, Blei, Kochsalz, Chloroform, Cocain, Morphinum und andere mehr eine gewisse Sonderstellung einzuräumen ist. Es scheint in seiner Wirkung dem Thallium, welches erhebliche Störungen im innersekretorischen System verursacht und ebenfalls zu einer Cyclushemmung führt, und dem Arsen mit starken allgemeinen Stoffwechselstörungen nahezustehen. Diesen eben erwähnten Giften wird von STAEMMLER und MAAK noch das Benzol und das Pervitin an die Seite gestellt, weil es mit diesen Stoffen gelang, Keimdrüenschädigungen zu erzielen, die in keiner auch nur vergleichbaren Weise von den zahlreichen anderen untersuchten Giften erreicht werden, selbst dann nicht, wenn diese in einer den Allgemeinzustand schädigenden Dosis verabfolgt werden. Ein Vergleich zwischen dem Urethan und dem Benzol drängt sich um so mehr auf, als nach Untersuchungen von E. MÜLLER, SELLING, PAPPENHEIM und NEUMANN bei Benzolinjektionen eine hochgradige Leukopenie, eine Abnahme der Erythrocyten, ein Milzknötchenschwund, sowie eine Thrombopenie zu beobachten ist. Die Spezifität der Urethanwirkung am Ovar allein muß bei den bekannten Veränderungen am hämatopoetischen und lymphatischen System abgelehnt werden.

Der Wirkungsmechanismus der Urethans kann auf Grund morphologischer Untersuchungen nicht geklärt werden, doch ist nach den Untersuchungen von WARBURG u. a. anzunehmen, daß das Urethan in das physikalische Geschehen innerhalb der Zelle eingreift, welches den Stoffwechsel weitgehend beherrscht und in Wechselwirkung durch seine Produkte verändert wird. Wenn auch die nachgewiesene Hemmung der Zellteilung in der Metaphase und die Verminderung der

Mitosenzahl einer cytostatischen direkten Wirkung des Urethans gerecht wird, so kann letzthin am Eierstock mit seinen humoralen Steuerungen nicht mit Sicherheit entschieden werden, inwieweit hier noch eine Störung des nervös-chemischen Regulationsmechanismus der dem Ovar übergeordneten Zentren im Hypophysen-Zwischenhirnsystem eine Rolle spielt. Diese Annahme wird durch die hypnotische Wirksamkeit des Urethans, das auch am Zwischenhirn angreifen soll, gestützt, ferner durch die Tatsache, wie leicht es gelingt, eine Störung der Eierstocksfunktion mit schlagartiger Hemmung des Vaginalcyclus zu erzielen. In ähnlicher Weise scheinen die Erfolge mit dem Zwischenhirnschlafmittel Prominal, das WESTMANN in der Annahme eines abnormen Reizzustandes im Hypophysenzwischenhirnsystem mit Überproduktion der das Follikelwachstum anregenden gonadotropen Hormone bei glandulärer Hyperplasie verabreichte und auch die Wirkung des Urethans in der Beseitigung der Kastrationsfolgen (SAURER) für eine Beeinflussung der zentralen Regulation durch Narkotica zu sprechen. Der Unzulänglichkeit einer vergleichenden Betrachtung der Ergebnisse im Tierversuch mit den Beobachtungen am Menschen sind wir uns dabei bewußt. Eine Übertragung der Versuchsergebnisse auf den Menschen ist wegen der im Tierversuch verwandten hohen Dosen nicht möglich.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Urethan auf den Mäuseeierstock untersucht. Nach den gemachten Beobachtungen lassen sich folgende Ergebnisse verzeichnen:

Urethan führt bei konstanter Verabfolgung in einer Dosierung von 0,3—1,0 g/kg täglich zu einer Beeinflussung des Follikelwachstums, als deren Merkmal eine Verminderung der absoluten Mitosezahlen und eine Zellteilungshemmung in der Metaphase nachgewiesen wurde. Es führt zu vermehrter Atresie der Follikel und schließlich zu einer Ovarialatrophie; unter den hierbei beobachteten Degenerationserscheinungen an der Eizelle treten häufig Spindelfiguren, Absprengung von Richtungskörperchen und Krystallbildungen im Ooplasma auf. An untergehenden Follikeln läßt sich eine starke Fettspeicherung der Thecazellen feststellen. Die Schädigung der Eierstöcke bei lang dauernder Urethanzufuhr ist nicht einer Kastration gleichzusetzen; denn es kann nach Absetzen des Medikamentes erneutes Follikelwachstum einsetzen. Die funktionelle Eierstockstätigkeit hört während der Urethanverabfolgung auf, die Hemmung der Brunst erweist sich als reversibel.

Urethan wirkt also nicht nur auf das hämatopoetische System, sondern es nimmt in hoher Dosierung auch den Charakter eines Keimdrüsengiftes an.

Literatur.

- BATAILLON, E.: Roux' Arch. **115** (1929). — BERG, W.: Z. mikrosk.-anat. Forschg **16**, 213 (1929). — BESOLD, F.: Z. Geburtsh. **129**, 70 (1948). — BLOTEVOGEL, W.: Virchows Arch. **285**, 53 (1932). — BOCK, H. E.: Klin. Wschr. **1948**, 390. — BOCK, H. E., u. R. GROSS: Ärtzl. Forschg **1947**, 369. — BONNET, R.: Erg. Anat. **9**, 827 (1900). — BRANCA, A.: Archives de Biol. **35** (1926). — BROCK, N. H., DUCKREY u. H. HERKEN: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193** (1936). — BUCHER, O.: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 1229. — CHAMPY, CHR.: C. r. Soc. Biol. Paris **96** (1927). — DOGLIOTTI: Monit. zool. ital. **37**, 6 (1920). Ref. Ber. Gynäk. **11**, 48. — DUSTIN, P.: Bull. Acad. Méd. Belg. **14**, 487 (1934). — Arch. exper. Zellforschg **22**, 395 (1939). — DUSTIN, P. jr.: Brit. J. Canc. **1**, 48 (1947). Ref. Klin. Wschr. **1948**, Nr 9/10, 156. — FISCHER u. LASER: Arch. exper. Zellforschg **8** (1929). FISCHER, K. C., and J. R. STERN: Cell. Comp. Phys. **19**, 109 (1942). — FLEMMING, W.: Arch. f. Anat. **1885**, 221. — Anat. H. **106** (1907). — FÜHNER, H.: Biochem. Z. **120**, 147. — GEIERSBACH, U.: Arch. exper. Zellforschg **23**, 210 (1939). — GIERNDT: Verh. dtsh. pharmak. Ges. **7**. — GOLDNER, I.: C. r. Soc. Biol. Paris **88**, 545 (1923). HÄGGSTRÖM, G.: Acta scand. gynäk. **1**. — Uppsala Läk.för. Förh. **1921**. — HEILMEYER, L.: Med. Klin. **1947**, 182. — Klin. Wschr. **1947**, 928. — HENNEGUY, L. F.: J. l'Anat. **30** (1894). — HETT, J.: Arch. Ohr- usw. Heilk. **143**, 4 (1937). — HINSELMANN, H.: Z. Geburtsh. **96**, 358 (1929). — HOLL, M.: Anat. Anz. **6**, 551 (1891). — JANOŠIK, J.: Arch. mikrosk.-Anat. **48**, 19 (1897). — KLAGES u. a.: Chemie **58**, 41 (1945). — KODAMA, S.: Tohoku J. exper. Med. **15**, 11 (1930). — J. Biophysics **1**, 38 (1924). — KOLLER: Grafische Tafeln. Dresden: Theodor Steinkopff 1940. — KOLMER, W.: Anat. Anz. **51**, 314 (1918). — KÜSTER, F.: Klin. Wschr. **1947**, 664. — LEHNER, J.: Z. mikrosk.-anat. Forschg. **1**, 316 (1924). — LENHOSSEK, M. v.: Arch. f. Anat. **1897**. — LENNERT, K., u. G. ILGNER: Frankf. Z. Path. **59**, 498 (1948). — LETTRÉ, H.: Naturwiss. **30**, 34 (1942); **33**, 75 (1946). — LINDGREN, H.: Arch. f. Anat. **1877**. — LINKE, A., u. K. MECHELKE: Verh.-Ber. Südwestdtsh. int. Kongr. **1947**. — Med. Klin. **1948**, Nr 20. — LOEB, J.: Roux' Arch. **2** (1895). — LORENZ, W.: Strahlenther. **77**, 375 (1947). — LUBARSCH, O.: Virchows Arch. **145**, 316 (1896). — LUDFORD, R. J.: Arch. exper. Zellforschg **18**, 411 (1936). — LUTHER u. LORENZ: Strahlenther. **77**, 27 (1947). — MAAK, H.: Z. Zellforschg **29**, 425 (1939). — MAGNUS, R.: Körperstellung, S. 651. Berlin: Springer 1924. — MASSHOFF, W.: Verh.-Ber. Südwestdtsh. int. Kongr., Karlsruhe 1947. — MASSHOFF, W., W. HEINZEL u. a.: Klin. Wschr. **1948**, 397. — MATTHIS, J.: Z. mikrosk.-anat. Forschg **37**, 601 (1935). — MÖLLENDORFF, W. v.: Arch. exper. Zellforschg **21**, 1 (1938). — Z. Zellforschg **27**, 301 (1938); **29**, 323 (1939). — MOESCHLIN, Sv.: Helvet. med. Acta **14**, 279 (1947). — MÜLLER, E.: Beitr. path. Anat. **86**, 273 (1931). — NEUMANN: Dtsch. med. Wschr. **1915**, 394. — Ther. Gegenw. **15**, 56 (1913). — NOVAK, J., u. K. EISINGER: Arch. mikrosk. Anat. **98**, 10 (1923). — ORMSBY, R. A., and K. C. FISCHER: J. gen. Physiol. **27**, 461 (1944). — PAPPENHEIM: Z. exper. Path. u. Ther. **15**, 39 (1914). — PATERSON, E. A. HADDOW, I. Ap. THOMAS and J. M. WATKINSON. Lancet **1946**, 677. — PENG, D.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **151**, 270 (1930). — PFLÜGER: Über den Eierstock der Säugetiere. Leipzig 1863. — POLLAK, W.: Anat. Anz. **61** (1926). — PULEWKA, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **120**, 186 (1927). — QUASTEL, J. H.: Trans. Faraday Soc. **39** (1939). — RABL, H.: Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **106** (1897). — Arch. mikrosk. Anat. **59**, 421 (1899). — Anat. H. **11**, 109 (1899). — REINKE, F.: Arch. mikrosk. Anat. **47**, 31 (1896). — SANSOM, G. S.: J. of Anat. **55** (1922). — SATO, J., and CHINKAI SHUCH: J. of Biochem. **26**, 247 (1937). — SAURER, A.: Schweiz. med. Wschr. **1948**, 197. — Experientia **1**, H. 5 (1945). — SCHÖN, R.: Klin. Wschr. **1947**, 488. — SCHOTTLÄNDER, J.: Arch. mikrosk. Anat.

56 (1900). — SCHROEDER: Handbuch der mikroskopischen Anatomie, Bd. VIII, S. 329. — SCHULZE, E., H. H. MÜLLER u. E. FRITZE: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 371. — SELLING: Zit. bei E. MÜLLER, Beitr. path. Anat. **86**, 273 (1931). — SLAVIANSKY, K.L.: Virchows Arch. **51** (1870). — SOBOTTA, J.: Arch. mikrosk. Anat. **45**, 15 (1895). — Würzburg. Verh., N. F. **39** (1908). — Erg. Anat. **6** (1896). — Festschrift z. Feier ihres 50jähr. Bestehens 1899 (Phys.-med. Ges. Würzburg). — SPEK: Arch. mikrosk. Anat. **101**, 444 (1924): Arch. f. Entw.mechan. **108**, 3, 25 (1926). — STAEMMLER, M.: Z. menschl. Vererb. u. Konstit.lehre **26**, 43 (1942). — STIEVE, H.: Z. mikrosk.-anat. Forschg **1**, 191 (1924); **15**, 599 (1931); **23**, 571 (1931); **33**, 329 (1923); **41**, 88 (1937). — THOMAS and DREWS: Nature (Lond.) **152**, 564 (1943). — TISCHENDORF, W., u. E. FRITZE: Klin. Wschr. **1948**, 179. — VIRCHOW, H.: Arch. mikrosk. Anat. **24**, 113 (1885). — WAGNER, G. R.: Arch. f. Anat. **1879**. — WARBURG, O.: Ausf. Lit. s. bei L. HEILMEYER, R. MERK u. J. PIROWITZ: s. oben. — WESTMANN, A.: Z. Geburtsh. **10**, 415 (1943). — ZONDEK, H.: Hormone des Ovars. Wien 1935.

Dr. KARL FUHRMANN, Erlangen, Patholog. Institut der Universität.