

Pr 243

Jahrgang 88

Schenkun
OTTO JAA

31. März 1943

VIERTELJAHRSSCHRIFT DER NATURFORSCHENDEN GESELLSCHAFT IN ZÜRICH

unter Mitwirkung von

W. BRUNNER, A.U. DÄNIKER, R. EDER, H. FISCHER, A. FREY-WYSSLING
H. GUTERSOHN, P. KARRER, P. NIGGLI, P. SCHERRER, A. SPEISER
FR. STUSSI und K. ULRICH

herausgegeben von

HANS STEINER

Leg. Dr. J. Hug

Eidg. Anstalt für Wasserversorgung
Abwasserreinigung u. Gewässerschutz

Beiheft Nr. 1

Sexualhormonprobleme

Die Wirkung von Sexualhormonen auf die Zitze und Brustdrüse
des Meerschweinchens

Von

WERNER JADASSOHN

und

HANS EDUARD FIERZ-DAVID

Mit 34 Abbildungen im Text

Preis Fr. 3.—

DRUCK UND VERLAG GEBR. FRETZ AG. ZÜRICH

Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich

unter Mitwirkung von

W. BRUNNER, A. U. DÄNIKER, R. EDER, H. FISCHER, A. FREY-WYSSLING, H. GUTERSOHN,
P. KARRER, P. NIGGLI, P. SCHERRER, A. SPEISER, FR. STÜSSI UND K. ULRICH

herausgegeben von

HANS STEINER, ZÜRICH 7

Druck und Verlag: Gebr. Fretz AG., Zürich

Nachdruck auch auszugsweise nur mit Quellenangabe gestattet

Jahrgang 88

BEIHEFT NR. 1

31. März 1943

Sexualhormonprobleme

Die Wirkung von Sexualhormonen auf die Zitze und Brustdrüse des Meerschweinchens
Von

WERNER JADASSOHN und HANS EDUARD FIERZ-DAVID

Mit 34 Abbildungen im Text

Aus dem Biochemischen Laboratorium des Technisch-chemischen Institutes der E.T.H. Zürich

Einleitung

Seit 1936 untersuchen wir die Wirkung von Sexualhormonen auf die Zitze des Meerschweinchens. Trotzdem wir unsere Versuche fast ohne Unterbruch durchgeführt haben, und trotzdem es sich um eine so eng begrenzte Fragestellung handelt, sind wir noch sehr weit von einem Abschluss unserer Untersuchungen entfernt, so weit, dass es sich eigentlich nicht rechtfertigt, die Versuchsergebnisse zusammenzufassen. Wenn wir dies jetzt dennoch tun, so geschieht es deswegen, weil wir bisher immer nur kurz über die Resultate referierten. Die verschiedenen Arbeiten sind an sehr verschiedenen Orten, in deutscher, französischer und englischer Sprache in medizinischen und chemischen Zeitschriften erschienen. Auf die Literatur konnte bisher kaum eingegangen werden. Sie wird im folgenden eingehender berücksichtigt, kann aber bei dem Umfang, den sie angenommen hat, nicht vollständig angeführt werden. Sie ist heute auch oft sehr schwer zugänglich. Zweck dieser Ausführungen ist nur der, zu zeigen, dass der Nipple Test ein gewisses physiologisches und klinisches Interesse beanspruchen darf.

1912 hat STEINACH eine Arbeit geschrieben über «Willkürliche Umwandlung von Säugetiermännchen in Tiere mit ausgeprägt weiblichen Geschlechtscharakteren und weiblicher Psyche». Bei kastrierten Männchen wurden Ovarien implantiert. Dann «entwickeln sich Brustwarze, Warzenhof und Brustdrüse wie bei normalen Weibchen». Die der Arbeit beigegebenen Abbildungen zeigen die grossen Zitzen¹) der feminisierten Männchen im Ver-

¹ Wir sind von Herrn Prof. FREY (Veterinär-pathologisches Institut der Universität Zürich) darauf aufmerksam gemacht worden, dass man bei Tieren nicht von Brustwarzen sprechen darf. Wir sprechen daher jetzt von Zitzen oder Nipples und haben den in unseren ersten Arbeiten verwendeten Ausdruck Brustwarzentest durch Nippletest ersetzt.

gleich zu den rudimentären Zitzen unbehandelter Männchen in eindrucklichster Weise.

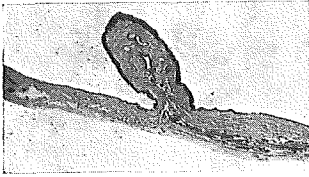
Wodurch kommt die Zitzenvergrößerung zustande?

In STEINACH's Versuchen war sie bewirkt durch die Implantation von Ovarien. Diese kann, wie eine sehr grosse Anzahl von Autoren zeigte, (Lit. s. ZONDEK und LAQUEUR, BORCHARDT, DINGEMANSE und DE JONGH) durch die Injektion von Ovarialextrakten ersetzt werden. Dass der Effekt auf die Zitze nicht auf irgendeiner «Beimengung», sondern auf dem reinen, kristallisierten Hormon beruht, haben BLOCH und GULDBERG bewiesen, indem sie Versuche mit einem ihnen von BUTENANDT zur Verfügung gestellten Präparat durchführten. Es besteht heute kein Zweifel an der Tatsache, dass die weiblichen Sexualhormone (Oestron, Oestradiol etc.) eine Vergrößerung der Zitze bewirken. Es stellt sich die Frage, ob das «direkt» geschieht oder «indirekt», sei es auf dem Wege des Sympathikus oder über ein anderes Hormon. Diese Frage erscheint uns heute mit Sicherheit gelöst zu sein. Wir werden weiter unten (s. S. 17) noch ausführlicher darauf zurückkommen, dass es durch lokale Applikation von Lösungen von weiblichen Sexualhormonen auf die Zitze des Meerschweinchens gelingt, eine Vergrößerung der Zitze zu erzielen. Wählt man geringe Dosen, so erhält man nur eine Vergrößerung der behandelten Zitze, während die andere Zitze unbeeinflusst bleibt. Daraus ergibt sich, dass das weibliche Sexualhormon direkt wirkt, und nicht indirekt, z. B. auf dem Umweg über die Hypophyse, da sonst beide Zitzen in gleicher Weise ansprechen müssten.

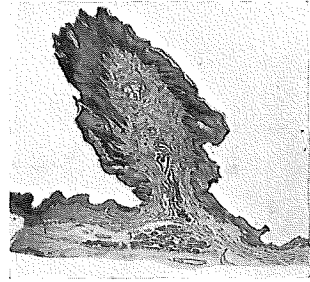
Zusammenfassend können wir also feststellen, dass die durch Ovarienimplantation und durch die Injektion von Ovarial- und Plazentaextrakten erzielte Zitzenvergrößerung durch weibliche Sexualhormone, vom Typus des Oestrone, Oestradiols etc., entsteht, und zwar greifen die Hormone direkt am Erfolgsorgan an und wirken nicht auf irgendeinem Umwege.

Hormonal bedingte histologische Veränderungen der Meerschweinchenzitze und des Zitzenhofes

LAQUEUR, BORCHARDT, DINGEMANSE und DE JONGH publizierten Mikrophotographien von durch Injektion von weiblichem Sexualhormon vergrößerten Zitzen von kastrierten und nicht kastrierten männlichen Meerschweinchen und geben zum Vergleich die Zitzen unbehandelter kastrierter und nicht kastrierter männlicher Tiere und die Zitzen von weiblichen Tieren (virginellen, solchen, die geboren haben, und schwangeren). Die Abbildungen zeigen, dass die behandelten Männchen Zitzen haben, die fast denjenigen der schwangeren Weibchen entsprechen.



a



b

Abb. 1

a = unbehandelte Zitze eines männlichen Meerschweinchens,
 b = behandelte Zitze desselben Meerschweinchens.

Behandlung: während 30 Tagen täglich 1 Tropfen einer Oestronlösung
 ($1 \gamma / 1 \text{ cm}$) appliziert. Vergrößerung 8 : 1.

Wir haben weiter oben schon darauf hingewiesen, dass es uns gelungen ist, Zitzenvergrößerung durch tägliches Auftropfen von weibliches Sexualhormon enthaltenden Lösungen zu erzielen. Solche Zitzen haben wir histologisch untersucht. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die starke Vergrößerung der behandelten Zitzen. Die histologischen Bilder entsprechen durchaus den von LAQUEUR und seinen Mitarbeitern u. a. abgebildeten. An der Zitzenvergrößerung beteiligen sich Stroma und Epithel. Durch eine 30tägige Behandlung mit einer 1γ pro cm enthaltenden Oestronlösung erhält man eine ca. 7fache Stromazunahme und eine ca. 30fache Epithelzunahme. Diese Zahlen sind nur sehr approximativ, sie zeigen aber, dass dem Oestron (analoge Resultate ergaben auch Oestradioldipropionat und Stilböstrol) ein starker proliferativ wirkender Effekt auf das Zitzenepithel zukommt. Die Hormone bewirken eine starke Akanthose.

Akanthogene Hormonwirkung

Die oben erwähnte ca. 30fache Vermehrung des Epithelvolumens beim Auftropfen von Lösungen, die weibliches Sexualhormon enthalten, ist nicht allein dadurch bedingt, dass durch die Vergrößerung des Zitzenstromas das Epithel eine grössere Fläche bedeckt, sondern es kommt darüber hinaus zu einer starken Verbreiterung dieser Epitheldecke, zu einer Akanthose. Beim unbehandelten männlichen Meerschweinchen besteht das Zitzenepithel aus 3—4 Zellagen, die das Stratum basale und Stratum spinosum umfassen. Das Stratum granulosum besteht aus nur einer Zellage. Nach einer 30 Tage dauernden Behandlung der Zitze durch Auftropfen von Hormonlösung konnten wir im Stratum spinosum bis 30 Kernreihen zählen und fanden ein breites Stratum granulosum. Schon nach 2 Tropfen Oestronlösung, viel deutlicher nach 4 Tropfen, liess sich eine Epithelverbreiterung nachweisen. Die Abbildungen zeigen die Verhältnisse so deutlich, dass sich weitere Worte erübrigen. Die Feststellung dieser durch Hormonwirkung bewirkten Akanthose ist von verschiedenen Gesichtspunkten aus interessant.

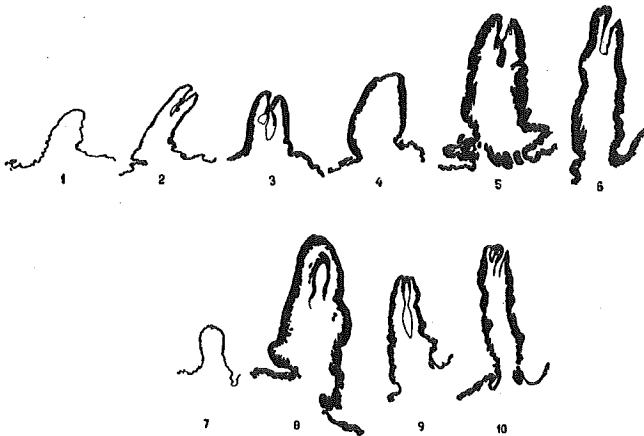


Abb. 2

Die schwarze Linie ergibt die Epithelbreite der Zitze. Die Sexualhormonlösungen wurden täglich auf die Zitzen aufgetropft.

- | | |
|---|---|
| 1. ♂, unbehandelt. | 7. ♀, unbehandelt. |
| 2. ♂, 1 γ Oestron/ccm 2 Tage aufgetropft. | 8. ♀, 2 Tage post partum. |
| 3. ♂, 1 γ Oestron/ccm 4 Tage aufgetropft. | 9. ♂, 0,05 γ /ccm Oestradioldipropionat 30 Tage aufgetropft. |
| 4. ♂, 1 γ Oestron/ccm 12 Tage aufgetropft. | 10. ♂, 0,5 γ /ccm Stilböstrol 30 Tage aufgetropft. |
| 5. ♂, 1 γ Oestron/ccm 30 Tage aufgetropft. | |
| 6. ♂, 1 γ Oestron/ccm 10 Monate aufgetropft. | |

Zuerst sei festgestellt, dass nicht allein das Zitzenepithel auf weibliche Sexualhormone mit einer Akanthose reagiert. Das Vaginalepithel der infantilen oder kastrierten Maus und Ratte zeigt nach Injektionen von weiblichem Sexualhormon eine starke Verbreiterung. Darauf beruht der Allen-D o i s y Test. Bei der kastrierten Maus ist das Epithel schmal, man findet im Vaginalabstrich Schleim, Epithelien und Leucozyten. Wird durch Injektion von weiblichem, oestrus-erzeugenden Sexualhormon das Epithel verbreitert und verhornt, dann findet man im Abstrich keinen Schleim, keine Epithelien und keine Leucozyten mehr, sondern Schollen. An dieser Stelle interessiert uns, dass an der Vaginalschleimhaut der Nager genau die gleichen Veränderungen auftreten, wie wir sie am Zitzenepithel beobachtet haben. Auch das Vaginalepithel des Menschen verhält sich ganz analog. GEIST und SALMON u.a. geben Abbildungen, aus denen sich das Akanthoswerden der Vaginalschleimhaut klimakterischer Frauen durch Injektion von weiblichem Sexualhormon sehr deutlich ergibt. Auch an der Uterusschleimhaut von Mensch und Tier zeigt sich unter der Wirkung von weiblichem Sexualhormon eine deutliche proliferative Wirkung (siehe ZONDEK, DESSAU, GEIST und SALMON u.a.), ganz besonders auch wenn das Hormon lokal appliziert wird (GRUMBRECHT und LOESER). Sogar in vitro am überlebenden Uterusgewebe konnte eine Wirkung auf die Schleimhaut festgestellt werden (GRUMBRECHT und LOESER). Auch bei männlichen Tieren bewirkt Oestron Epithelhypertrophie z. B. der Ausführungsgänge der Gland-

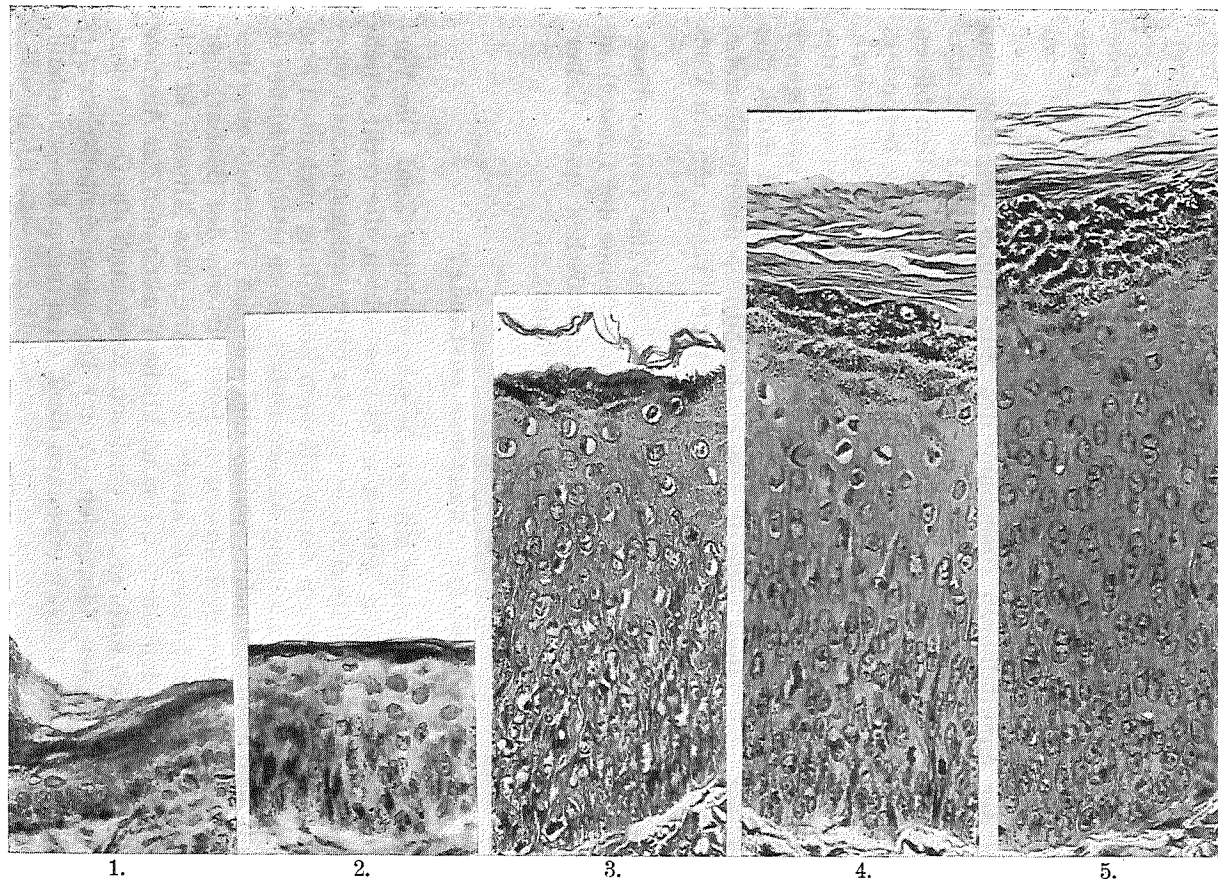


Abb. 3

Epithel der seitlichen Zitzenwand. Es wurde täglich 1 Tropfen Oestronlösung (1 γ /ccm) auf die Zitze aufgetropft. Verwendet wurden männliche Tiere.

1. unbehandelt. 2. 2 Tage behandelt. 3. 4 Tage behandelt. 4. 12 Tage behandelt. 5. 30 Tage behandelt.

Vergrößerung: 250 : 1.

dula vesicularis und Glandula coagulans (cit. nach DE JONGH, KOK und VAN DER WOERD).

Wir sehen also, dass die weiblichen Sexualhormone eine besondere Wirkung auf gewisse Epithelien im Körper besitzen, dass sie Akanthose veranlassen können. Wir haben von **akanthogenen Hormonen** gesprochen. Die Fähigkeit der Epithelzellen, auf solche akanthogene Hormone anzusprechen, ist auf gewisse Territorien beschränkt, und nicht etwa eine Fähigkeit aller Epithelzellen. So sehen wir z. B. auf hämatogene Oestronzufuhr das Zitzen- und Zitzenhofepithel akanthotisch werden, nicht aber das Epithel der unmittelbaren Umgebung des Zitzenhofes. Es gibt also Epithelzellen wie z. B. diejenigen der Zitze, die eine **spezielle Empfindlichkeit** auf oestrogene Hormone aufweisen. Diese Zellen bilden unter der Wirkung der Hormone eine starke Akanthose. Ganz besonders auffällig ist das **Tempo der Ausbildung dieser Akanthose**. Die Abb. 2 u. 3 zeigen sehr deutlich, eine wie starke Verbreiterung des Epithels schon nach wenigen Tagen durch minimale Dosen oestrogenen Hormone erzeugt werden kann. Es ist erstaunlich, wenn auch durch den Allen-Doisy Test schon lange bekannt, dass ein hochdifferenziertes Gewebe, wie es das Epithel darstellt, sein Volumen in wenigen Tagen um ein Vielfaches vermehren kann.

Wir haben seinerzeit schon darauf hingewiesen, dass das Tempo dieses «Travail épithérial» nach Oestronbehandlung an das Tempo der Umstellung des megaloblastischen Knochenmarks in normoblastisches nach Leberbehandlung, im Verlauf von vier Tagen, erinnert (ROHR).

Wie kommt die Akanthose zustande?

«In normaler Haut findet man Mitosen in sehr geringer Zahl. Die Vorstellung, dass diese spärlichen Mitosen nicht ausreichen, die recht erhebliche Zellneubildung in der Haut zu decken, ist öfters ausgesprochen worden. Sie hat dazu geführt, neben der mitotischen Zellteilung auch noch eine amitotische, sog. direkte Kernteilung vorauszusetzen. Doch ist diese bisher in ihrem Ablauf noch nicht beobachtet worden und wird nur einerseits aus einer Anzahl zweikerniger Zellen geschlossen, andererseits aus der Beobachtung reichlichen neuen Zellauftretens in kurzer Zeit, ohne dass Mitosen in entsprechender Zahl gefunden wurden. Das wirkliche Vorkommen der Amitose in der Epidermis ist noch nicht sicher erwiesen, wenn auch die Gewebskultur auf künstlichem, festen Nährboden (Agar) Teilungen amitotischer Art bei völligem Fehlen von Mitosen erkennen lässt. (KREIBICH: Menschenhaut, Rindercornea.)

Die oft ausserordentlich grosse Vermehrung der Mitosen in sichtlich vermehrter Zellneubildung (Psoriasis, Haarneubildung, epitheliale Tumoren) lässt es aber doch als wahrscheinlich erscheinen, dass die mitotische Teilung der Basalzellen die einzige normale Neubildungsform der Epidermiszellen sei.» (PINKUS.)

Wir haben gesehen, wie ausserordentlich rasch und stark sich das Zitzenepithel unter der Wirkung von Oestron verbreitert. Trotzdem ist die Zahl der Mitosen keine grosse, und das scheint die Annahme einer amitotischen Kernteilung in der Epidermis zu stützen. Dieser Schluss wäre aber ein Fehlschluss. LITS, DUSTIN und seine Mitarbeiter (siehe auch CHODOWSKI und andere) haben ein Verfahren ausgearbeitet, Mitosen in Geweben nachzuweisen, in denen sie sonst nicht gefunden werden. Sie injizieren Tieren (z. B. Meerschweinchen) 9½ Stunden bevor man sie tötet, Colchicin (25 γ pro 30 g Meerschweinchen). Es sind dann sehr viel mehr Mitosen nachweisbar als ohne Colchicininjektion, wahrscheinlich weil die Mitosen nicht mehr zu Ende laufen, sondern in einem gewissen Stadium arretiert werden. BASTENIE und ZYLVERSZAC gelang durch die «méthode colchicinique von Dustin» die «mise en évidence de stimulations hormonales». Schon vorher hatten ALLEN und Mitarbeiter im Vaginalepithel der kastrierten Maus massenhaft Mitosen nachgewiesen, wenn den Tieren oestrogenes Hormon injiziert worden war. Unsere hier wiedergegebene Mikrophotographie der Meerschweinchenzitze zeigt, dass durch die Colchicinmethode massenhaft Mitosen nachweisbar sind. Unsere Versuche beweisen, dass die ohne Colchicin festgestellte, geringe Zahl von Mitosen bei einer starken, rasch entstandenen Akanthose kein Grund ist, amitotische Kernteilungen anzunehmen. Das Colchicinverfahren zeigt, dass massenhaft Mitosen stattfinden, die ohne Colchicin der Beobachtung entgehen.

Das Colchicinverfahren ist eine interessante Methode, neue Untersuchungen über die Histologie der Epidermis anzustellen, speziell auch unter Zu-

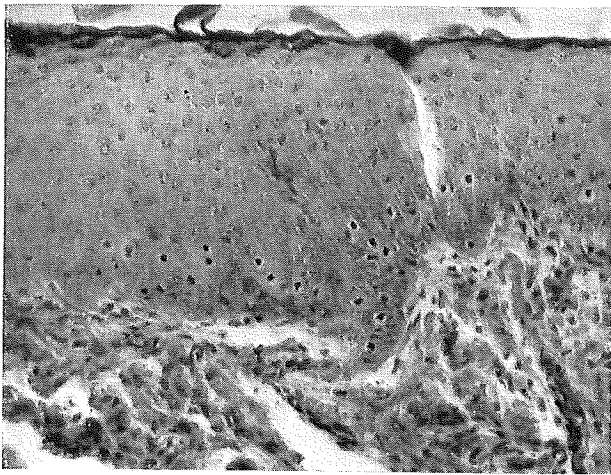


Abb. 4

Epithel der Zitze eines männlichen Meerschweinchens, täglich 1 Tropfen einer Oestronlösung (1 γ /ccm) auf die Zitze appliziert. Excision nach 4 Applikationen am 5. Tag. 9½ Stunden vor der Excision Colchicininjektion (25 γ /30 g Meerschweinchen.)

hilfenahme der durch Sexualhormone am Zitzenepithel ausgelösten Epithelveränderungen.

Wir haben die Absicht, uns mit diesem Problem weiter zu beschäftigen. Vorläufig haben wir folgendes festgestellt:

1. In der normalen Epidermis finden sich auch nach Colchicininjektion meist sehr wenig Mitosen, immerhin aber erheblich mehr, als wenn kein Colchicin gegeben wurde. Gelegentlich finden sich Stellen mit recht zahlreichen Mitosen.

2. Die Mitosen der normalen Epidermis finden sich keineswegs ausschliesslich in der Basalzellschicht, sondern gelegentlich im Stratum malpighi.

3. Im mit Oestron behandelten akanthotischen Zitzenepithel finden sich schon nach wenigen perkutanen Oestronapplikationen massenhaft Mitosen, auch wenn sehr kleine Oestronmengen verwendet werden. Die Mitosen finden sich in der Basalzellschicht und im Stratum malpighi, im letzteren allerdings nur im untern Drittel. Es ist also richtig, wenn, wie das heute (vgl. STÖHR-V. MÖLLENDORF) im Gegensatz zu früher geschieht, das Stratum germinativum nicht mit der Basalzellschicht identifiziert wird. Das Stratum germinativum, d. h. die Schicht, in der neue Epithelzellen gebildet werden, umfasst die unteren Partien des Stratum malpighi und die Basalzellschicht.

Die Akanthose kommt wie die Zitzenvergrösserung (siehe Seite 2 und 18) und die Pigmentierung (siehe Seite 10) direkt zustande und nicht indirekt, z. B. auf dem Umwege über die Hypophyse, da sie bei lokaler Applikation des Hormons u. U. auf die Applikationsstelle beschränkt bleibt (s. Abb. 1).

Der starke proliferative Effekt, den schon sehr geringe Dosen oestruserzeugenden Hormons auf Epithelzellen ausüben, muss berücksichtigt werden, wenn man über das Problem weibliche Sexualhormone und Carcinombildung nachdenkt. Die Beobachtung der sich in wenigen Tagen um ein Vielfaches vermehrenden Epithelzellen macht uns berechtigterweise einen starken Eindruck. Man darf diesen Befund aber auch nicht überwerten. Man muss sich vor Augen halten, dass nur bestimmte Epithelzellterritorien in dieser Weise reagieren, und vor allem muss man betonen, dass auch eine sehr starke Akanthose noch keine Carcinombildung ist. Wir müssen betonen, dass wir, trotzdem wir Meerschweinchenzitzen während mehr als zwei Jahren täglich mit Oestron behandelt haben, nie mehr gesehen haben als eine Akanthose. In keinem einzigen Fall haben wir eine auf Carcinom irgendwie verdächtige Neubildung finden können. Diese Feststellung wurde aber an Meerschweinchen gemacht, also an besonders Carcinom-refraktären Tieren. Sie erlaubt keinen Rückschluss auf den Menschen. Eine definitive Entscheidung werden Tierversuche hier überhaupt nicht geben können, sondern nur Erfahrungen am Menschen.

Wenn A. WINTERSTEIN die Literatur bis zum Jahr 1938 in dem Satz zusammenfasst: Les néoplasmes observés sur l'utérus influencée par l'oestrone n'ont jamais pu être reconnus malins, so ist das sehr beruhigend,

aber noch nichts Definitives. Die von LACASSAGNE und anderen durch Oestronpräparate bei Mäusen erzeugten Mammacarcinome haben viele Ärzte beunruhigt. Dies ist sicher berechtigt, aber diese Carcinome sind mit relativ sehr grossen Dosen erzeugt worden, die lange Zeit gegeben wurden, und auch diese Tierversuchsergebnisse können nicht einfach auf den Menschen übertragen werden. Sie mahnen zur Vorsicht, berechtigen aber nicht dazu, damit hat GESCHICKTER recht, die Therapie mit Oestronpräparaten aufzugeben.

Die Pigmentierung von Zitze und Zitzenhof

Parallel mit der durch weibliches Sexualhormon erzeugten Zitzenvergrößerung geht eine Pigmentierung der Zitze und des Zitzenhofes. LIPSCHÜTZ hat nach Verpflanzung von Eierstöcken auf kastrierte Männchen eine so starke Pigmentierung beobachten können, dass ein Kollege, dem er die Tiere zeigte, ihn fragte, ob er Zitzen und Zitzenhöfe mit chinesischer Tinte gedeckt hätte, um sie besser photographieren zu können. BLOCH und Mitarbeiter haben diese Versuche bestätigen können und haben gezeigt, dass die Implantation des Ovariums durch Injektion oder Verfütterung von käuflichen Präparaten und von chemisch reinen weiblichen Sexualhormonen ersetzt werden kann. Es ist aber überhaupt nicht nötig, das Sexualhormon zu injizieren oder zu verfüttern, sondern es genügt, wie wir zeigen konnten, täglich einen Tropfen einer sehr wenig konzentrierten Sexualhormonlösung (z. B. 1 γ Oestron oder Stilböstrol pro cem) auf die Zitzengegend zu applizieren, um eine sehr starke Hyperpigmentierung zu erzeugen. Bei der Verwendung so kleiner Dosen findet nur eine Pigmentierung der behandelten Zitze und ihres Hofes statt; die andere Zitze bleibt unbeeinflusst. Genau so wie wir (siehe oben) einen auf eine Zitze beschränkten vergrößernden Effekt durch lokale Hormonapplikation erzielen konnten, beobachteten wir eine auf eine Zitze beschränkte Hyperpigmentierung nach perkutaner Applikation kleiner Hormondosen. Wir haben einen lokalen Effekt an der Applikationsstelle, der in Zitzenvergrößerung und in Hyperpigmentierung besteht.

Nach BLOCH und GULDBERG kann man annehmen, «dass sich die Wirkung des Follikulins auf das pigmentbildende Ferment erstreckt, dasselbe aktiviert». «Ob das direkt geschieht durch den Eintritt des Hormons in die pigmentbildende Epidermiszelle oder indirekt vermittelt wird, sei es auf dem Wege des Sympathikus oder über ein anderes Hormon (als welches wohl in erster Linie auf Grund der Untersuchungen von ZONDEK das in den Zwischenteilen der Hypophyse produzierte ‚Intermedin‘ in Betracht käme), das zu entscheiden muss (nach BLOCH und GULDBERG) weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.»

Unsere Versuche haben, wie wir glauben, in einwandfreier Weise gezeigt, dass weibliches Sexualhormon

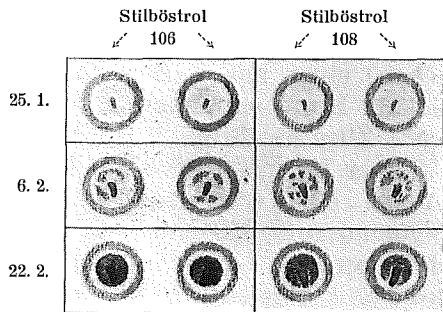
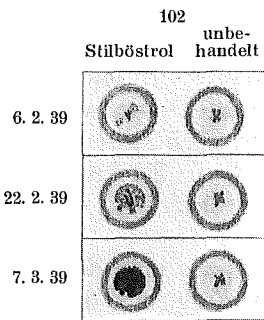
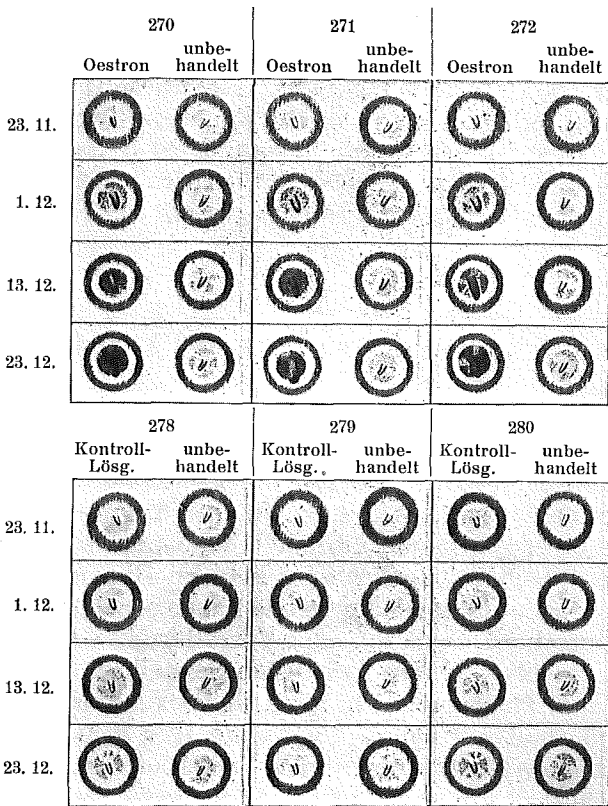


Abb. 5

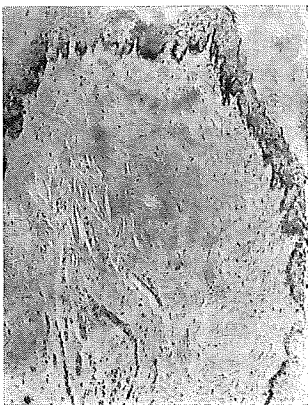
Behandlung: täglich 1 Tropfen einer Lösung mit 1 γ Oestron, resp. Stilböstrol/ccm appliziert.

Hyperpigmentierung erzeugen kann, ohne dass der Effekt auf dem Umweg über Hypophyse, Sympathikus oder Nebenniere zustande kommt. Die Annahme eines solchen Umweges, wie sie z. B. CLAUBERG auf Grund der Arbeiten von BLOCH und seinen Mitarbeitern gemacht hat, scheint nicht gerechtfertigt zu sein,

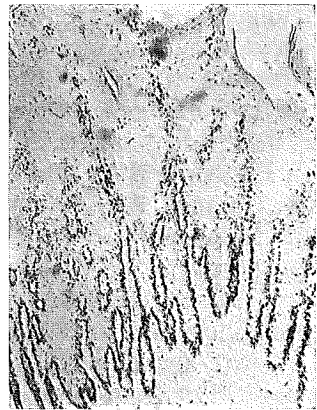
da sie mit der Feststellung des auf die Applikationsstelle beschränkten Effektes unvereinbar ist.

BLOCH und SCHRAFL haben festgestellt, dass die hyperpigmentierende Wirkung des Hormons durch Aktivierung und Vermehrung des pigmentbildenden Fermentes, der Dopaoxydase in den Melanoblasten zustande kommt. Wir müssen nach unseren histologischen Untersuchungen aber betonen, dass es sich bei der Oestronpigmentierung der Zitze und ihres Hofes nicht einfach, resp. nicht nur um eine Hyperpigmentierung handelt. Es bildet sich eine reichlich Pigment enthaltende Akanthose aus. Die makroskopisch feststellbare Pigmentierung von Meerschweinchenzitzen und ihren Höfen durch Oestron beruht nicht nur auf einer Steigerung der Pigmentbildung epithelialer Zellen, sondern auf einer Wucherung dieser Zellen. Ein Vergleich der Abb. 6a und b (unbehandelte und behandelte Zitze) lässt ohne weiteres erkennen, dass die behandelte Zitze auch dann viel stärker pigmentiert erscheinen muss als die unbehandelte, wenn die einzelnen Zellen in beiden Fällen gleichviel Pigment enthielten.

BLOCH und SCHRAFL haben darauf hingewiesen, dass die Pigmentierung der Meerschweinchenzitze für die Physiologie und Pathologie der in der Gravidität des Menschen auftretenden Braunfärbungen von Bedeutung ist. In der Schwangerschaft bildet sich beim Menschen eine Hyperpigmentierung der Mamillargegend, eine dunkle Färbung der Linea alba, und häufig ein Chloasma uterinum. Nachdem nachgewiesen ist, dass die Zitzen- und Zitzenhofpigmentierung des Meerschweinchens durch oestruserzeugende Hormone entsteht, ist es äusserst wahrscheinlich, dass die erwähnten Schwangerschaftspigmentierungen des Menschen ebenfalls durch diese Hormone hervorgerufen werden. Ob es sich hier nur um eine Hyperpigmentierung handelt oder auch um die Ausbildung einer pigmentreichen Akanthose, ist wohl noch nicht untersucht.



a



b

Abb. 6

a = unbehandelt,

b = während 30 Tagen täglich 1 Tropfen einer Oestronlösung, 1 γ /ccm, appliziert.

Ungefärbter Schnitt. Vergrößerung 50 : 1.

Das Chloasma uterinum ist eine Affektion, die viele Patientinnen erheblich stört, besonders wenn es sich nach der Schwangerschaft nicht vollständig zurückbildet. Von vielen Aerzten wurde versucht, durch Vitamin C eine Rückbildung des Chloasmas zu erreichen, nachdem festgestellt worden war, dass die Hyperpigmentierung bei der Addison'schen Krankheit nach relativ kleinen Dosen von Vitamin C zurückgeht. (SZENT - GYÖRGY.) Es lag sehr nahe zu versuchen, ob die Pigmentierung der Meerschweinchenzitze, die durch weibliches Sexualhormon hervorgerufen wird, durch gleichzeitig erfolgende Ascorbinsäureinjektionen hintangehalten werden kann. Dies ist, wie wir in gemeinsamer Arbeit mit SCHAAF zeigen konnten, nicht der Fall. Die dunkle Färbung der Meerschweinchenzitze und ihres Hofes durch Oestronpräparate kommt auch dann zustande, wenn das die Addisonpigmentierung zur Rückbildung bringende Vitamin C verabfolgt wird. Das muss speziell betont werden, nachdem gezeigt worden ist, dass in vitro die Melaninbildung durch Ascorbinsäure gehemmt wird. (Lit. s. SCHAAF.) Das Versagen der Vitamin-C-Prophylaxe bei der Zitzenpigmentierung durch weibliches Sexualhormon lässt die klinische Anwendung dieses Präparates beim Chloasma uterinum wenig aussichtsreich erscheinen. Diese Ansicht wird durch einen Versuch von TECHNER gestützt, dem es, trotz Verabreichung von 2 Orangen pro die (ein Vorgehen, das beim Addison zur Erreichung der Depigmentierung genügt) nicht gelang, das Auftreten eines Chloasma uterinum zu verhindern.

Man wird gut tun, sich bei zukünftigen therapeutischen Versuchen, die das Chloasma uterinum betreffen, an die hormonal bedingte Pigmentierung der Meerschweinchenzitze als Testobjekt zu erinnern. Dieses Testobjekt könnte vielleicht auch für andere Pigmentuntersuchungen gelegentlich wertvoll sein.

Auf eine merkwürdige Diskrepanz zwischen den Tierversuchen und den Erfahrungen am Menschen muss hier noch hingewiesen werden. Beim Meerschweinchen gelingt es leicht, eine intensive Pigmentierung von Zitze und Zitzenhof durch weibliches Sexualhormon zu erzeugen. Wie gross die minimal notwendigen Dosen bei subcutaner Injektion sind, ist, soweit wir sehen, noch nicht bestimmt. Percutan gelingt die Erzeugung einer sehr starken Pigmentierung durch Auftropfen sehr verdünnter Lösungen (weniger als 1 γ pro ccm). Wenn man bedenkt, wie grosse Dosen weibliches Sexualhormon heute beim Menschen injiziert werden, und wie oft relativ hochkonzentrierte Salben im Gesicht angestrichen werden, so muss man sich wundern, dass man in der Literatur kaum Angaben über das Auftreten von Chloasma uterinum nach diesen Behandlungen findet. BLOCH und GULDBERG beschreiben einen Fall von Chloasma uterinum nach Oestroglandolinjektionen, und HAMILTON sah gelbbraune Verfärbung der Haut bei Frauen, die mit grossen Dosen männlicher und weiblicher Wirkstoffe behandelt wurden.²⁾ Es ist aber trotzdem auffallend, dass solche Befunde nicht viel häu-

²⁾ FRANKE beobachtete stärkere Pigmentierung am Warzenhof von Frauen nach Cyren-Verabreichung.

figer sind. Man sollte erwarten, dass sie z. B. bei der so ausserordentlich oft durchgeführten Aknebehandlung mit Oestroglandolsalbe und ähnlichen Präparaten öfter als unangenehme Nebenwirkung hätten festgestellt werden können. Warum dies nicht der Fall war, bedarf wohl noch eines eingehenderen Studiums.

Das Stroma der durch weibliches Sexualhormon vergrösserten Zitze

Im Gegensatz zum Epithel lässt das Stroma keine auffällige Strukturveränderung erkennen, weder Oedem noch Hyperämie. Dagegen hat man deutlich den Eindruck einer Vermehrung der adventitiellen Zellen der Übergangsgefässe, doch lässt sich nicht sicher unterscheiden, ob es sich dabei um eine wirkliche Zellvermehrung oder nur um eine Schwellung der schon vorhandenen Zellen mit Basophilie des Protoplasmas handelt. Über Veränderungen der *B r u s t d r ü s e* s. S. 50.

Quantitative Testmethoden für Sexualhormone

Allgemeine Vorbemerkungen

Der wichtigste Schritt in der Entwicklung einer jeden Wissenschaft ist das Messen von Grössen. (MAXWELL.)

«Um die relative Wirksamkeit von brunstauslösenden Hormonpräparaten festzustellen, gibt es zwei Methoden, nämlich die Vaginalabstrichmethode und die Methode der Feststellung des Uterusgewichtes.» (BURN.)

Über die erste Methode, den Allen-Doisy Test, haben wir weiter oben schon einige Worte gesagt. Sie beruht auf der Proliferation des Vaginal-epithels kastrierter Mäuse oder Ratten. Die zweite von BÜLBRING und BURN angegebene Methode bestimmt die Gewichtszunahme des Uterus, die das brunstauslösende Hormon an kastrierten Ratten bewirkt.

Auf die Methoden zur Bestimmung des Corpus-luteum-Hormons braucht hier nicht eingegangen zu werden, dagegen müssen wir eine Methode zur Bestimmung der Wirkung der männlichen Sexualhormone erwähnen, weil diese Methode uns zur Ausarbeitung des Nipple Tests Veranlassung gab. Es handelt sich um die *K a p a u n e n k a m m - M e t h o d e*. WALKER und PÉZARD beobachteten eine Regeneration des verkümmerten Kammes kastrierter Hähne (Kapaune) unter dem Einfluss von Testesextrakten. Fussend auf diesen Feststellungen arbeiteten GALLAGHER und KOCH den Kapaunen-kammtest aus. Man kann den Kamm auf verschiedene Arten messen, z. B. indem man Schattenbilder auf photographischem Papier herstellt und diese ausmisst.

Dieses Verfahren brachte uns auf den Gedanken, auch von der Meer-schweinchenzitze Schattenbilder herzustellen und auszumessen.

Technik der Messung der Zitze des Meerschweinchens

Wie wir die Schattenbilder der Zitzen herstellen, ergibt sich ohne weiteres aus der Abbildung 7. Es hat sich uns die Verwendung von «Agfa, Brovira, Brillant, Hart, Papier BH1» gut bewährt.

Nach vielen Vorversuchen hat sich gezeigt, dass es zweckmässig ist, nur die Zitzenlänge zu bestimmen. Die Messung erfolgt unter dem Mikroskop, im auffallenden Licht, mit einem Okularmikrometer. Bei unseren selbstverständlich immer ganz konstant gehaltenen Versuchsbedingungen entspricht ein Teilstrich des Okularmikrometers 0,0513 mm auf dem Schattenbild. Bei den Messungen runden wir immer auf 5 oder 0 auf oder ab.

Dieses Verfahren hat sich uns in den letzten fünf Jahren bei vielen tausend Messungen ausgezeichnet bewährt. Die Messungen ergeben, auch wenn sie von verschiedenen Personen durchgeführt werden, immer fast gleiche Werte. Die Methode hat den Vorteil (wir kommen darauf noch zurück), dass sie mit nicht kastrierten Tieren arbeitet, und dass die Tiere nicht getötet werden müssen, sondern für andere Versuche verwendet werden können.

SMELSER, dessen Arbeit uns im Original nicht zugänglich war, MUSSIO-FOURNIER, ALBRIEUX und BUNO und BOTTOMLEY und FOLLEY haben ebenfalls Zitzenmessungen durchgeführt. (SMELSER schon 1933.) BOTTOMLEY und FOLLEY schreiben: Duplicate measurements of both teats of each animal were made to the nearest 0,1 mm with small screw dividers. Wir haben vergleichsweise Messungen der Zitzen mit unserer Schattenbildmethode und mit einer Schublehre vorgenommen. Speziell bei kurzen Zitzen gibt unsere Methode die besseren Resultate, doch sind die mit der Schublehre gewonnenen Werte u. U. gut brauchbar. Unsere Methode hat ferner den Vorteil,

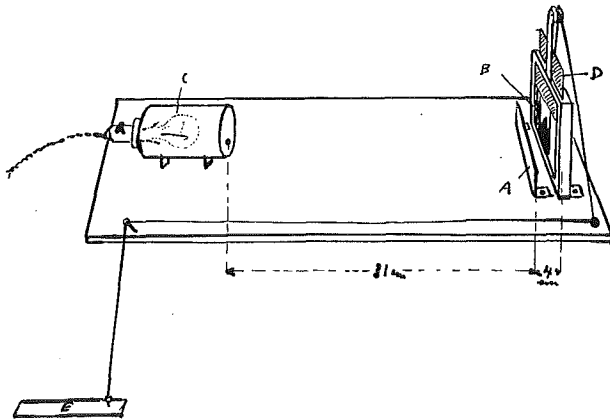


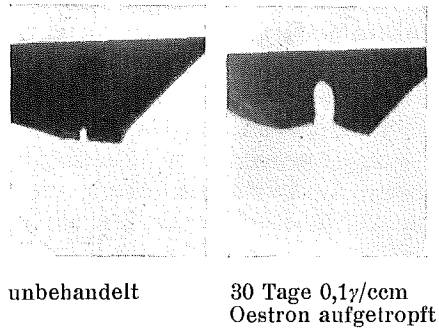
Abb. 7

A = Metallbrettchen, an das das Meerschweinchen so angedrückt wird, dass die Zitze den oberen Rand des Brettchens überragt. B = Fixiervorrichtung für Photopapier. C = Glühbirne. D = Schieber. E = Fussbedienung des Schiebers. Für die Aufnahme wird der Schieber gehoben. Expositionszeit ca. 2 Sekunden. Die Aufnahme kann von einer Person durchgeführt werden.

dass die Zitzenbildchen Dokumente darstellen, die man aufbewahren kann; die Messung mit der Schublehre ist einfacher und rascher durchzuführen.

Trotzdem es gelungen ist, die Zitzen zu messen und trotz der erwähnten Vorteile der Methode müssen wir noch prinzipiell die Frage besprechen:

Abb. 8
Schattenbilder der Zitzen eines männlichen Meerschweinchens.



Ist die Einführung eines neuen Tests für weibliches Sexualhormon berechtigt?

BURN schreibt in seinem Buch über biologische Auswertungsmethoden: «Trotzdem man immer wieder die Erfahrung gemacht hat, dass die durch eine physiologische Wirkung ausgedrückten Einheiten sehr veränderlich sind, hat das die Einführung neuer, ähnlicher Einheiten in keiner Weise verhindert.» BURN zählt dann verschiedene Einheiten auf und fährt fort: «Alle diese Einheiten sind genau so veränderlich wie des Königs Armlänge (die frühere Einheit des Längenmasses). Erstens deshalb, weil die Tiere, sogar wenn sie innerhalb desselben Laboratoriums unter den gleichen Bedingungen leben, variieren. Zweitens hängen solche Einheiten von den technischen Einzelheiten der Versuchsmethodik ab, und da die Pharmakologen nur ungern die Methoden anderer in allen Einzelheiten befolgen, entsteht eine weitere Fehlerquelle. Den Pharisäern wurde vorgeworfen, dass sie Mücken sehten und Kamele verschluckten; heutzutage wollen die Pharmakologen von des Königs Arm nichts wissen, aber sie schlucken Frösche, Ratten und Mäuse, von Meerschweinchen und Tauben ganz zu schweigen.»

Die Einführung einer neuen biologischen Messmethode für weibliche Sexualhormone scheint also nicht besonders verlockend. Hinzu kommt noch, dass wir für die brunstauslösenden Hormone bereits biologische Messmethoden besitzen, die sich relativ gut bewährt haben, vor allem den Allen-Doisy Test. Schliesslich muss noch betont werden, dass wir es hier mit chemisch rein darstellbaren Substanzen zu tun haben, für deren Messung wir statt Mäusen, Ratten und Meerschweinchen die Waage verwenden können. Trotzdem kommt biologischen Auswertungsmethoden für brunstauslösende Hormone eine grosse Bedeutung zu.

DE JONGH und LAQUEUR schreiben: «Dass eine Eichung der oestrogenen Stoffe in der Zeit der unreinen Präparate notwendig war, bedarf kaum einer besonderen Begründung. Jedoch auch jetzt, wo die Handelspräparate kristallin sind, ist eine Eichung unumgänglich notwendig, da verschiedene Isomere und Derivate ein Kristallgemisch formen können, in dem die einzelnen Bestandteile zumindest quantitativ nicht die gleiche biologische Wirkung besitzen.» Hinzu kommt noch, dass Sexualhormone vor allem in verdünnten Lösungen nicht sicher haltbar sind, und zur Kontrolle solcher Präparate ist, da die Waage versagt, der biologische Test notwendig. Auch bei Untersuchungen von Material, das einen völlig unbekanntem Gehalt an verschiedenen oestrogenen Substanzen besitzt, wird die chemische durch die biologische Auswertungsmethode ersetzt, oder mindestens ergänzt werden müssen. Als Beispiel erwähnen wir die Untersuchung von Urinen.

Vor allem aber benötigen wir die biologische Auswertungsmethode zur Lösung physiologischer Probleme. Wir erwähnen nur ein Beispiel, das zeigt, was wir meinen: Die Beziehung von Dosis und Wirkung. Gerade für solche Untersuchungen ist es vorteilhaft, verschiedene Testorgane zu verwenden, denn es ist wichtig zu wissen, ob an einem Testorgan festgestellte Befunde allgemein gültig sind oder nur für das betreffende Organ zutreffen. Es ist ein Vorteil, dass wir bei den männlichen Sexualhormonen neben dem Samenblasentest auch noch den Hahnenkammtest besitzen. Beim weiblichen brunstauslösenden Hormon besaßen wir bisher nur quantitative Auswertungsmethoden an Genitalorganen; es wäre nützlich, auch noch einen extragenitalen Test zu besitzen (vgl. auch S. 28). Einen solchen Test stellt der Nipple Test dar. Wir werden im folgenden zeigen, dass die von BURN geäußerten Bedenken gegen biologische Auswertungsmethoden hier zwar auch zutreffen, dass sich aber relativ leicht Wege finden lassen, um eine im Einzelfall genügende Genauigkeit zu erzielen (vergl. die Abschnitte «Individuelle Schwankungen» und «Vorteile des lokalen Nipple Test»).

Der hämatogene und der lokale Nipple Test

Beim Kapaunenkammtest werden die auf männliche Sexualhormonwirkung zu prüfenden Substanzen den Tieren subcutan eingespritzt, sie können aber nach FUSSGÄNGER auch auf den Kapaunenkamm aufgepinselt werden. Im ersten Fall gelangt das Hormon auf dem Blutwege an das Erfolgsorgan, im andern Fall wird es am Erfolgsorgan selber resorbiert. Ganz analog kann man beim Nipple Test verfahren. Gelangt das Hormon auf dem Blutweg zur Zitze, so sprechen wir vom hämatogenen Nipple Test. Wird es subcutan injiziert, so haben wir einen hämatogenen Nipple Test nach subcutaner Injektion; wird es percutan appliziert, aber nicht an der Zitze, die nachher gemessen wird, sondern an einer andern Hautstelle (wir applizieren es meist auf die «andere» Zitze), so sprechen wir im Laboratorium von einem «percutanen hämatogenen Nipple Test». Wird das Sexualhormon auf die Zitze, die

nachher gemessen wird, appliziert, so sprechen wir vom «lokalen Nipple Test». Mit dem lokalen Nipple Test haben wir uns weitaus am meisten beschäftigt und besprechen ihn daher in erster Linie.

Die percutane Resorption weiblicher Sexualhormone

Voraussetzung für den lokalen Nipple Test ist es, dass die oestrogenen Hormone percutan resorbiert werden. 1929 hatte ZONDEK festgestellt, «dass die oestrogene Wirkung des Follikulins nicht nur bei subcutaner und oraler, sondern auch nach percutaner und rectaler Darreichung auftritt». In seinem Buch schreibt ZONDEK: «In neuen Versuchen habe ich festgestellt, dass die Brustdrüsen auf die percutane Follikulinzufuhr besonders gut reagieren. Die Brustdrüsengegend von Meerschweinchenböcken wurde in einem dreimarkstückgrossen Bezirk rasiert und die Haut täglich um die Brustwarze herum mit Follikulinöl oder Follikulinsalbe eingerieben. Es wurde stets nur die linke Mamma behandelt. Ich wandte bei den Versuchen verschiedenartige Hormondosen an, und zwar täglich 10, 50 und 100 ME.» «Schon kurze Zeit (8 Tage) nach Beginn der Behandlung vergrösserten sich die Brustwarzen, zuerst die behandelte, bald darnach auch die andere Warze. Nach vierwöchiger Behandlung war ein Unterschied zwischen den beiden Brustwarzen nicht mehr zu erkennen, woraus hervorgeht, dass das Follikulin von der Haut resorbiert war und auf dem Wege über die Zirkulation den spezifischen Effekt auch an der nicht behandelten Brustdrüse ausgelöst hatte.» Der Nachweis der percutanen Resorbierbarkeit oestrogenen Hormone (Literatur siehe K. MIESCHER) hatte zur Folge, dass weibliches Sexualhormon enthaltende Salben in den Handel kamen.

Der «lokale Effekt»

Es stellte sich nach den Versuchen von ZONDEK die Frage, ob das percutan resorbierte Hormon nur auf dem Blutwege auf die Zitzen einwirkt, oder ob an der behandelten Zitze auch ein Effekt des direkt hingelangenden Hormons nachweisbar ist. Für eine solche Annahme sprach die Beobachtung ZONDEKS, dass die behandelte Zitze in der ersten Zeit nach Beginn des Versuches grösser war als die andere. Analoge Beobachtungen machten MUSSIO-FOURNIER, ALBRIEUX und BUNO.

Für die Existenz eines solchen Lokaleffektes sprachen auch Versuche von LOEWE und VOSS, die durch Einbringung einer öligen Hormonlösung in die Höhle einer abgebundenen Uterusschlinge des Meerschweinchens Wachstumswirkungen an Schleimhaut und Muskulatur erzielten, und zwar bei einer Hormonkonzentration, die weit unterhalb der subcutan wirksamen Menge lag. (Weitere Literatur siehe VOSS.)

Bei 20 Meerschweinchen haben wir nur die eine Zitze mit Hormon behandelt. Bei der Hälfte der Tiere wurden Lösungen, enthaltend 10 γ Oestron/ccm,

10 γ Oestron / ccm

0,05 γ Oestron / ccm

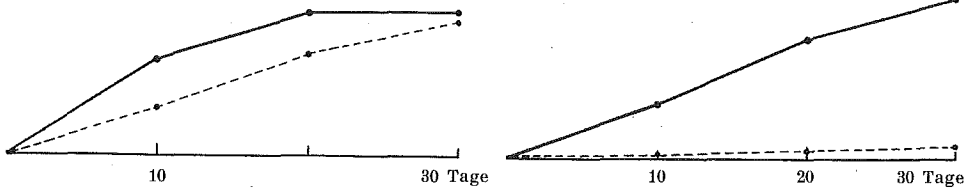


Abb. 9

— behandelte Zitzen --- unbehandelte Zitzen
Die Ordinaten entsprechen den Längen der Zitzen.

täglich auf die Zitze aufgetropft, bei den andern Tieren Lösungen enthaltend 0,05 γ /ccm. Abb. 9 zeigt das Resultat des Versuches. Die behandelten Zitzen zeigen, gleichgültig ob 10 γ /ccm oder 0,05 γ /ccm verwendet wurden, rasche und starke Vergrößerung. Dagegen ist der hämatogene Effekt, d. h. der Effekt an den Kontrollzitzen bei der Verwendung der grösseren Dosen sehr erheblich, bei der Verwendung der kleineren Dosen minimal.

Aus diesen Versuchen ersieht man, dass es uns durch die Verwendung sehr verdünnter Lösungen gelungen ist, einen starken Lokaleffekt bei minimalem hämatogenem Effekt zu erzielen.

Der lokale Effekt konnte übrigens auch an der Brust der Frau nachgewiesen werden. Mc BRYDE gibt Photographien von Frauen, bei denen nur eine Brust mit Oestradiol enthaltenden Salben behandelt wurde. Sie zeigen sehr deutlich eine viel stärkere Grössenzunahme der behandelten Brust als der unbehandelten (s. S. 55 u. f.).

Durch den Nachweis des lokalen zitzenvergrößernden Effektes ergibt sich die auf S. 2 bereits erwähnte und auch für die Pigmentierung und Akanthose geltende Feststellung, dass die Zitzenvergrößerung nicht auf einem indirekten Weg, z. B. durch Beeinflussung der Hypophyse zustande kommt. Durch diese Versuche ist der lokale Effekt weiblicher Sexualhormone auf die Meerschweinchenzitze bewiesen, und damit die Grundlage für den «lokalen Nipple Test» geschaffen.

Technik des lokalen Nipple Test

Aus dem Vorstehenden ergibt sich ohne weiteres, dass es zweckmässig ist, im lokalen Nipple Test, wenn nicht eine besondere Aufgabe vorliegt, sehr niedrig konzentrierte Lösungen zu verwenden. Wir haben einige mg der zu untersuchenden Substanz auf \pm 0,05 mg genau abgewogen. Die abgewogene Menge wurde in 10 ccm Aceton gelöst. Für die verschiedenen Konzentrationen wurde die Stammlösung mit Aceton und Wasser derart verdünnt, dass in der gewünschten Lösung Wasser und Aceton zu gleichen Teilen vorhanden waren. Die Lösungen wurden täglich einmal auf die in keiner Weise vorbehandelten Zitzen aufgetropft. Die Tiere blieben etwa eine Stunde aufgespannt. Es musste darauf geachtet werden, dass sich die

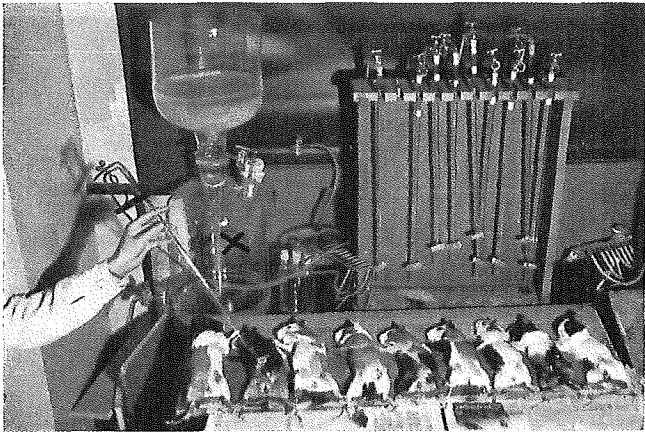


Abb. 10
 X Gasometer mit N_2

verwendeten Lösungen während des Versuches durch Oxydation nicht verändern. Abb. 10 zeigt, wie wir vorgehen. Es erübrigen sich weitere Ausführungen. Die Lösungen wurden unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt.

Die individuellen und zeitlichen Schwankungen

Bei allen biologischen Messmethoden spielen die individuellen Differenzen der einzelnen Tiere eine grosse Rolle. Dass dies auch beim Nipple Test der Fall ist, sieht man ohne weiteres, wenn mit ein und derselben Lösung eine grössere Anzahl Zitzen behandelt werden. Wir haben z. B. 20 Zitzen mit einer Lösung, enthaltend $0,005 \gamma$ Oestron/ccm behandelt. Das Resultat nach 30 Tagen gibt Abb. 11, ausgezogene Linie. Die Abszisse gibt den Zuwachs in unsern Messeinheiten, die Ordinate zeigt, wie oft ein bestimmter Zuwachs beobachtet wurde. Die Versuchstiere waren männliche Meerschweinchen von 300—400 g Gewicht, aus derselben Zucht, ohne dass eine besondere Auswahl erfolgt wäre. Die Kurve und all die vielen analogen Kurven, die wir im Laufe der Jahre gewonnen haben, zeigen die starken individuellen Schwankungen. Alle diese Kurven zeigen aber noch etwas weiteres, nämlich ein Maximum in der Mitte, und einen mehr oder weniger symmetrischen Abfall nach beiden Seiten. Dies berechtigt zur Anwendung statistischer Methoden. Bevor wir hierauf näher eingehen, möchten wir nochmals auf Abb. 11 hinweisen. Hier sind nebeneinander gestellt die Zuwachswerte von Oestronlösungen, enthaltend $0,005 \gamma$ /ccm, $0,05 \gamma$ /ccm und $0,5 \gamma$ /ccm. Man sieht, dass sich nur die $0,05 \gamma$ und die $0,5 \gamma$ Kurven überschneiden; die $0,005 \gamma$ Kurve hat mit den beiden andern keinen einzigen Punkt gemeinsam. Daraus ergibt sich, dass für die Feststellung ganz grosser Unterschiede ein Versuch an einer einzigen Zitze sehr wohl ein Resultat ergeben kann, das zum mindesten zu einer groben Orientierung von Wert sein kann.

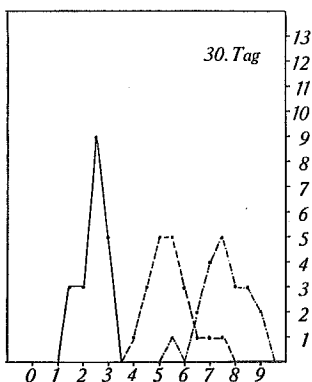


Abb. 11
 Abszisse: Zuwachs
 Ordinate: Häufigkeit
 — 0,005γ } Oestron in cc
 - - - 0,05 γ }
 - · - 0,5 γ }

Je mehr Zitzen untersucht werden, um so genauer wird das Resultat. Da, wie oben angeführt, die Form der Kurven zur Anwendung statistischer Methoden berechtigt, können wir in allen Versuchen, in denen eine grössere Anzahl Zitzen verwendet wurde, den mittleren Fehler berechnen. Wir haben die von BURN angegebenen Verfahren verwendet.³⁾

Die mittlere Abweichung (σ) der Einzelbeobachtung errechnet sich nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$, wobei $\sum d^2$ die Summe der Quadrate der Abweichungen jeder Einzelbeobachtung vom Mittelwert (arithmetisches Mittel) darstellt und n die Anzahl der Einzelbeobachtungen. Der «mittlere Fehler», d. h. die mittlere Abweichung des Mittelwertes ist $\sigma \cdot \frac{1}{\sqrt{n}}$. Nimmt man die einfache mittlere Abweichung, so ist «der Anteil der Versuche, bei denen ein grösserer Unterschied zwischen gefundenem und wahren Mittelwert beobachtet wird, ca. 1 von 3». Multipliziert man aber σ mit 2,576 (2,6), so wird ein grösserer Unterschied nur in einem von 100 Fällen beobachtet. Dasselbe gilt sinngemäss für den mittleren Fehler ($\sigma \cdot \frac{1}{\sqrt{n}}$). In allen Fällen, in denen wir den «mittleren Fehler» angeben, haben wir die Multiplikation mit 2,6 vorgenommen, d. h. wir geben an $\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$.

Abgesehen von den individuellen Schwankungen, die während einer Versuchsserie beobachtet werden, interessieren selbstverständlich die Differenzen, die erzielt werden, wenn der gleiche Versuch zu ganz verschiedenen Zeiten durchgeführt wurde. Bei den in der Tabelle I angegebenen Zahlen muss folgendes berücksichtigt werden. 1. Die Tiere stammten vom gleichen Lieferanten; weitere Angaben über die Provenienz der Tiere können wir nicht machen. 2. Die Abwägung des Oestrone ist nicht mit der notwendigen Exaktheit durchgeführt worden. 3. Bei den früheren Versuchen war die Lösung in Wasser vorgenommen worden, dem auf je 0,005 γ Oestron 4,0 γ Aceton und 0,5 γ Igepon zugesetzt wurde. In den späteren Versuchen verwendeten wir als Lösungsmittel Aceton und Wasser zu gleichen Teilen.

³⁾ Wir sind den Herren Dr. M. FIERZ und Prof. B. ECKMANN für die Durchführung der Berechnungen sehr dankbar.

Tabelle 1

Versuchszeit	Dosis (Oestron)	nach 30 Tagen	
		M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
I—II 1939	0,01 γ +	3,17	0,29
IX—XII 1939	0,01 γ *	3,75	0,30
IX—XII 1938	0,05 γ +	5,54	0,49
IX—XII 1939	0,05 γ *	4,97	0,45
IX—XII 1938	0,5 γ +	7,62	0,52
I—II 1940	0,5 γ *	6,83	0,38
III—IV 1939	2,0 γ +	7,40	0,39
II—III 1940	2,0 γ *	7,05	0,48

* gelöst in Aceton und Wasser (1:1)

M: arithmetischer Mittelwert der Zuwachswerte *)

+ gelöst in Wasser, Igepon und Aceton, (siehe Text).

$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$ (siehe Text).

*) Anmerkung: Unter Zuwachswert verstehen wir die Differenz zwischen der während des Versuches gemessenen Zitzenlänge und der vor Versuchsbeginn bestimmten Zitzenlänge.

Trotzdem sind die zu verschiedenen Zeiten, allerdings im gleichen Laboratorium gefundenen Werte recht gut übereinstimmend. Sie berechtigen uns zu der Feststellung, dass der Nipple Test die Anforderungen, die man an eine biologische Messmethode stellen darf, erfüllt. Wir müssen noch hervorheben, dass unsere Untersuchungen in den Wintermonaten durchgeführt wurden. Es sind noch Untersuchungen während des Sommers notwendig.

Dosis und Wirkung im lokalen Nipple Test

Tabelle 2 zeigt die Werte für die verschiedenen Oestronlösungen, die wir im lokalen Nipple Test untersucht haben. Jede Lösung wurde an mindestens 10, die meisten an 18—20 Zitzen geprüft. Die Messungen erfolgten nach 10, 20 und 30 Tagen. Für jeden gefundenen Wert wurde der mit 2,6 multiplizierte Fehler berechnet. Für die 30-Tage-Werte wurde eine Kurve (Abb. 12) gezeichnet, und zwar findet sich auf der Abszisse der Logarithmus der Dosis und auf der Ordinate der Zitzenzuwachs vom 30. Tag.

Das erste, was in der Tabelle auffällt, ist, dass eine Lösung, die 0,005 γ Oestron im Kubikzentimeter enthält, noch eine deutliche Wirkung auf die Meerschweinchenzitze besitzt. Wir dürfen hier daran erinnern, dass 0,1 γ Oestron einer internationalen Einheit entspricht. Der lokale Nipple Test ist eine sehr empfindliche Reaktion. Er ist imstande, Oestron noch in einer Verdünnung von 1:200 000 000 nachzuweisen. Dabei sind wir mit 0,005 γ /ccm noch nicht an der untersten Grenze.

Tabelle 2

Oestron γ/ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005+	0,82	0,13	1,47	0,23	2,40	0,29
0,01 +	1,17	0,20	2,30	0,20	3,17	0,30
0,01 *	1,43	0,30	2,68	0,29	3,75	0,30
0,02 +	1,70	0,24	2,92	0,28	3,80	0,37
0,05 +	2,22	0,34	4,12	0,42	5,54	0,49
0,05 *	2,00	0,32	3,64	0,32	4,97	0,45
0,2 +	2,45	0,29	4,65	0,32	6,38	0,34
0,5 +	2,92	0,31	5,82	0,36	7,62	0,52
0,5 *	3,08	0,35	5,78	0,33	6,83	0,38
1,0 +			5,98	0,38	7,40	0,37
2,0 +	3,45	0,38	5,95	0,40	7,40	0,39
2,0 *	3,18	0,33	5,25	0,42	7,05	0,48
5,0 *	2,70	0,58	3,95	0,62	5,40	0,82
10,0 *	3,17	0,57	4,89	1,13	4,89	0,90
50,0 *	3,25	0,52	4,35	0,55	4,65	0,64
100,0 *	3,05	0,49	3,85	0,61	4,55	0,80
100,0 *	2,50	0,58	3,58	0,77	4,20	0,96
200,0 *	2,44	0,76	3,40	0,49	4,00	0,69

* gelöst in Aceton + Wasser (1 : 1).

M : arithmetischer Mittelwert der Zuwachswerte

+ gelöst in Wasser + Igepon + Aceton, s. o.

 $\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$: siehe Text.

Betrachten wir jetzt die Kurve (Abb. 12), so sehen wir, dass sie eine Zeitlang gradlinig ansteigt. In einem gewissen Bereich entspricht also einer Dosiszunahme auch eine Zunahme der Wirkung. Es darf aber nicht vergessen werden, dass wir auf der Abszisse nicht die Dosis, sondern den Logarithmus der Dosis aufgetragen haben. Der gradlinige Verlauf der Kurve der Zitzenzuwachswerte besagt dann, dass für den lokalen Nipple Test das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt. (Vgl. GRIMSEHL, Lehrbuch der Physik oder Meyers Lexikon). Dieses 1834 von WEBER formulierte und später von FECHNER zur Grundformel der Psychophysik erhobene Gesetz besagt: Die Empfindung steigert sich in arithmetischer Folge, wenn der Reiz in geometrischer ansteigt, oder, was dasselbe ist: die Empfindung E wächst linear mit dem Logarithmus der Reizintensität I , gemäss der Formel

$$E = c \cdot \log \frac{I}{I_0}$$

(I_0 bedeute dabei die sog. Reizschwelle, d. h. diejenige — evtl. aus dem Bereich der Untersuchungen hinaus extrapolierte — Reizintensität, bei welcher eben noch eine Empfindung wahrgenommen werden kann; genauer: für $I = I_0$ ist $E = 0$).

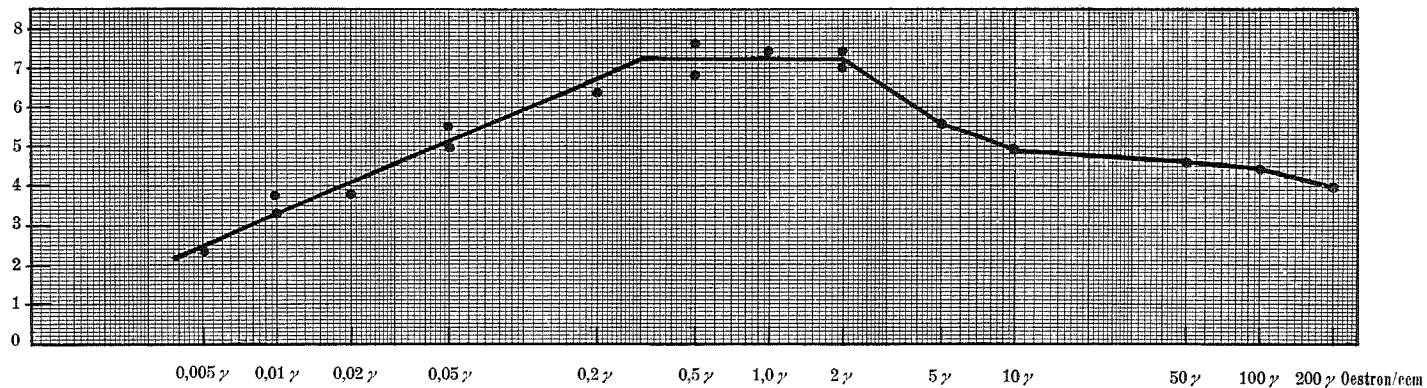


Abb. 12

Abszisse: Logar. der Dosen

Ordinate: Durchschnittl. Zuwachs der Zitzen am 30. Tag

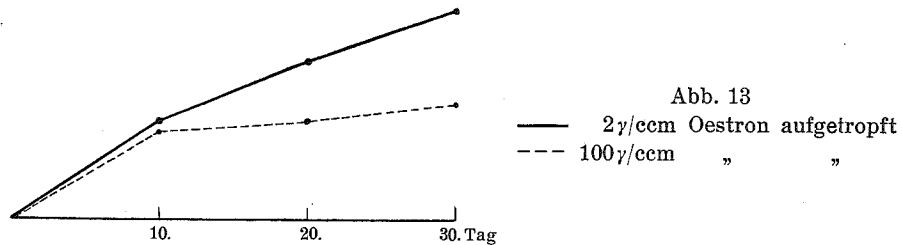


Abb. 13

— 2 gamma/ccm Oestron aufgetropft

- - - 100 gamma/ccm " "

Schreibt man die Formel in der Form

$$E = c \cdot \log I - c \cdot \log I_0 = c \cdot \log I + E_0,$$

so ist E_0 die der Reizintensität 1 entsprechende Empfindung, also eine von der Wahl der Intensitätseinheit abhängige additive Konstante, während der Faktor c von der Wahl dieser Einheit nicht abhängt.

Für den lokalen Nipple Test lautet das Gesetz: der mittlere Zitzenzuwachs M wächst linear mit dem Logarithmus der Dosis D ,

$$M = c \cdot \log D + M_0,$$

wobei aus unseren Oestronversuchen für c der Wert 2,62 zu entnehmen ist und für M , wenn man die Dosis in γ angibt, der Wert 8,62. Das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt, wie sich aus den Ausführungen von BURN ergibt, für eine ganze Anzahl von an den verschiedensten Testorganen geprüften Hormonen. Es gilt für Oestron nicht nur im lokalen Nipple Test, sondern auch wenn dieses am Uterus kastrierter Ratten nach der Methode von BÜLBRING und BURN geprüft wird. Das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt nur in einem gewissen Dosisbereich. Wird im lokalen Nipple Test eine Dosis Oestron von mehr als 0,2 γ /ccm geprüft, so findet eine Steigerung der Wirkung nicht mehr statt. Die Kurve hat ein Maximum erreicht und verläuft nun eine Zeitlang parallel der Abszisse. Wird die Dosis weiter gesteigert, so nimmt die Wirkung erheblich ab. 10, 50, 100 und 200 γ Oestron/ccm bewirken eine Zitzenvergrößerung, die nur etwa dem Effekt von 0,02—0,05 γ /ccm entspricht. Das Phänomen, dass grössere Dosen einen relativ geringeren Effekt hervorrufen, bedarf noch weiterer Untersuchungen; wir kommen übrigens noch mehrfach darauf zurück. (Vgl. S. 31, 33, 39, 42 u. 57.) An dieser Stelle sei noch auf Abb. 13 hingewiesen, aus der sich folgendes ergibt: Nach einer Behandlungszeit von 10 Tagen wirken 100 und 2 γ Oestron/ccm noch fast gleich stark und erst später bleibt die mit der grösseren Dosis behandelte Zitze hinter der mit der kleineren Dosis behandelten zurück. Die Feststellung, dass grössere Dosen einen geringeren Effekt haben können als kleinere, gilt nicht nur für percutan applizierte Hormone am Ort der Einwirkung (s. u.). Sie gilt augenscheinlich auch nicht nur für die Zitze des Meerschweinchens. GARDNER hat ganz analoge Beobachtungen bei Injektion von weiblichem Sexualhormon an den Milchdrüsen von Mäusen und Affen gemacht.

Aus den quantitativen Feststellungen mit Oestron im lokalen Nipple Test ergibt sich für die praktische Medizin vor allem folgende Frage: Werden für therapeutische Versuche nicht häufig allzu grosse Dosen verwendet?⁴⁾ Wir sind uns klar darüber, dass die verschiedenen Erfolgsorgane der verschiedenen Tierarten in ihrer Empfindlichkeit verschieden sind (vgl. z. B. DE JONGH, KOK und VAN DER WOERD). Der lokale Nipple Test zeigt, dass unter Umständen schon sehr kleine Dosen sehr erhebliche Effekte auslösen können. Sollte man nicht daran denken, dass in einem gewissen Dosisbereich das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt, d. h. grob ausgedrückt, dass einer Zunahme der Hormondosis nur eine relativ kleine Wirkungszunahme ent-

⁴⁾ HIRSCH-HOFFMANN spricht von einem Wettlauf der Industrie um die Einheiten.

spricht? Hat man genügend berücksichtigt, dass von einer gewissen Dosis an eine weitere Wirkungszunahme nicht mehr erfolgt? Sollte man bei klinischen Versuchen nicht an unsere Feststellung denken, dass u. U. eine grosse Dosis einen geringeren Effekt haben kann als eine viel kleinere? Sollte man nicht versuchen, bei Hormonpräparaten mit der gerade notwendigen Dosis auszukommen?

Bei der Anstellung solcher Versuche ist es notwendig, darauf zu achten, dass die niedrig konzentrierten Hormonpräparate in ihrem Hormongehalt möglichst konstant bleiben, denn es scheint wahrscheinlich, dass das weibliche Sexualhormon in niedrig konzentrierten Präparaten ohne besondere Vorsichtsmassnahmen relativ rasch zerstört wird.

Die Wirkung verschiedener Sexualhormone im lokalen Nipple Test

Orientierende Versuche

Wir haben uns früher damit begnügt, zur Untersuchung verschiedener Sexualhormone für jede zu untersuchende Lösung nur 1—3 Zitzen zu verwenden. Wir haben mit relativ grossen Dosen gearbeitet und es wurden keine Vorsichtsmassnahmen getroffen, um eine Abnahme der Wirkung der Sexualhormonlösung während der Versuchsdauer zu verhindern. Zu einer groben Orientierung genügen solche Versuche. Wir geben im folgenden eine Tabelle, die nur eine Auswahl unserer so angestellten Versuche gibt.

Tabelle 3

Oestron	6,0	Androstandion	2,5
Equilin	6,5	Adrenosteron	3,5
Equilenin	7,0	Corticosteron	4,5
Testosteronpropionat	3,5	Cholesterin	1,0
Androsteron	2,5	Ergosterin	1,0
Androstendion	2,5	Methylcholanthren	0

Zuwachs der behandelten Zitzen am 20. Versuchstag, nach täglicher Applikation eines Tropfens einer 62 γ /ccm enthaltenden «Lösung».⁵⁾ Wo mehr als eine Zitze behandelt wurde, wird das arithmetische Mittel angegeben. Die Zahlen sind auf 5 oder 0 auf- oder abgerundet.

Ein Zuwachs über 1,5 war auch schon zu der Zeit, als diese Versuche durchgeführt wurden, sehr erheblich über der Fehlerbreite der Methode.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die Feststellung, dass nicht nur Oestron, sondern auch Equilin und Equilenin eine Zitzenvergrösserung hervorrufen. Während Ergosterin, Cholesterin und

⁵⁾ Es handelt sich um «wässrige», mit Hilfe eines Lösungsvermittlers hergestellte «Lösungen».

Methylcholanthren eine solche nicht oder kaum bewirken, wird durch die von REICHSTEIN dargestellten Sterone aus der Nebennierenrinde ohne jeden Zweifel eine Zitzenvergrößerung bewirkt. Die Feststellung, dass Nebennierenrindenhormone eine weibliche Sexualhormonwirkung besitzen, ist für das Krankheitsbild der Pubertas praecox mit Nebennierenrindentumoren vielleicht von Interesse. Sie findet eine Bestätigung durch Versuche von HOFFMANN und TREITE, die mitgeteilt haben, dass Desoxycorticosteron an unvorbehandelten infantilen, kastrierten Mäusen und Kaninchen eine deutliche Vergrößerung des Uterus und ein Wachstum der Uterusschleimhaut bewirkt.

Diese Substanzen besitzen aber, wie REICHSTEIN mitgeteilt hat, auch männliche Wirkungen. Es sind «bisexual hormones». (Der Ausdruck stammt von KORENCHEVSKY.)

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass auch typische männliche Sexualhormone» (Testosteronpropionat und Androsteron) weibliche Wirkungen (Zitzenvergrößerung) besitzen. Dies ist auch wieder ein Beweis für die «bisexual properties» der meisten Sexualhormone und stimmt mit Beobachtungen von BUTENANDT und KUDSZUS und KORENCHEVSKY sehr gut überein. Vom Testosteronpropionat schreibt KORENCHEVSKY: «The effect on the female sexual organs consists in the production of changes, similar to those seen during pregnancy, i. e. typical of the most 'female sexual function'.» Andere Autoren (s. DANNENBAUM) haben ganz analoges feststellen können. Wir erwähnen nur noch COURIER und GROS, die unter Testosteronpropionat Uterusveränderungen auftreten sahen, die denen durch «weibliche Sexualhormone» bewirkten entsprachen. So fanden sie Uterushypertrophie bei neugeborenen Katzen, deren Mütter während der Schwangerschaft Testosteronpropionatinjektionen erhalten hatten. Es erscheint uns nicht erlaubt, die Feststellung «weiblicher Wirkungen» «männlicher Sexualhormone» einfach damit abtun zu wollen, dass man den Test als unspezifisch bezeichnet. So erscheint es uns nicht richtig, wenn SCHMIDT-THOMÉ basierend auf Untersuchungen von KLEINER, WEISSMANN und MISCHKIND den Test, der die Wachstumswirkung des Oestrone auf die Legeröhre des Bitterlingweibchens untersucht, nicht nur wegen seiner geringen Empfindlichkeit ablehnt, sondern weil «er nicht spezifisch ist, denn auch männliche Wirkstoffe rufen die Verlängerung hervor». SCHMIDT-THOMÉ hält es für naheliegend, anzunehmen, dass die bisexuellen Stoffe im Organismus zu Stoffen vom Oestrontyp umgewandelt werden und auf diese Weise ihre oestrogene Wirkung entfalten. Unsere Versuche lassen sich mit einer solchen Annahme schwer vereinbaren. Wir haben nämlich festgestellt, dass 10 γ /ccm Testosteronpropionat, resp. Androsteron, auf die Zitze aufgetropft, eine deutliche Wirkung zeigen, während 250 γ , täglich in «wässriger Lösung» subcutan injiziert, ohne Wirkung bleiben. Werden sehr viel grössere Dosen injiziert (2000 γ in Oel gelöst), so erzielt man nach BOTTOMLEY und FOLLEY eine Zitzenvergrößerung. (Es ist dies eine sehr auffällige Feststellung, da wir mit solchen Injektionen die durch Oestron bewirkte Zitzenvergrößerung hintanhaltend konnten. (Vergl. S. 47.)

1937 haben DODDS und LAWSON mitgeteilt, dass es ihnen mit Anol (p-Propenylphenol) gelungen sei, «weibliche Sexualhormonwirkung» zu erzielen. Dies war besonders interessant, denn Anol ist eine relativ einfach gebaute Substanz, die chemisch anscheinend gar keine Beziehungen zu den Sexualhormonen hat. Es hat uns daher interessiert, ob sich diese mit dem Allen-Doisy Test gemachte Feststellung mit dem Nipple Test bestätigen lässt.⁹⁾ Wir betropften zwei Zitzen täglich mit Anol (62 γ /ccm) und erhielten am 30. Versuchstag einen Zitzenzuwachswert von 4,5, resp. 3,5, also ein einwandfrei positives Resultat. Nachdem von DODDS und LAWSON mitgeteilt worden war, dass der positive Ausfall ihrer Versuche nicht auf das Anol selber zurückzuführen sei, sondern wahrscheinlich auf ein Polymerisationsprodukt, haben wir diese Versuche nochmals aufgenommen, und zwar haben wir den Nipple Test mit einer ganz frischen Lösung aus unmittelbar vorher hergestelltem Anol durchgeführt. Die Versuche verliefen vollständig negativ. (Keine Zitzenvergrößerung.) Vier Monate später haben wir aus dem gleichen Anol wieder eine Lösung hergestellt; mit dieser Lösung erzielten wir einen positiven Nipple Test, (30-Tagewert: 5,0). Das Anol schien sich also während der Aufbewahrungszeit verändert zu haben. Damit stimmten auch die Schmelzpunkte überein. Das frisch hergestellte Präparat hatte einen Smp. von 93°, nach vier Monaten stellten wir einen Smp. von 86—87° fest.

Entsprechend den Versuchen mit dem Allen-Doisy Test erwies sich auch im Nipple Test reines Anol als unwirksam. Durch Aufbewahren verändert sich das Anol (Polymerisation?) und wird wirksam.

Quantitative Versuche

Bei den im folgenden zu besprechenden Versuchen haben wir uns nicht mit einer groben Orientierung begnügt, sondern haben mit verschiedenen Konzentrationen gearbeitet und jede Lösung an 18—20 Zitzen untersucht. Wir haben die Lösungen unter Stickstoff aufbewahrt (siehe Abb. 10).

Versuche mit Oestradiol

Nach den Angaben der Literatur ist α Oestradiol erheblich wirksamer als Oestron. Es wird eine 2,5—12mal grössere Wirkung angenommen (s. PARKES u. a.). Auf die Scheidenöffnung infantiler Ratten wirkt es fast 20mal so stark wie Oestron (cit. nach SCHMIDT-THOMÉ). Bei solchen Versuchen spielt, wie man weiss, aber nicht immer genügend berücksichtigt, die Art der Prüfung eine grosse Rolle, und deswegen erschien es uns lohnend, die Wirkung von Oestradiol im Vergleich zu Oestron im lokalen Nipple Test zu untersuchen.

⁹⁾ BOTTOMLEY und FOLLEY hatten schon kurz vor uns eine Wirkung von Anol auf die Zitze festgestellt und damals schon die Möglichkeit erwogen, dass die Wirkung auf einer Verunreinigung beruhen könnte. In ihren Untersuchungen wurde das Anol injiziert.

Tabelle 4

Oestradiol γ pro ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,01	1,11	0,36	2,54	0,32	3,54	0,42
0,05	1,83	0,37	4,25	0,33	5,28	0,39
0,5	3,28	0,36	5,68	0,51	7,30	0,63

Wir haben in Aceton und Wasser 0,01 γ , 0,05 γ und 0,5 γ Oestradiol gelöst und mit diesen Lösungen an je 20 Zitzen den lokalen Nipple Test durchgeführt. Tab. 4 gibt die gefundenen Werte.

Im lokalen Nipple Test kann ein Unterschied in der Wirkung von α Oestradiol und Oestron nicht festgestellt werden. Wir haben hier einen Beweis dafür, dass man nicht einfach sagen kann, dass ein bestimmtes Sexualhormon wirksamer ist als ein anderes, sondern dass man hinzufügen muss, in welchem Test das Resultat erzielt wurde. Diese längst bekannte, aber wie schon erwähnt wohl zu wenig berücksichtigte Tatsache ist allgemein biologisch und auch praktisch von Bedeutung. Es ist wichtig zu wissen, dass auf zwei verschiedene Sexualhormone ein Organ gleich gut ansprechen kann, während ein anderes durch die beiden Sexualhormone ganz verschieden stark beeinflusst wird. Diese Tatsache allein liesse die Einführung des lokalen Nipple Test als Testmethode für weibliche Sexualhormone gerechtfertigt erscheinen, selbst wenn er gegenüber den bisher gebrauchten keinerlei Vorteile aufwiese. Wir haben im Abschnitt «Ist die Einführung eines neuen Tests für weibliches Sexualhormon berechtigt?» bereits darauf hingewiesen, dass es vorteilhaft erscheint, neben den Methoden, deren Testorgan der Uterus oder die Vagina ist, eine Methode zu besitzen, die mit einem andern extragenitalen Testorgan arbeitet. Wir kommen im Abschnitt «Vorteile des Nipple Test» nochmals darauf zurück.

Versuche mit Oestradioldipropionat

BUTENANDT hat 1930 gezeigt, «dass Oestronbenzoat eine längere Wirkung aufweist als das freie Oestron. Oestradiolmonobenzoat wurde daraufhin mit Erfolg in die Therapie eingeführt» (cit. nach K. MIESCHER). Später hat die Gesellschaft für chemische Industrie in Basel, basierend auf Untersuchungen von K. MIESCHER und seinen Mitarbeitern, das Oestradioldipropionat unter dem Namen Ovocylin P in den Handel gebracht. Worauf die Wirkungsverstärkung der Sexualhormonester gegenüber den freien Hormonen beruht, ist wohl noch nicht ganz klar. BUTENANDT führt die protrahierte Wirkung der Ester darauf zurück, dass sie längere Zeit im Blut kreisen und nur allmählich vom Organismus verseift werden. PARKES schreibt: «It seems certain, however, that the esterified androgens owe

their prolonged action to decreased solubility in the body fluids and consequent delay of absorption from the actual site of injection». Eine Vergrößerung der «Absorption», wie sie PARKES u. a. annehmen, könnte sich im lokalen Nipple Test in einer Verminderung des Effektes, kaum aber in einer Verstärkung bemerkbar machen. Es erschien daher lohnend, zu untersuchen, ob Oestradioldipropionat im lokalen Nipple Test wirklich schwächer wirkt

Tabelle 5

Oestradioldipropionat γ/ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005	1,32	0,22	2,80	0,36	3,70	0,42
0,01	1,13	0,30	2,97	0,40	4,29	0,43
0,05	2,43	0,34	4,50	0,43	5,70	0,58
0,5	3,43	0,25	5,85	0,41	7,63	0,52

als Oestradiol. Für eine solche Annahme spricht der Befund von DEANSLY und PARKES, dass wenn man Testosteron, resp. Testosteronpropionat in öligiger Lösung bei Ratten einreibt, der Effekt auf die Samenblase beim Propionat geringer ist als beim freien Hormon. Eine ähnliche Beobachtung machten MOORE, LAMAR und BECK. Es ist dies wohl auch der Grund dafür, dass die Gesellschaft für chemische Industrie in Basel für Injektionen Testosterondipropionat, resp. Oestradioldipropionat in den Handel bringt, während die von ihnen eingeführten Salben die freien Hormone enthalten. Unsere Versuche mit Oestradioldipropionat im lokalen Nipple Test (Tab. 5) haben nun aber die erwartete Verminderung der Wirkung nicht gezeigt.

Tabelle 6

abgewogene Hormonmenge γ/ccm	Oestradiol nach 30 Tagen		Oestradioldipropionat nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,01	3,54	0,42	4,29	0,43
0,05	5,28	0,39	5,70	0,58
0,5	7,30	0,65	7,63	0,52

Einen Vergleich der Wirkung von Oestradioldipropionat und Oestradiol im lokalen Nipple Test ergibt Tab. 6.

Eine Verminderung der Wirkung ist also durch die Veresterung im lokalen Nipple Test nicht eingetreten, sondern eine geringgradige Verstärkung. (Diese Feststellung entspricht einer kürzlich publizierten Beobachtung K. MIESCHER's, der bei Auswertung percutan applizierten Oestradioldipropionates am Kaninchenuterus einen etwas günstigeren Effekt feststellen konnte als bei der Verwendung von Oestradiol, während bei Anwendung am Rattenuterus «das freie Hormon günstiger dastand als der Ester».)

Die Feststellung, dass Oestradioldipropionat percutan appliziert im lokalen Nipple Test am Meerschweinchen keinesfalls schlechter wirkt als das freie Hormon, lässt die oben erwähnte Erklärung von PARKES für die bessere, resp. verlängerte Wirkung bei subcutaner Injektion fraglich erscheinen, da sie auf «delayed absorption of the actual site of injection» basiert.

Für das Oestron besitzen wir eine vorläufige Eichkurve (Abb. 12). (Sie ist noch keineswegs definitiv, immerhin kann ruhig gesagt werden, dass die definitive Kurve nicht sehr viel anders verlaufen wird.) Tragen wir auf dieser Oestronkurve die Oestradioldipropionat-Zitzenzuwachswerte auf und lesen dann auf der Abszisse die zugehörigen Dosen ab, so sehen wir, dass 0,005 γ Oestradioldipropionat wirken wie 0,013 γ Oestron, 0,01 γ Oestradioldipropionat wie 0,02 γ Oestron und 0,05 γ Oestradioldipropionat wie 0,075 γ Oestron. Mit anderen Worten: das Oestradioldipropionat ist etwa 1½- bis 2½mal wirksamer als Oestron. Wir müssen hinzufügen (das ist unbedingt notwendig): im lokalen Nipple Test in einem bestimmten Dosisbereich.

Für die weitere Forschung scheint sich uns aus diesem Resultat nur folgendes zu ergeben: Es ist nicht richtig, bei der Suche nach Präparaten für die percutane Hormonapplikation a priori von Hormonestern abzusehen.

Stilböstrolversuche

Die Entdeckung von DODDS, GOLBERG, LAWSON und ROBINSON, dass Stilbene, trotzdem sie chemisch kaum Beziehungen zu den Sexualhormonen aufweisen, wie weibliche Sexualhormone wirken, ist nicht nur von theoretischer, sondern auch von praktischer Bedeutung; von praktischer Bedeutung speziell deswegen, weil die Stilbene zu viel niedrigeren Preisen in den Handel gebracht werden können als die weiblichen Sexualhormone, die Sterone sind. Es sind in den letzten Jahren sehr viele Untersuchungen über die Frage angestellt worden, wie weit die Wirkungen der Stilbene und der natürlich vorkommenden Sexualhormone parallel gehen. Mit ganz wenigen Ausnahmen (Wirkung auf die Legeröhre des Bitterlings, cholinergische Wirkung, vergl. HUF) besteht eine ganz auffällige Parallelität. Auf die Zitze haben, wie schon DODDS, LAWSON und NOBLE zeigen konnten, die Stilbene eine den andern weiblichen Sexualhormonen entsprechende Wirkung. Uns interessierte speziell die Frage, ob letztere auch bei percutaner Applikation einen lokalen Effekt hervorrufen. Wir haben unsere Versuche mit Stilböstrol (Diäthyl-p-dioxystilben) durchgeführt. Ein Blick auf Abb. 5 lässt uns verschiedene Tatsachen erkennen. 1. Stilböstrol wird durch die Haut resorbiert. Dies konnte von PALMER und ZUCKERMANN auch bei der Maus festgestellt werden, da es gelang, Mäuse durch Aufpinseln von Stilben in Oestrus zu versetzen. Diese Feststellung an Säugetieren ist auch deswegen wichtig, weil Versuche von MÜHLBOCK am Kapaunenkamm dafür zu sprechen scheinen, dass «dieser Stoff, im Gegensatz zu den bisher bekannten oestrogenen Hormonen, nicht oder nur schwer durch die Haut resorbiert wird». 2. Stilböstrol erzeugt Zitzenvergrößerung, Hyperpigmentierung (nebenbei bemerkt auch

Akanthose). 3. Unter geeigneten Versuchsbedingungen finden sich diese Veränderungen nur an der behandelten Zitze, nicht aber an der unbehandelten (lokaler Effekt).

Quantitative Versuche mit Stilböstrol, gelöst in Aceton und Wasser, haben die in Tab. 7 aufgeführten Werte ergeben.

Tabelle 7

Stilböstrol γ/ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005	1,63	0,30	2,75	0,43	3,93	0,38
0,01	1,59	0,36	3,50	0,39	4,69	0,37
0,02	2,40	0,26	4,03	0,41	5,00	0,56
0,05	3,13	0,41	5,35	0,41	6,18	0,57
0,5	3,50	0,44	5,53	0,48	6,15	0,67
0,5	2,68	0,32	4,53	0,36	5,90	0,69
2,0	3,32	0,42	4,80	0,45	6,40	0,83
100,0	3,05	0,49	3,85	0,61	4,55	0,80
100,0	2,50	0,58	3,85	0,77	4,20	0,96

Tragen wir die 30-Tage-Werte in gleicher Weise auf Logarithmenpapier auf, wie wir das für die Oestronwerte getan haben, so kommen wir zu folgender Kurve (Abb. 14). Aus der Tabelle und der Kurve gelangen wir zu folgenden Feststellungen.

Genau so wie für die Oestronkurve gilt auch für die Stilböstrolkurve in einem gewissen Dosisbereich das Weber-Fechner'sche Gesetz (s. S. 22). 0,005 γ und 0,01 γ/ccm Stilböstrol wirken im lokalen Nipple Test etwa 3mal so stark als die entsprechenden Mengen Oestron, 0,02 γ und 0,05 γ etwa doppelt so stark. Genau so wie die Oestronkurve erreicht die Stilböstrolkurve ein Maximum. Sie erreicht es aber erheblich früher als die Oestronkurve und der maximale «Stilböstrol-Zitzenzuwachs» ist niedriger als der maximale «Oestronzitzenzuwachs». Es existiert daher ein Dosenbereich, in dem der durch Stilböstrol verursachte Zitzenzuwachs geringer ist als der durch Oestron bedingte. Wir haben bei den Oestradiolversuchen (s. S. 28) darauf hingewiesen, dass, wenn zwei Sexualhormone in ihrer Wirksamkeit verglichen werden, angegeben werden muss, in welchem Test der Vergleich vorgenommen wurde. Dies genügt aber unter Umständen noch nicht, denn es muss, zum mindesten im lokalen Nipple Test, auch noch angeführt werden, welche Dosen geprüft wurden. Die Berechtigung dieser Forderung ergibt sich ohne weiteres aus dem Vergleich der Stilböstrol- mit der Oestronkurve. Inwiefern sie auch bei den andern Tests zu Recht besteht, muss wohl noch genauer untersucht werden.

Wir möchten noch speziell darauf hinweisen, dass beim Stilböstrol, genau wie beim Oestron, eine höher konzentrierte Lösung (100 γ/ccm) schwächer wirkt als niedrigere Konzentrationen (überschrittene optimale Dosis!).

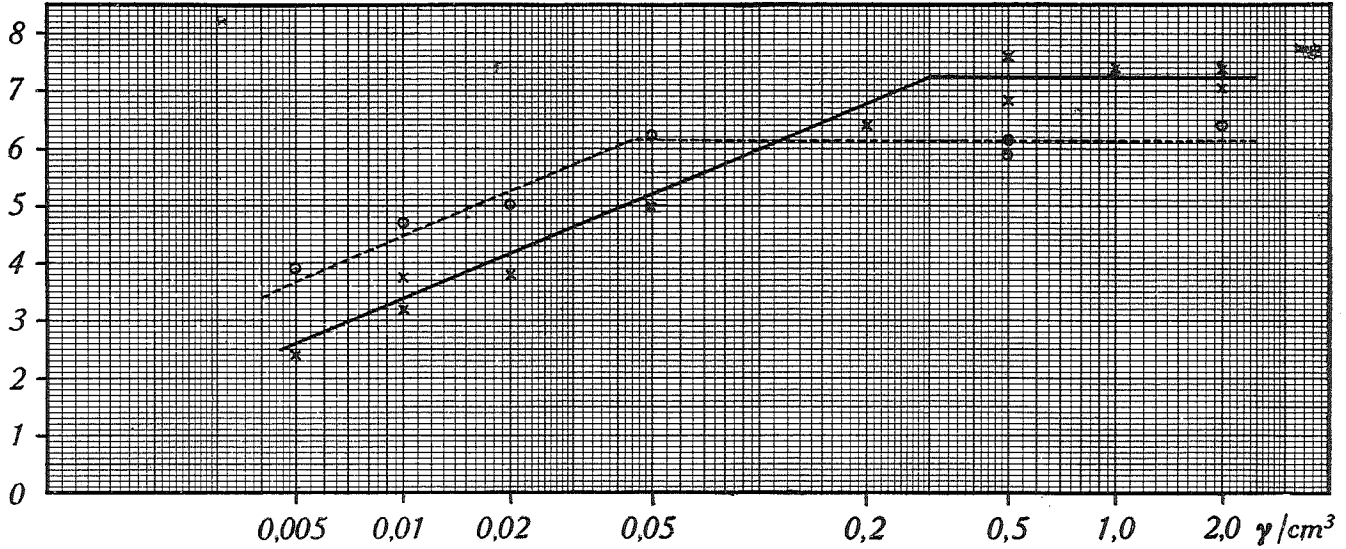


Abb. 14

× Oestronpunkte — Oestronkurve
 o Stilböstrolpunkte --- Stilböstrolkurve

Abszisse: Logar. der Dosis

Ordinate: Durchschnittlicher Zuwachs bei 20 Zitzen am 30. Tag

p,p'-Dioxydiphenylhexandisuccinatversuche

Die Untersuchung dieses Präparates im Nipple Test erschien uns von verschiedenen Gesichtspunkten aus lohnend. Das p, p'-Dioxydiphenylhexan wird von klinischer Seite speziell wegen seiner guten Verträglichkeit sehr gerühmt (MØLLER-CHRISTENSEN). Nachdem wir bei dem Propionat des Oestradiols die erwartete Verminderung der Wirkung bei percutaner Applikation nicht feststellen konnten, interessierte uns die Untersuchung eines Stilbenesters. Das p, p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat ist nach den Untersuchungen der Firma Siegfried relativ gut wasserlöslich.

Tabelle 8

p,p'-Dioxydiphenyl- hexandisuccinat γ/ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,05	2,52	0,29	5,35	0,49	5,87	0,43
2	3,03	0,25	5,57	0,44	6,72	0,44
50	3,30	0,34	4,60	0,32	4,75	0,64
100	2,60	0,57	3,80	0,48	3,95	0,65

Die Tab. 8 ergibt die für p, p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat festgestellten Werte. Bisher konnten wir einen Unterschied zum Stilböstrol nicht feststellen. Konzentrationen unter 0,05 γ/ccm sind aber noch nicht untersucht. In den geprüften Dosen erwies sich das grosse Molekül des veresterten p, p'-Dioxydiphenylhexan als ebenso wirksam wie das unveresterte Stilböstrol. Auch hier haben wir das Phänomen der «überschrittenen optimalen Dosis» feststellen können.

Versuche mit Natriumstilböstrol

Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, weil die Wirkung einer gut wasserlöslichen Substanz im Nipple Test interessierte. Wir stellen fest, dass in den wenigen geprüften Konzentrationen ein sehr deutlicher Effekt im lokalen Nipple Test feststellbar war, der nur wenig hinter dem nicht verseiften Stilböstrol zurücksteht.

Tabelle 9

Natriumsalz des Stilböstrols γ/ccm	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,5	2,23	0,42	4,18	0,54	5,45	0,55
5,0	2,78	0,33	4,38	0,31	5,50	0,37
50,0	2,93	0,47	4,80	0,54	6,08	0,46

Versuche mit Urinen von Mensch und Tier

Nach ZONDEK kann man im Allen-Doisy Test weibliches Sexualhormon in nicht konzentriertem Urin dann noch nachweisen, wenn pro Liter 833 Einheiten vorhanden sind. Das entspricht 0,08 γ /ccm. Da der lokale Nipple Test mehr als 10mal so empfindlich ist, so war a priori anzunehmen, dass er sich zum Nachweis oestrogenen Hormone im Urin eignen würde. Die in den Abb. 15 u. 16 wiedergegebenen Versuche sind nur grob orientierend; jeder Urin wurde nur an einer Zitze untersucht. Die Urine wurden nicht unter Stickstoff aufbewahrt. Es wurden Einzelportionen (beim Menschen der Morgenurin) untersucht; auf die Untersuchung des gesamten Tagesurins wurde verzichtet. Trotzdem zeigen die Versuche, dass sich der lokale Nipple Test für solche Untersuchungen sehr gut eignet. Die Versuchsergebnisse entsprechen vollkommen den in der Literatur publizierten Feststellungen, die mit dem Allen-Doisy Test erzielt wurden. Wir verweisen speziell darauf, dass wir in der Mitte des Zyklus ein Maximum der Ausscheidung von weiblichem Sexualhormon feststellen konnten (vergl. SIEBKE, GALLAGHER und Mitarbeiter, DINGEMANSE und LAQUEUR u. a.). Der Aufwand an Arbeitszeit und Kosten bei der Allen-Doisy Methode ist unvergleichlich viel grösser als derjenige beim lokalen Nipple Test. Das geht z. B. sehr deutlich aus einem Vergleich unserer Versuche mit denjenigen von GUSTAVSON, MASON, HAYS, WOOD und D'AMOUR hervor. Wir möchten noch speziell betonen, dass wir auch bei der Untersuchung des Urins nicht gravidier Frauen auf jede Konzentration oder Extraktion verzichten konnten, ferner dass man durch Verbesserung der Versuchsanordnung (die wiedergegebenen Versuche wurden vor 3 Jahren durchgeführt) ohne weiteres in der Lage ist, wirklich quantitative Untersuchungen im lokalen Nipple Test vorzunehmen. Man muss dann die Urine unter Stickstoff aufbewahren, eventuell den gesamten Tagesurin untersuchen und mehr als eine Zitze behandeln.

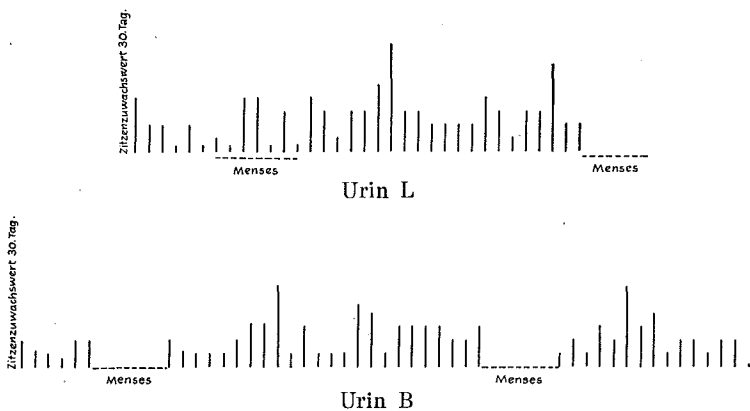


Abb. 15

Untersuchung der Urine von 2 Mädchen. Es wurden die Morgenurine während 2 (Urin B), resp. 1 Zyklus (Urin L) untersucht. (Täglich 1 Tropfen Urin auf die Zitze appliziert). Die Abbildung zeigt die 30-Tage-Werte.

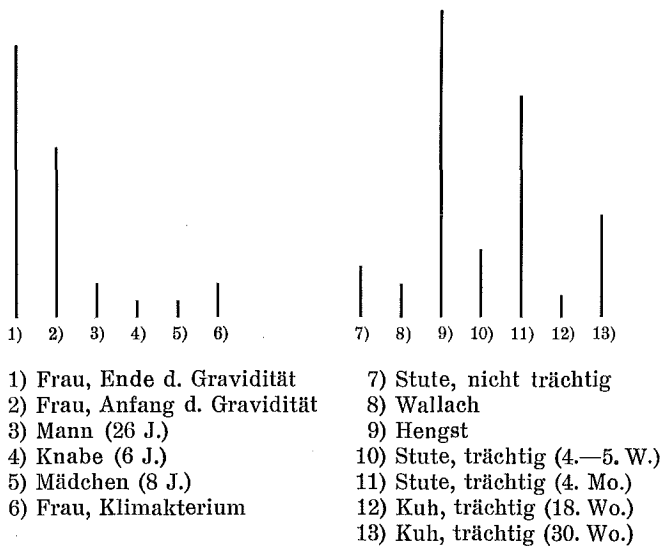


Abb. 16

Urinuntersuchungen. 30-Tage-Werte. (Täglich 1 Tropfen Urin auf die Zitze appliziert.)

Wir halten es für möglich, dass der lokale Nipple Test mit Urinen sich einmal als sehr nützlich erweisen wird.

Verhalten der Zitze bei lange Zeit fortgesetzter lokaler Oestronapplikation

Wir haben bereits auf S. 8 darauf hingewiesen, dass wir Zitzen während langer Zeit mit allerdings relativ geringen Dosen Oestron behandelt haben. Wir haben erwähnt, dass wir hierbei keine Carcinombildung beobachten konnten.

Wir wollen jetzt die Frage beantworten: Bleibt bei fortdauernder Hormonapplikation ein einmal erzielter Effekt (Verlängerung der Zitze) bestehen oder entwickelt sich auf irgendeine Weise eine Unempfindlichkeit, so dass trotz fortdauernder Medikamentapplikation die Wirkung abnimmt oder gänzlich verschwindet?

Mehr als 2 Jahre haben wir täglich einen Tropfen Oestronlösung (1 γ /ccm) auf die Zitzen appliziert. Die dadurch erzielte Verlängerung blieb, wie Abb. 17 zeigt, während der ganzen Versuchsdauer bestehen. Das gleiche Resultat zeigt Abb. 18, in der 0,1 γ /ccm Oestron während kürzerer Zeit appliziert wurde. Bei einer während vieler Monate fortgeführten percutanen Oestronapplikation bleibt der einmal erzielte Effekt bestehen. Es entwickelt sich keine Unempfindlichkeit gegenüber dem Hormon.⁷⁾ Bei dieser Versuchsordnung wird also keine nachweisbare Antihormonbildung aus-

⁷⁾ LEINZINGER nimmt eine gewisse Gewöhnung der Brustdrüse an oestrogene Substanzen an.

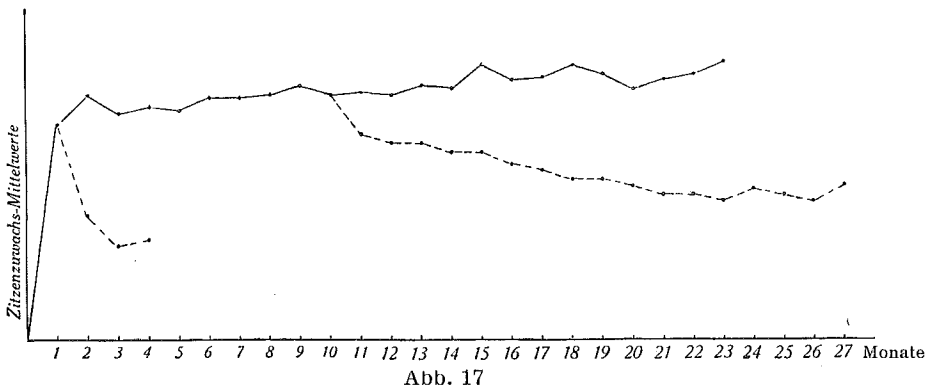


Abb. 17

— Zitzenzuwachs-Mittelwerte während der Behandlung. (Auftropfen einer Lösung, enthaltend 1.0% Oestron/cem, 1 Tropfen pro Tag.)
 --- Zitzenzuwachs-Mittelwerte nach Aussetzen der Behandlung.

gelöst; es wird auch kein anderer Effekt hervorgerufen (z. B. Stimulation einer Drüse mit innerer Sekretion), der den einmal erzielten Effekt rückgängig machen würde. Durch die weitere lokale Applikation der Oestronlösung kann der erzielte Effekt aufrecht erhalten werden, trotzdem durch die Verbreiterung der Epidermis das Hormon einen weiteren Weg zurückzulegen hat, um an das Stratum germinativum (s. Abb. 3) heranzukommen.

Wie die Verhältnisse bei grösseren, lokal applizierten Dosen und bei Injektion von weiblichen Sexualhormonen liegen, muss noch untersucht werden.

Verhalten der durch Oestronbehandlung vergrösserten Meerschweinchenzitze nach Aussetzen der Behandlung

Sobald durch die Applikation eines Hormons ein Effekt erzielt wird, stellt sich u. a. die Frage, ob, wie rasch und wie vollständig nach Aussetzen der Hormonbehandlung der erzielte Effekt wieder verschwindet. Das ist eine Frage, die ganz besonders auch bei klinisch bedeutsamen Effekten eine wichtige Rolle spielt und zwar in genau gleicher Weise, ob der erzielte Effekt ein erwünschter ist oder ob es sich um eine unerwünschte Nebenwirkung handelt. Nur wird man im ersteren Falle den Wunsch haben, der erzielte Effekt möge nach Absetzen des Medikamentes möglichst lange bestehen bleiben, während man bei unerwünschten Nebenwirkungen eine möglichst rasche restitutio ad integrum erhoffen wird.

Bei der Wirkung von percutan auf die Zitze appliziertem Sexualhormon lässt sich nun die Frage des Abklingens des erzielten Effektes besonders leicht und besonders anschaulich beantworten. Abb. 17 und 18 zeigen, dass nach Aussetzen der Behandlung der erzielte Effekt abnimmt, die Zitze wird kürzer, aber diese Abnahme erfolgt sehr langsam, und auch nach Monaten ohne jede Behandlung ist die Zitze nicht wieder normal geworden. Es sei noch besonders hervorgehoben, dass die Zitzenlänge langsamer abnimmt,

wenn die Behandlung während vieler Monate, als wenn sie nur während eines Monats erfolgte.

Daraus ergibt sich für die Praxis folgendes: Ein durch weibliches Sexualhormon erzielter Effekt kann u. U. nach Aussetzen der Therapie nur sehr langsam und unvollständig wieder zurückgehen. Je nach dem Effekt kann das, wie schon erwähnt, sehr erwünscht, aber auch sehr unerwünscht sein. Auf jeden Fall muss man sich darüber von vorneherein im klaren sein und darf nach den vorliegenden Versuchen nicht einfach annehmen, dass nach Aussetzen der Therapie in kürzester Zeit der status quo ante wieder erreicht werden muss. Es ist übrigens sehr wahrscheinlich, dass, je nach dem Erfolgsorgan, die Rückbildung sehr verschieden rasch erfolgt.

Vorteile des lokalen Nipple Test

Wir haben bereits darauf hingewiesen, dass es zweckmässig ist, Sexualhormone an verschiedenen Testorganen zu prüfen, da die verschiedenen Organe verschieden empfindlich sind. Die gebräuchlichen Testmethoden messen die Veränderungen an Genitalorganen, an der Vagina der kastrierten Maus oder Ratte (Allen-Doisy Test) und am Uterus der kastrierten Ratte (BÜLBRING und BURN). Der lokale Nipple Test misst die Zitze des männlichen Meerschweinchens, arbeitet also nicht nur mit einem andern Organ, sondern auch mit einer andern Tierart. Das muss man sich vor Augen halten, denn man wird mit viel mehr Recht Resultate auf den Menschen übertragen, die bei Maus, Ratte und Meerschweinchen erzielt wurden, als wenn sie nur bei einer Tierart festgestellt wurden.

Es ist ein Vorteil des lokalen Nipple Test gegenüber den beiden erwähnten anderen Testmethoden, dass er an Tieren, die nicht kastriert sind, durchgeführt werden kann. Hierüber brauchen keine Worte verloren zu werden. Die Technik des lokalen Nipple Test kann in kürzester Zeit von jedermann

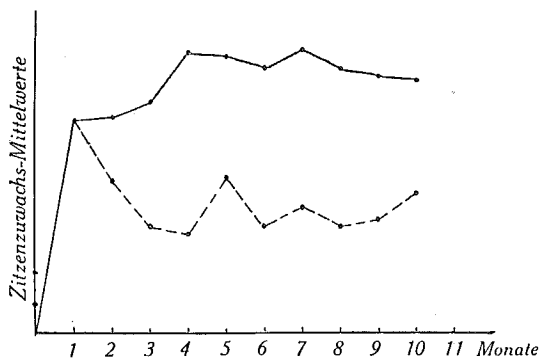


Abb. 18

- Zitzenzuwachs-Mittelwerte während der Behandlung. (Auffropfen einer Lösung, enthaltend 0,1% Oestron/ccm, 1 Tropfen pro Tag.)
--- Zitzenzuwachs-Mittelwerte nach Aussetzen der Behandlung.

erlernt werden. Die Beurteilung mikroskopischer Präparate ist nicht notwendig. Die Apparatur ist leicht und ohne grössere Kosten herzustellen.⁸⁾ Die von verschiedenen Personen durchgeführten Messungen geben gut übereinstimmende Resultate. Es ist ein Vorteil des lokalen Nipple Test gegenüber der Methode, die auf dem Uterusgewicht beruht, dass die Tiere nicht getötet werden müssen, sondern dass sie nach Abschluss des Versuches wieder verwendet werden können (allerdings nicht zu Nipple Tests, da eine restitutio ad integrum nicht erfolgt, s. Abb. 17 und 18). Im lokalen Nipple Test können Sexualhormonpräparate untersucht werden, die man nicht injizieren kann, z. B. Salben, alkoholische Lösungen etc. Bei solchen Präparaten erscheint die Prüfung im lokalen Nipple Test auch deswegen zweckmässig, weil dann die Untersuchung durch den Applikationsmodus erfolgt, für den diese Präparate bestimmt sind. Der lokale Nipple Test erscheint nach unseren Erfahrungen (hier sind allerdings noch genaue ergänzende Untersuchungen notwendig) weitgehend unabhängig von der Grösse der Tiere und der Zucht, aus der sie stammen. Man hat es in der Hand, durch Vermehrung der Zahl der untersuchten Zitzen die Genauigkeit der Resultate fast nach Belieben zu verbessern. Voraussetzung ist, dass eine möglichst genaue Eichkurve vorliegt. (Die Kurve, Abb. 12 ist, wie wir schon erwähnt haben, noch nicht als definitive Eichkurve zu werten.)

Es ist möglich, das muss auch noch hervorgehoben werden, bei der Verwendung von nur einer Zitze ein Resultat zu erzielen, das für eine grobe Orientierung genügt. Eine solche ist auch in wesentlich kürzerer Zeit als 30 Tagen möglich.

Wir möchten an Hand eines Beispiels einzelne dieser Sätze noch belegen.

Wir haben eine Lösung von 0,1 γ Oestron pro ccm in Aceton und Wasser hergestellt und an 18 Zitzen geprüft. Die erhaltenen 30 Tagewerte waren: 7.0, 6.0, 4.0, 5.0, 5.0, 5.5, 5.5, 7.0, 6.0, 7.5, 5.5, 7.0, 4.5, 5.0, 5.0, 6.0, 6.0. Das arithmetische Mittel beträgt $5,75 \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$. $2,6 = 0,58$ (s. S. 20). Tragen wir den Wert 5,75 in Abb. 12 auf die Kurve auf, so können wir auf der Abszisse eine Oestrondosis von 0,08 γ ablesen statt der abgewogenen Dosis 0,1 γ . Nehmen wir an, wir hätten den Versuch nur an einer Zitze durchgeführt und nehmen wir weiter an, wir hätten gerade eine Zitze erwischt, die am schlechtesten sich vergrösserte, so müssen wir den 30-Tage-Zuwachswert 4.0 auf der Kurve auftragen. Dann bekommen wir statt den abgewogenen 0,1 γ 0,018 γ Oestron pro ccm, also einen Wert, der 5,5 mal zu klein ist. Wenn wir Fehler in dieser Grössenordnung vermeiden wollen, dann müssen wir eben mehr als nur eine Zitze untersuchen. Zur groben Orientierung können aber Versuche an einer Zitze genügen.

Nehmen wir an, wir hätten für unsern Versuch nur die beiden ersten Meerschweinchen mit ihren 4 Zitzen verwendet, so hätten wir einen mittleren Zuwachswert am 30. Tage von 5.5 festgestellt, was einer Oestronmenge von 0,06 γ pro ccm entspricht. Bei den beiden nächsten Tieren hätten wir 0,08 γ pro ccm erhalten. Bei den nächsten 4 Zitzen 0,16 γ pro ccm.

⁸⁾ Auf die Herstellung von Schattenbildern kann man u. U. verzichten und die Zitzen direkt mit einer Schublehre messen. (Vergl. S. 14).

Wir haben in unseren Versuchen nicht nur die 30-, sondern auch die 10-Tage-Werte bestimmt. Für die Oestronlösung mit 0,1 γ /ccm erhielten wir am 10. Tag einen mittleren Zuwachswert von 2.0. Aus Tab. 2 ergibt sich, dass diesem Werte eine Oestronosis $> 0,02 \gamma$ und $< 0,2 \gamma$ entspricht.

Der hämatogene Nipple Test nach subcutaner Injektion

Nicht nur durch die lokale Applikation von Sexualhormonen, sondern auch nach subcutaner Injektion vergrössern sich die Zitzen des Meerschweinchens. Wir haben bisher nur relativ wenige Versuche auf diese Weise durchgeführt. Wir sind uns klar darüber, dass diese Lücke ausgefüllt werden muss. Über die bisherigen Feststellungen orientiert die Tab. 10.

Tabelle 10.

Hormon in 0,2 ccm Sesamöl täglich subcutan injiziert:

Injizierte Oestronmenge pro die	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
1 γ	1,34	0,32	2,74	0,38	3,90	0,29
5 γ	2,86	0,44	4,83	0,55	5,31	0,61
10 γ	2,80	0,29	5,60	0,50	6,75	0,38
100 γ	3,10	0,33	4,55	0,39	4,92	0,49
Injizierte Oestradiolmenge pro die						
1 γ	0,91	0,33	2,25	0,36	3,33	0,47
Injizierte Oestradioldipro- pionatmenge pro die						
1 γ	1,70	0,21	4,47	0,43	5,60	0,41

Betrachtet man zuerst nur die Oestronwerte, so ergibt sich folgendes: Bis zu der Dosis 10 γ pro die gilt der Satz: Je grösser die Dosis, um so grösser der Zitzenzuwachswert.

Die Zahl der geprüften Dosen ist zu gering, um z. B. die Frage zu beantworten, ob auch hier ein Dosenbereich existiert, in dem das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt. Eines ergeben aber diese Versuche in einwandfreier Weise: genau wie im lokalen Nipple Test ist die grösste geprüfte Dosis nicht die wirksamste. Wird eine gewisse optimal wirkende Dosis überschritten, dann nimmt der Effekt ab. Wir haben weiter oben schon auf Beobachtungen

von GARDNER hingewiesen, der Analoges für die Brustdrüsen von Mäusen und Affen festgestellt hat. Wir kommen auf diese, wie uns scheint wichtige Tatsache noch zurück.

Aus der Tabelle ergibt sich, dass der mittlere Zitzenzuwachswert am 30. Tage, wenn täglich 1 γ Oestron subcutan injiziert wurde, 3,90 beträgt. Tragen wir diesen Wert in Abb. 12 als Ordinate auf, so entspricht ihm, auf der Abszisse abgelesen, ein Wert von 0,017 γ Oestron. D. h. durch tägliche Injektion von 1 γ Oestron subcutan erhalten wir die gleiche Zitzenvergrößerung, wie wenn wir täglich einen Tropfen einer Lösung, die 0,017 γ Oestron/ccm enthält, applizieren. Ein Tropfen täglich entspricht 30 Tropfen im Monat, das sind höchstens 1,5 ccm oder 0,025 γ Oestron. D. h. 0,025 γ Oestron im Monat, auf die Zitze aufgetropft, bewirken eine ebenso starke Zitzenvergrößerung, wie wenn dem Meerschweinchen im Monat 30 γ Oestron subcutan injiziert werden. Daraus ergibt sich, wieviel ökonomischer es ist, das Oestron lokal zu applizieren, um eine bestimmte Zitzenvergrößerung zu erzielen, als es subcutan zu injizieren.

Ein Vergleich der in der Tabelle aufgeführten Oestron-, Oestradiol- und Oestradioldipropionatwerte ergibt, dass bei täglicher Injektion von 1 γ das Oestradioldipropionat wirksamer ist als das Oestron. Dieses Resultat entspricht den Erfahrungen, die mit anderen Testierungsmethoden erzielt wurden. Dagegen besteht im Gegensatz zum Allen-Doisy Test beim hämatogenen Nipple Test mit subcutaner Injektion kein Unterschied zwischen Oestradiol und Oestron. (Es wurden bisher nur Versuche mit Injektionen von 1 γ Oestradiol pro die durchgeführt.) Wir erinnern daran, dass wir auch im lokalen Nipple Test keinen Unterschied zwischen Oestron und Oestradiol feststellen konnten.

Der percutane hämatogene Nipple Test

Wir haben bereits auf Versuche hingewiesen, in denen die Vergrößerung der einen Zitze des Meerschweinchens messend verfolgt wurde, wenn eine Sexualhormonlösung auf die andere aufgetropft wurde. Auf S. 18 haben wir schon das Resultat früherer Versuche erwähnt, in denen wir zeigen konnten, dass nur bei der Applikation etwas grösserer Dosen oestrogenen Hormons auf die eine Zitze die andere Zitze sich vergrössert. Hier erschienen uns weitere quantitative Untersuchungen notwendig. Über ihr Resultat orientiert Tab. 11.

Betrachten wir zuerst nur die «unbehandelten» Zitzen der «Oestrontiere» am 30. Tag. Werden auf die «andern» Zitzen Lösungen aufgetropft, die 5 γ pro 1 ccm enthalten, so erhalten wir an der unbehandelten Zitze einen mittleren Zuwachswert von 2,85. Bei 10 γ pro ccm 4,61, bei 50 γ pro ccm 7,30 und bei 100 γ pro ccm 7,55. Mit steigender Dosis nimmt also der hämatogene Oestron-effekt nach percutaner Hormonapplikation zu. Ob hier in einem

Tabelle 11.

Behandlung	nach 10 Tagen				nach 20 Tagen				nach 30 Tagen			
	behandelte Zitze		unbeh. Zitze		behandelte Zitze		unbeh. Zitze		behandelte Zitze		unbeh. Zitze	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
Oestron γ /ccm												
5	2,70	0,58	1,10	0,37	3,95	0,62	2,35	0,33	5,40	0,82	2,85	0,42
10	3,17	0,57	1,56	0,40	4,89	1,13	3,44	0,54	4,89	0,90	4,61	0,54
50	3,25	0,52	3,05	0,62	4,35	0,55	5,65	0,86	4,65	0,64	7,30	0,75
100	3,10	0,57	3,05	0,45	4,20	1,02	5,80	0,64	4,45	0,70	7,55	0,63
200	2,44	0,76	2,44	0,75	3,40	0,49	5,20	0,44	4,00	0,69	5,75	0,58
Stilböstrol γ /ccm												
100	2,50	0,58	2,50	0,51	3,85	0,77	5,35	0,67	4,20	0,96	6,85	0,64
Equilin γ /ccm												
50	3,10	0,57	3,05	0,45	4,20	1,02	5,80	0,64	4,45	0,70	7,55	0,63
p,p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat γ /ccm												
50	3,30	0,34	3,10	0,69	4,60	0,32	6,55	0,68	4,75	0,64	7,65	0,74
100	2,60	0,57	2,75	0,62	3,80	0,48	5,35	0,78	3,95	0,65	6,65	0,86

gewissen Dosisbereich das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt, können wir noch nicht sagen, da die Anzahl der Untersuchungen nicht genügt.

Nehmen wir jetzt den Versuch heraus, in dem täglich ein Tropfen einer Lösung, die 50 γ Oestron pro ccm enthielt, auf die «andere» Zitze aufgetropft wurde. Wir erhielten, wie erwähnt, am 30. Tage einen Zitenzuwachswert von 7,30. Es wurden während der 30tägigen Versuchsdauer im Maximum pro Tier 2 ccm Lösung aufgetropft. Es können also höchstens 100 γ Oestron resorbiert worden sein, im Tag also etwas mehr als 3 γ . Werden täglich 5 γ Oestron in Sesamöl subcutan injiziert, so ergibt sich eine Zunahme von 5,31 (s. Tab. 10), also ein Wert, der sicher niedriger ist als der im hämatogenen Nipple Test durch percutane Applikation erzielte. Auch die tägliche Injektion von 10 γ /ccm wirkt nicht ganz so stark wie die tägliche percutane Applikation von ca. 3 γ . (M 6,75 \pm 0,38 gegen 7,30 \pm 0,75.) Bedenkt man, dass sicher nicht alles auf die Zitze aufgetropfte Oestron resorbiert wird, so erscheint die auffällig starke Wirkung des percutan resorbierten Hormons auf die nicht behandelte Zitze ganz besonders bemerkenswert. Eine Erklärung wollen wir vor Beibringung von neuen Experimenten nicht zu geben versuchen; wir begnügen uns vorläufig mit folgender Feststellung: Das von der einen Zitze percutan resorbierte Oestron wirkt auf die andere Zitze wesentlich stärker als eine entsprechende subcutan

injizierte Oestronmenge.⁹⁾ Hierbei darf aber nicht vergessen werden, dass, wie schon erwähnt, bei der percutanen Oestronapplikation eine Lösung in Aceton und Wasser verwendet wurde, während für die subcutanen Injektionen Sesamöllösungen gebraucht wurden.

Die «unbehandelten» Zitzen der mit 5 γ Oestron pro ccm behandelten Tiere weisen einen Zuwachs von 2,85 am 30. Behandlungstag auf. Um einen solchen Zuwachs durch Oestronapplikation auf die Zitze selber zu erzielen, braucht es, wie sich aus Abb. 12 ergibt, eine Lösung enthaltend 0,007 γ /ccm. $5 \gamma : 0,007 \gamma = 714$, d. h. an der unbehandelten Zitze der mit 5 γ /ccm percutan behandelten Tiere kommt etwa 700 mal weniger Oestron zur Wirkung als an der behandelten Zitze. Berechnen wir die gleichen Zahlen für die 10- γ -Tiere, so erhalten wir folgendes: Zitzenzuwachswert der unbehandelten Zitze am 30. Tag = 4,61. Dies entspricht im lokalen Nipple Test (Abb. 12) einer Dosis von 0,03 γ . $10 \gamma : 0,03 \gamma = 333$, d. h. an der unbehandelten Zitze der mit 10 γ Oestron behandelten Tiere kommt etwa 300 mal weniger Oestron zur Wirkung als an der behandelten Zitze. Für die 50- γ -Tiere beträgt der Zitzenzuwachswert auf der unbehandelten Seite 7,30. Diesem Werte entspricht auf Abb. 12 ein Oestronwert $> 0,3 \gamma$. $50 \gamma : 0,3 \gamma = 166$, d. h. an der unbehandelten Zitze der mit 50 γ /ccm percutan behandelten Tiere kommt mehr als $\frac{1}{100}$ der Oestronmenge zur Wirkung als an der behandelten Zitze. Daraus ergibt sich die Feststellung, dass, wenn wir die percutan applizierte Oestronkonzentration steigern, an entfernter Stelle nicht nur absolut, sondern auch relativ mehr Oestron zur Wirkung gelangt.

Eine weitere Betrachtung der Zahlen in der Tabelle veranlasst uns zu folgender Feststellung. 100 γ Oestron/ccm bewirken an der unbehandelten Zitze einen Zuwachswert von 7,55 (30-Tage-Wert, nach täglicher Applikation eines Tropfens). Der unter gleichen Versuchsbedingungen mit 200 γ erzielte Zuwachswert beträgt 5,75, ist also wesentlich kleiner. Ganz analog liegen die Verhältnisse beim p, p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat, doch tritt hier die Wirkungsverringerung schon bei geringeren Dosen auf. (50 γ /ccm: 7,65, 100 γ /ccm: 6,65.)

Bei der percutanen Sexualhormonapplikation an entfernter Stelle tritt eine Wirkungsverminderung nach Überschreiten einer optimalen Dosis auf, ein Phänomen, das wir auch im lokalen Nipple Test (s. S. 24, 31 und 33) und nach subcutaner Injektion (s. S. 39) beobachten konnten.

Vergleichen wir in der Tabelle die Zitzenzuwachswerte der behandelten und unbehandelten Seite, so kommen wir zu folgender, auf den ersten Blick paradoxen Feststellung. Bei den höheren Dosen hat sich die behandelte Zitze weniger vergrößert als die unbehandelte. Das Phänomen findet sich in allen Versuchen, nicht nur beim Oestron, sondern auch beim Stilböstrol, p, p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat und Equilin. Dieser Befund ist nichts

⁹⁾ ZONDEK hat darauf aufmerksam gemacht, dass wenn man die zur Auslösung der Laktation notwendige Follikulindose bei subcutaner und percutaner Anwendung vergleicht, «überraschenderweise man bei Einreibung des Follikulins in die Haut nicht mehr Hormon bedarf, als bei subcutaner Injektion. Es hat im Gegenteil den Anschein, dass man percutan noch weniger Hormon zur Brustdrüsenreaktion benötigt als subcutan.»

anderes als eine Bestätigung der mehrfach erwähnten Feststellung, dass grössere Dosen u. U. weniger stark wirken als kleinere. Die behandelte Zitze erhält mehr oestrogenes Hormon als die unbehandelte, darum vergrössert sich bei kleinen Dosen die behandelte Zitze stärker als die unbehandelte. Bei Vergrösserung der Dosis wird an der behandelten Zitze kein maximaler Effekt mehr erzielt, während an der andern Zitze die geringere dorthin gelangende Dosis noch im Bereich der optimalen liegt.

In den vorstehenden Seiten sind u. a. zwei Phänomene besprochen worden, die einer weiteren Untersuchung und Erklärung bedürfen. Sie sollen hier nochmals kurz zusammengefasst angeführt werden:

In einem gewissen Dosisbereich entspricht einer grösseren Dosis oestrogenen Hormons auch ein grösserer Effekt auf die Zitze des Meerschweinchens. Bei einer bestimmten Dosis ist der Effekt auf die Zitze maximal. Noch grössere Dosen bewirken zwar immer noch einen Effekt, der aber geringer ist als der mit kleinen Dosen erzielte. Diese Feststellung konnte an der mit oestrogenem Hormon behandelten Zitze (also im lokalen Nipple Test) gemacht werden, ferner an den Zitzen von Tieren, denen Hormon subcutan injiziert wurde (also im hämatogenen Nipple Test, mit subcutaner Injektion) und schliesslich auch an der unbehandelten Zitze von Meerschweinchen, bei denen das Hormon auf die «andere» Zitze des Meerschweinchens appliziert wurde (also im «hämatogenen percutanen Nipple Test»). Es erscheint uns wichtig festzustellen, dass grössere Dosen «weiblichen» Sexualhormons einen geringeren Effekt haben können als kleinere. Für den Mechanismus des Phänomens können wir noch keine Erklärung abgeben. Auf theoretische Überlegungen wollen wir verzichten. (Arndt-Schulze'sche Regel?)

Wir möchten aber noch auf folgendes hinweisen: Im lokalen Nipple Test ist eine Lösung, die 5 γ Oestron/ccm enthält, schon zu konzentriert, d. h. eine Lösung von 1 : 200 000 ist schon zu stark, um einen optimalen Effekt auszulösen. Werden einem Meerschweinchen 100 γ Oestron in Sesamöl täglich subcutan injiziert, so ist der Effekt geringer als bei 10 γ pro die. Auf den Menschen umgerechnet würde das bedeuten, dass eine tägliche Dosis von 20 mg subcutan u. U. weniger wirken kann als eine Dosis von 2 mg. Im hämatogenen percutanen Nipple Test wurden in 30 Tagen 400 γ auf die «andere» Zitze appliziert, das ergibt eine tägliche Dosis von 13 γ . Diese Dosis ist bereits zu gross, um an der «unbehandelten» Zitze einen maximalen Effekt hervorzurufen, trotzdem sicher nicht alles resorbiert wird.

Diese Zahlen sollen nur zeigen, wie klein die optimal wirkenden Dosen sind. Hierbei darf aber nicht übersehen werden, dass diese Zahlen einstweilen nur für die Meerschweinchenzitze gelten. Bei andern Tierarten und an andern Organen können die Verhältnisse ganz andere sein. Sie können aber auch analog sein, und an diese Möglichkeit muss man denken, speziell in der Zeit des «Wettlaufes der Industrie um die Einheiten».

Der Effekt von in Sesamöl gelöstem injiziertem Sexualhormon auf die Zitzen des Meerschweinchens kann geringer sein als der Effekt, den gleiche percutan applizierte Dosen auslösen, wobei dieses in Aceton und Wasser gelöste Hormon auf die «andere» Zitze aufgetropft wurde. Mit anderen Wor-

ten, die gleiche Hormonmenge wirkt bei der Versuchsanordnung, die wir als «hämatogenen Nipple Test mit subcutaner Injektion» bezeichnet haben, weniger stark als in der Versuchsanordnung, die wir «hämatogenen percutanen Nipple Test» nennen. Auch hier sehen wir von hypothetischen Erklärungsversuchen ab. Ohne etwas zu präjudizieren, möchten wir aber in diesem Zusammenhang auf Untersuchungen von GRUMBRECHT und LOESER hinweisen. Die Autoren haben gefunden, «dass das Follikelhormon durch Passage des Uterus schilddrüsenwirksame Eigenschaften erlangt». «In Berührung mit der proliferierten Uterusschleimhaut erlangt das Follikelhormon — durch chemische Umwandlung oder indem es die Bildung anderer Stoffe anregt — gleichzeitig schilddrüsenwirksame Eigenschaften.» Dies lässt daran denken, dass das Follikelhormon in Berührung mit der proliferierten Zitzenhaut besondere Wirkungen erlangen könnte, die durch einen besonders starken Effekt auf die «andere» Zitze nachgewiesen werden.

Antagonismus «weiblicher» und «männlicher» Sexualhormone

«La notion d'un antagonisme entre l'hormone mâle et l'hormone femelle, généralement acceptée, ne paraît pas entièrement exacte.» (SIMONNET.)

«Weibliche» Hormone hemmen die männlichen:

«Es kann», wir zitieren PARKES und EMMENS, «kein Zweifel bestehen, dass Oestradiolbenzoat eine antagonistische Wirkung hat gegenüber den Kammwachstum fördernden Eigenschaften von Testosteron und Androsteron.» MÜHLBOCK hat 500 γ Oestron resp. Oestradiol gleichzeitig mit 0,4 γ Testosteron auf den Kapaunenkamm geschmiert und eine Hemmung des Kammwachstums gefunden. Er hat ferner 2 mg Oestradiol gleichzeitig mit 100 γ Androsteron Kapaunen injiziert und festgestellt, dass der Kamm sich viel weniger vergrösserte als bei den nur mit Testosteron behandelten Tieren. 1 mg Oestradiol war ohne Wirkung.

Männliche Hormone hemmen die weiblichen:

Die durch Injektion von Oestron an Prostata und Urethra infantiler Affen hervorgerufenen Veränderungen liessen sich nach ZUCKERMANN durch gleichzeitige Verabreichung der 7fachen Menge Testosteronpropionat unterdrücken (cit. nach SCHMIDT-THOMÉ). ROBSON, COURIER und COHAN-SOLAL, KORENCHEVSKY u. a. haben gefunden, dass die Wirkung von «weiblichen» Sexualhormonen auf das Vaginalepithel der kastrierten Maus durch Testosteronpräparate aufgehoben werden kann. Die merkwürdige Wirkung von Oestron auf den Knochen wird durch Testosteron hintangehalten (GARDNER und PFEIFFER).

Dies sind nur wenige Beispiele, dass weibliche und männliche Sexualhormone Antagonisten sind. Die ganze Frage wird nun aber dadurch wesentlich kompliziert, dass neben dem Antagonismus ein Synergismus männlicher und weiblicher Sexualhormone beobachtet wurde.

FREUD, STEINACH, KUN und PECZENIK, KORENCHEVSKY u.a. haben festgestellt, dass «die Kombination männlicher Sexualhormone mit Oestron zu einer Potenzierung der Wachstumswirkung der männlichen Prägungstoffe auf die männlichen Sexualorgane führt» (cit. nach SCHMIDT-THOMÉ). Wir haben bereits auf Seite 26 darauf hingewiesen, dass «männliche» Hormone an den weiblichen Sexualorganen Wirkungen hervorrufen können, die den Wirkungen weiblicher Hormone entsprechen und dass man deswegen von bisexuellen Hormonen sprechen muss und dass Ausdrücke wie «weibliches» oder «männliches» Sexualhormon nur bedingt richtig sind.

Für uns stellte sich die Frage: wie sind die Verhältnisse für die Meerschweinchenzitze? Die auf Seite 26 wiedergegebenen Versuchsergebnisse scheinen diese Frage ohne weiteres im Sinne des Synergismus zu beantworten. So wie durch «männliche» Sexualhormone der Uterus hypertrophiert, so zeigt auch die Zitze beim Auftropfen «wässriger» Lösungen «männlicher» Sexualhormone eine «weibliche» Reaktion, sie wird länger. Injektionen männlicher Sexualhormone führen nach unseren Untersuchungen nicht zu einer deutlichen Zitzenvergrößerung, während BOTTMLEY und FOLLEY, allerdings mit wesentlich grösseren Dosen (s. S. 26), eine solche feststellen konnten.

In unserer ersten Arbeit über den Nipple Test hatten wir geschrieben, dass sich bei geeigneter Dosierung ein gewisser, wenn auch geringgradiger, hemmender Einfluss der Hoden auf die durch oestrogenes Hormon bedingte Zitzenvergrößerung nachweisen lässt. Dieser Antagonismus, zwischen Hoden und weiblichem Sexualhormon, nachgewiesen an der Meerschweinchenzitze, erschien uns damals nicht besonders verwunderlich. Man hatte ihn früher stillschweigend angenommen. STEINACH, LIPSCHÜTZ u. a. haben ihre Ovarientransplantationen an kastrierten Männchen durchgeführt. BLOCH und SCHRAFL hatten sogar gemeint, dass die Kastration allein schon zu einer Vergrößerung der Zitze führen kann, was wir allerdings im Nipple Test nicht bestätigen konnten. HOUSSAY, GIUSTI und LASCAÑO-GOUZALES haben angegeben, dass Ovarialtransplantation nur dann Mammahypertrophie beim männlichen Meerschweinchen macht, wenn das Tier kastriert ist. Nachdem aber der Beweis erbracht war, dass männliche Hormone auf die Zitze eine Wirkung ausüben können, die derjenigen

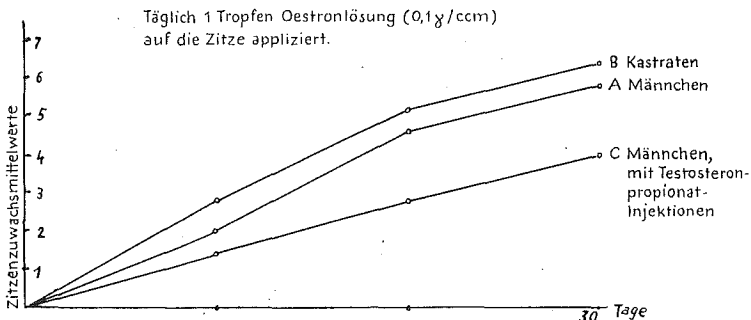


Abb. 19

des weiblichen Hormons qualitativ entspricht, erschien es merkwürdig, dass auch an der Zitze ein Antagonismus zwischen Hoden und weiblichem Sexualhormon nachweisbar sein sollte.

Eine Überprüfung unserer früheren Versuche mit verbesserter Methodik führte aber, wie Abb. 19 und Tab. 12 zeigen, zu einer Bestätigung des Antagonismus Hoden — oestrogenes Hormon an der Zitze des Meerschweinchens. Wenn man nach BURN ausrechnet, wie gross die Wahrscheinlichkeit ist, dass der stärkere Zitzenzuwachs der Kastraten gegenüber den Männchen auf einem Zufall beruht, so kommt man zu dem Resultat, dass sie kleiner ist als 1 : 100; der hemmende Einfluss der Hoden ist also bewiesen.

Tabelle 12

nach 30 Tagen

	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
Kastraten ohne Testosteronpropionatinjektionen	6,53	0,31
Männchen ohne Testosteronpropionatinjektionen	5,78	0,58
Männchen mit Testosteronpropionatinjektionen (5 mg pro die)	4,00	0,36

Verwendete Lösung: Oestron 0,1 γ /ccm (Lösungsmittel: Aceton + Wasser $\bar{a}\bar{a}$)
 Applikationsart: täglich 1 Tropfen auf die Zitze aufgetropft.

Der eigenartige, wenigstens scheinbare Widerspruch bleibt also bestehen: Auf der einen Seite Vergrösserung der Zitze durch «männliche» Sexualhormone, auf der andern Seite hemmender Einfluss der Hoden auf die zitzenvergrössernde Wirkung lokal applizierter «weiblicher Sexualhormonlösungen.

Kommt der hemmende Einfluss der Hoden durch die Sekretion von «männlichem» Sexualhormon zustande oder sezernieren die Hoden eine besondere, weibliches Sexualhormon hemmende Substanz? Der soeben erwähnte Widerspruch lässt an die letztere Möglichkeit denken. Wir haben aber zeigen können (s. Abb. 19 und Tab. 12), dass tägliche Testosteronpropionatinjektionen (5 mg pro die subcutan) die Wirkung von percutan auf die Zitze appliziertem Oestron (täglich 1 Tropfen einer Lösung, enthaltend 0,1 γ /ccm) zwar nicht aufheben, aber stark hemmen.

Das bei der einen Versuchsanordnung (percutane Applikation «wässriger» Lösungen) eine Zitzenvergrösserung bewirkende «männliche» Sexualhormon bewirkt also bei anderer Versuchsanordnung (subcutane Injektion öligere Lösungen) eine Hemmung der durch Oestron erzielten Zitzenvergrösserung. Wir haben also einen entgegengesetzten Effekt des Testosteronpropionates am gleichen Erfolgsorgan, je nach dem Applikationsmodus, festgestellt.

Ein Antagonismus von «weiblichem» und «männlichem» Sexualhormon an der Zitze des Meerschweinchens konnte auch bei der Injektion von Oestron-Testosteronpropionatgemischen (in Öl gelöst) festgestellt werden (s. Tab. 13). Die Wirkung von subcutan injiziertem Oestron auf die Meerschweinchenzitze wird durch der Oestronlösung beigegebenes Testosteron-

propionat gehemmt, aber auch 5000 γ Testosteronpropionat genügen nicht, um die Wirkung von 1 γ Oestron auf die Zitze aufzuheben.

Von einer Neutralisation von weiblichem und männlichem Sexualhormon im chemischen Sinne des Wortes kann, wie schon SIMONNET betont, keine Rede sein. Dagegen spricht, abgesehen von der chemischen Struktur der Verbindungen, das Vorkommen von Synergismus und Antagonismus an verschiedenen Organen der gleichen Tierart und sogar am gleichen Organ (Zitze) bei verschiedenem Applikationsmodus. Dagegen sprechen auch die quantitativen Verhältnisse.

In einem Oestradiol-Androsterongemisch braucht es mehr als 10mal so viel Oestron, um die Wirkung des Androsterons auf den Kapaunenkamm zu hemmen (MÜHLBOCK). Es braucht die 7fache Testosteronpropionatmenge, um die Oestronwirkung an Prostata und Urethra infantiler Affen aufzuheben (ZUCKERMANN). Um den Effekt von 0,2 γ Oestron auf das Vaginalepithel der kastrierten Maus aufzuheben, benötigte ROBSON 800 γ Testosteron, also das 4000fache. COURIER und COHAN-SOLAL brauchten bei der Ratte die 1000fache Testosterondosis, um die Oestronwirkung auf die Vagina aufzuheben. Im Nipple Test konnte mit der 5000fachen Testosteronpropionatmenge wohl eine Abschwächung der Oestronwirkung erzielt werden. Es kam aber nicht zu einer vollständigen Aufhebung des Oestroneffektes auf die Zitze.

Tabelle 13

Lösung	Oestron pro die	Testosteronpropionat pro die	nach 30 Tagen	
			M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
1	1 γ	—	4,29	0,46
2	1 γ	500 γ	3,04	0,37
3	1 γ	5000 γ	1,72	0,34

Sämtliche verwendete Lösungen enthielten in 0,2 ccm Sesamöl 1 γ Oestron; Lösung 1 kein Testosteronpropionat, Lösung 2 500 γ und Lösung 3 5000 γ Testosteronpropionat neben 1 γ Oestron in 0,2 ccm Öl. Es wurde täglich jedem Meerschweinchen 0,2 ccm Lösung injiziert (pro Lösung wurden 10 Meerschweinchen verwendet).

Die aufgezählten verschiedenen Feststellungen legen es nahe anzunehmen, dass das weibliche und das männliche Sexualhormon verschiedene Angriffspunkte besitzen. Was die Zitze anbetrifft, so ist bewiesen, dass das oestrogene Sexualhormon an ihr selber angreift (lokaler Effekt). Der hemmende Einfluss «männlicher» Hormone könnte aber indirekt, z. B. über die Hypophyse erfolgen. Der weiter oben erwähnte Widerspruch (Zitzenverlängernde Wirkung von lokal appliziertem männlichem Sexualhormon — hemmende Wirkung injizierter männlicher Hormone auf die zitzenvergrößernde Wirkung von Oestron) wäre dann verständlich. Verständlich wäre auch, wieso es an einem Organ zu einem Synergismus, am andern zu einem Antagonismus der beiden Sexualhormone kommt. (Verschiedene Wirkung der in der veränderten Hypophyse erzeugten Hormone auf die verschiedenen Organe.) Verständlich wären schliesslich auch die an den verschiedenen

Organen festgestellten ganz verschiedenen zur «Neutralisation» notwendigen Dosen. Trotzdem der Einfluss der Sexualhormone auf die Hypophyse bewiesen ist, ist eine solche Annahme (wir wurden von der Gesellschaft für chemische Industrie in freundlicher Weise speziell auf sie hingewiesen) heute noch Hypothese, vielleicht eine sehr nützliche Arbeitshypothese auf einem Gebiet, das sicherlich grosses, vielleicht nicht nur theoretisches Interesse beanspruchen darf.

Der Nipple Test bei weiblichen Tieren

Dieses Gebiet haben wir bisher fast vollkommen vernachlässigt, es erscheint uns aber klar, dass es sich lohnen wird, ausgedehnte Versuchsreihen durchzuführen.

Auf 20 Zitzen von weiblichen Tieren haben wir täglich eine Oestronlösung aufgetropft, die 0,1 γ /ccm enthielt. Wir erhielten einen 30-Tage-Wert von $5,1 \pm 0,51$. Es ist sehr auffallend, dass dieser Wert niedriger ist als der bei gleichzeitig behandelten männlichen Tieren erzielte, der $5,78 \pm 0,58$ betrug, während kastrierte Männchen eine Zitzenlänge von $6,53 \pm 0,31$ aufwiesen. Bevor wir Überlegungen darüber anstellen, woher es kommen kann, dass die Zitzen weiblicher Tiere sich im mit Oestron durchgeführten lokalen Nipple Test weniger vergrössern als die Zitzen männlicher Tiere, wollen wir uns ein grösseres Versuchsmaterial beschaffen.

Bei einer grösseren Anzahl von Meerschweinchen haben wir im Verlauf der Schwangerschaft und während und nach der Stillperiode die Länge der Zitze messend verfolgt. Die Resultate bei verschiedenen Tieren sind derart analog, dass es vollkommen genügt, eine Kurve als Beispiel zu bringen (Abb. 20). Aus der Kurve ist zu ersehen, dass während der Schwangerschaft die Zitzenlänge zunimmt. Kurz vor der Geburt ist die Zitze mindestens dreimal so lang wie zu Beginn der Gravidität. (Das gilt nur für Erstgebärende, da bei mehrgebärenden Meerschweinchen die Zitze bei Schwangerschaftsbeginn erheblich länger ist als bei Erstgebärenden. Wir kommen darauf gleich noch einmal zurück.) Kurz nach der Geburt erfolgt ganz plötzlich eine weitere Verlängerung der Zitze. In wenigen Stunden verlängert sie sich so stark, dass sie jetzt nicht wie am Ende der Schwangerschaft dreimal so lang ist wie zu Beginn der Gravidität, sondern mindestens fünfmal so lang. Wir haben zeigen können, dass diese zweite starke Längenzunahme durch das Säugen der Jungen bewirkt wird. Wird nämlich das Stillen an der einen Zitze verhindert und werden dann beide Zitzen gemessen, so kann man feststellen, dass die Zitze, die gestillt hat, mehr als doppelt so lang ist als die, die nicht gestillt hat.¹⁰⁾ Lässt man die Jungen jetzt an

¹⁰⁾ Wir möchten hier auf die Analogie mit Versuchen von FAUVET hinweisen, der in Kaninchenexperimenten zeigen konnte, «dass beim säugenden Tier die genutzte Drüse sich in voller Funktion befindet, dass aber die daneben liegende sich völlig zurückbildet, wenn man sie dem Saugakt unzugänglich macht». (Vergl. auch CAFFIER und SIRRY-OEZKAYAALP u. a.).

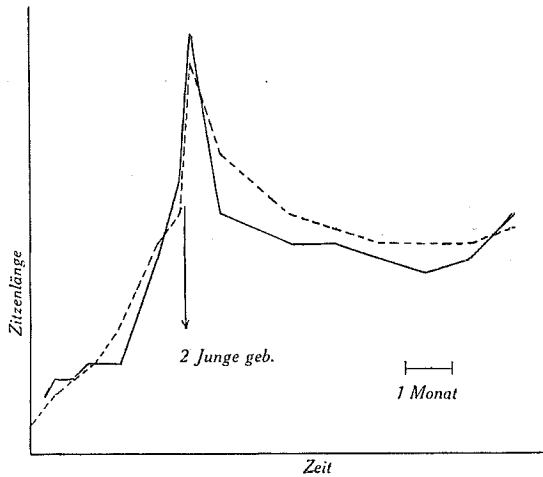


Abb. 20

Mee 1998. Kontrolle des Zitzenwachstums während und nach der Schwangerschaft.

beiden Zitzen saugen, so ist nach 3 Stunden die Längendifferenz zwischen beiden Zitzen nur noch halb so gross wie vorher und verschwindet in kurzer Zeit vollständig.

In der Zeit post partum erfolgt dann eine ziemlich rasche Abnahme der Zitzenlänge, die häufig für die beiden Zitzen eines Tieres recht verschieden rasch stattfindet. Die Längenabnahme geht nun aber nicht bis zu den Werten, die zu Beginn der Gravidität festgestellt wurden, hinunter, es kommt nicht zu einer restitutio ad integrum.

Wir haben also folgendes festgestellt: Zunahme der Zitzenlänge während der Gravidität, plötzliche und sehr starke Zunahme der Zitzenlänge unmittelbar post partum. Diese zweite Zunahme wird durch das Saugen der Jungen und nicht, oder wenigstens nicht allein, durch einen besonderen Hormonstoss oder etwas Ähnliches, bedingt. Die Zitzenlänge geht in der Zeit post partum stark zurück, ohne aber die niedrigen Werte, die vor der ersten Schwangerschaft bestimmt wurden, wieder zu erreichen.

Bei einer Bearbeitung des Nipple Test am weiblichen Meerschweinchen wird man auch Untersuchungen mit Hypophysenvorderlappen- und Placentahormonen vornehmen müssen. Das beweisen einige orientierende Versuche, die wir mit Prolan durchgeführt haben. Nach ZONDEK wirkt das Prolan dadurch, dass es den «follikulären Apparat in Gang bringt und sekundär das Follikulin mobilisiert». Mit dieser Auffassung stimmt gut überein, dass wir durch tägliche Injektion von 50 Ratteneinheiten Prolan bei zwei Weibchen eine erhebliche Zitzenvergrösserung erzielen konnten. (Bei einem Männchen war eine sehr viel geringere Zitzenvergrösserung feststellbar.) Bei einem Weibchen wurden die Injektionen während 80 Tagen durchgeführt. Die Zitzenvergrösserung blieb bestehen. Eine «Immunisie-

nung», wie sie GUYÉNOT, HELD und MOSZOWSKA festgestellt haben, konnten wir also nicht beobachten.

Wir möchten nochmals betonen, dass es sich hier nur um Vorversuche handelt.

Oestron und Milchdrüse des Meerschweinchens

Dass man durch oestrogene Hormone nicht nur eine Verlängerung der Zitze, sondern auch eine Ausbildung der Milchdrüse des Meerschweinchens erzielen kann, ist schon lange bekannt (STEINACH). Was uns speziell interessierte war die Frage nach dem Verhalten der Milchdrüse bei percutaner Applikation von Oestron, speziell das Problem Dosis und Wirkung. Diese Untersuchungen sind noch sehr weit von einem Abschluss entfernt, haben aber doch schon Feststellungen ermöglicht, die uns mitteilenswert erscheinen. Abb. 21 zeigt die Verhältnisse beim unbehandelten Männchen: wenig Milchgänge, keine Drüsenlappenbildung. Abb. 22: beim unbehandelten Weibchen: etwas mehr Milchgänge, keine Drüsenlappenbildung. Applizieren wir auf eine Zitze Oestronlösungen, die 200, 100, 50, 10 oder 5 γ pro ccm enthalten, während 30 Tagen (täglich ein Tropfen), so entstehen grosse Drüsenlappen, wie sie Abb. 23 und 24 zeigen. Ein Vergleich mit Abb. 25 zeigt, dass sich diese Drüsenlappen männlicher, percutan mit Oestron behandelter Tiere von denjenigen schwangerer Weibchen zum mindesten qualitativ nicht unterscheiden. (Unser Versuchsmaterial ist nicht umfangreich genug, um die Grössen der entstandenen Brustdrüsen zu vergleichen, wir begnügen uns vorläufig mit der Feststellung, ob Drüsenlappen entstanden sind oder nicht.)

Aus dem bisherigen geht hervor, dass während 30 Tagen auf die Zitze applizierte Oestronlösungen, die 5—200 γ pro ccm enthalten (täglich ein Tropfen) zur Ausbildung einer alveolären Drüse führen. Wie Abb. 26 zeigt, genügt eine Applikationszeit von nur 10 Tagen nicht, um dieses Resultat zu erzielen. Wir finden hier keine, resp. nur ganz beginnende Drüsenbildung. Lösungen, die 1 γ Oestron im ccm enthalten, führen, wie Abb. 27 zeigt, nicht zur Ausbildung einer ausgeprägten Milchdrüse, wenn die Zitze 30 Tage behandelt wird. Wir dürfen hier daran erinnern, dass eine 200mal geringere Dosis noch einen sehr deutlichen Effekt auf die Zitze hat. Eine grössere Anzahl von Versuchen hat uns nun aber gezeigt, dass auch mit einer Lösung, die 1 γ pro ccm enthält, ein Drüsenkörper erzeugt werden kann, wenn länger behandelt wird als 30 Tage (vergl. Abb. 28 und 29). Diese lange «Inkubationszeit» und speziell ihre Abhängigkeit von der Grösse der Dosis ist vielleicht nicht nur von theoretischem Interesse.

Wir fassen zusammen: Die Applikation von Oestronlösungen von 1—200 γ pro ccm (1 Tropfen pro die auf die Zitze des Meerschweinchens appliziert) führt zur Ausbildung einer Milchdrüse auf der behandelten Seite. Diese Wirkung ist nach 30 Tagen nachweisbar; nur bei der kleinsten geprüften Dosis (1 γ /ccm) ist der Effekt erst nach längerer Behandlungszeit deutlich festzustellen.

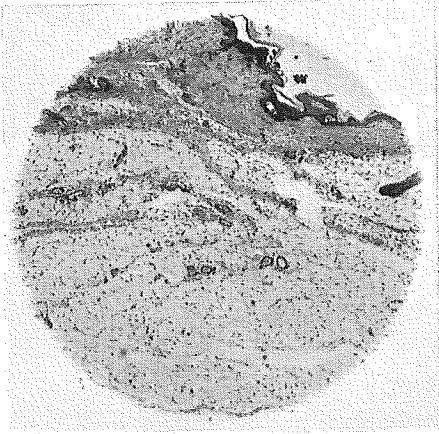


Abb. 21
Unbehandeltes Männchen

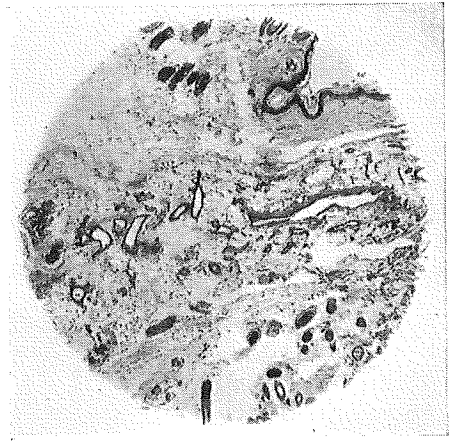


Abb. 22
Unbehandeltes Weibchen

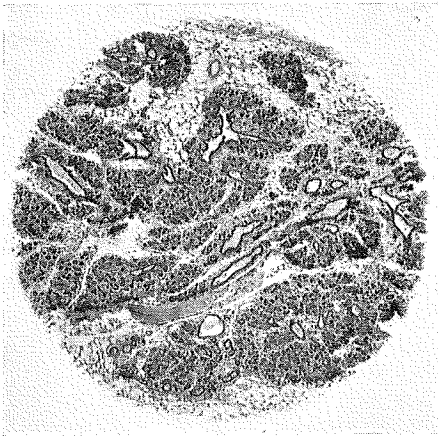


Abb. 23
Männl. Meerschw., 5 γ Oestron pro ccm
während 30 Tagen auf die Zitze aufge-
tropft.

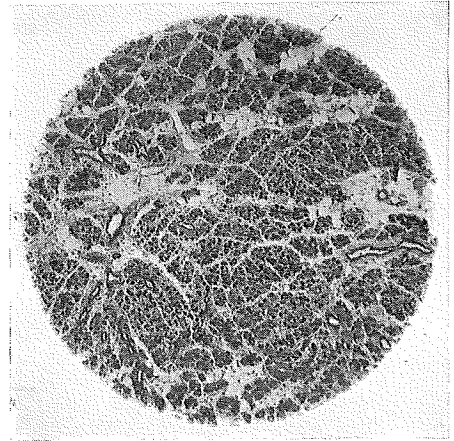


Abb. 24
Männl. Meerschw., 50 γ Oestron pro ccm
während 30 Tagen auf die Zitze aufge-
tropft.

Es hat sich nach diesen Feststellungen die Frage gestellt: Wie verhält sich die Milchdrüse auf der unbehandelten Seite? Wird täglich ein Tropfen einer Oestronlösung, enthaltend 10—200 γ /ccm auf die «andere» Zitze appliziert, so entwickelt sich auf der unbehandelten Seite eine Milchdrüse, die sich von derjenigen auf der behandelten Seite (soweit dies bis jetzt beurteilt werden kann) nicht unterscheidet. (Abb. 30.) Werden 5 γ /ccm während eines Monats oder 1 γ /ccm während zweier Monate aufgetropft, so konnte in mehreren

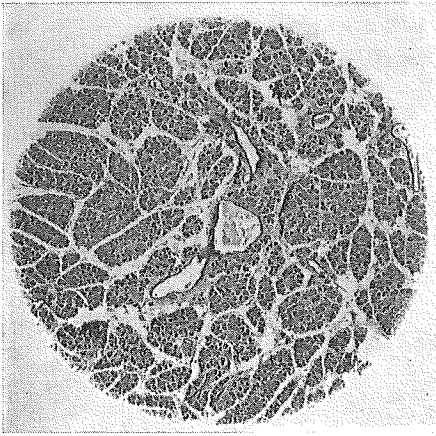


Abb. 25
Schwangeres Weibchen

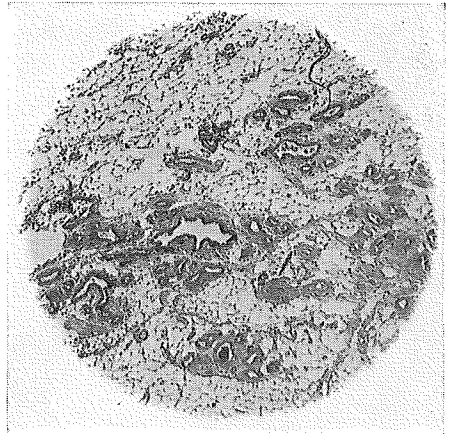


Abb. 26
Männl. Meerschw., 50 γ Oestron pro ccm
während 10 Tagen auf die Zitze aufgetropft.

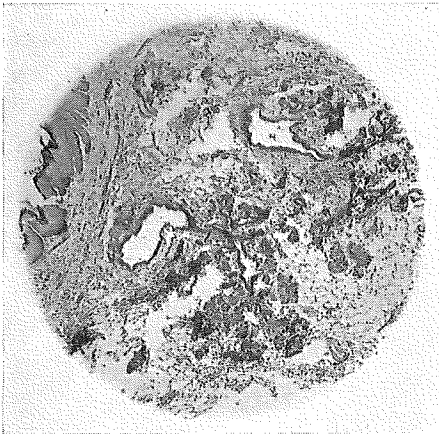


Abb. 27
Männl. Meerschw., 1 γ Oestron pro ccm
während 30 Tagen auf die Zitze aufgetropft.

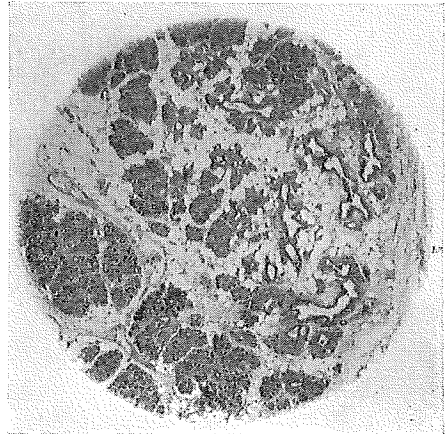


Abb. 28
Männl. Meerschw., 1 γ Oestron pro ccm
während 2 Monaten auf die Zitze aufgetropft.

Versuchen eine Drüsenbildung auf der «andern» Seite nicht nachgewiesen werden (Abb. 31 und 32). Abb. 33 zeigt die Milchdrüse eines stillenden Weibchens. In der grossen Drüse ist der alveoläre Bau verschwunden. Abb. 34 zeigt, dass sich bei subcutan mit Oestron behandelten Tieren Milchdrüsen entwickeln. Wir erhielten die gleichen Bilder bei täglicher Injektion von 5, 10, 50 und 100 γ Oestron, gelöst in 0,2 ccm Sesamöl. Kleinere Dosen wurden noch nicht geprüft.

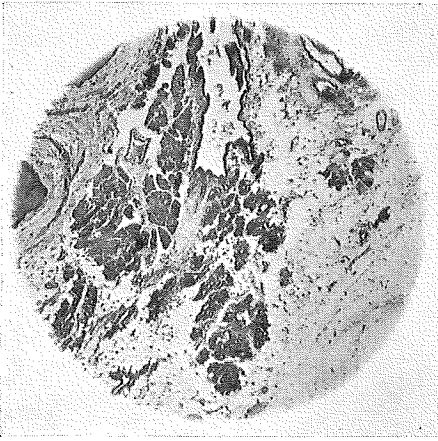


Abb. 29
Männl. Meerschw., 1 γ Oestron pro ccm
während 9 Monaten auf die Zitze aufgetropft.

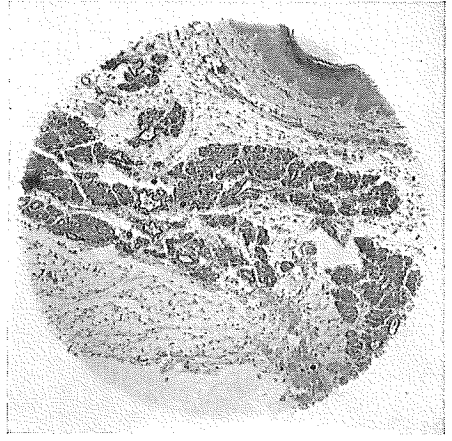


Abb. 30
Männl. Meerschw., 10 γ Oestron pro ccm
während 30 Tagen aufgetropft; unbehandelte Seite.

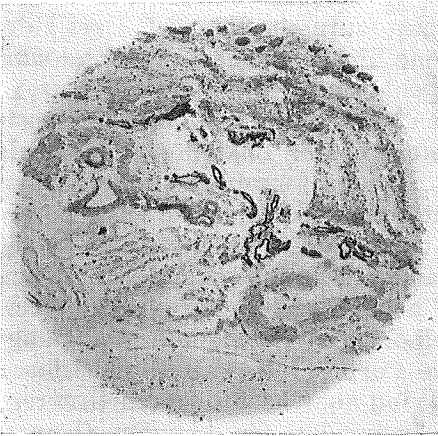


Abb. 31
Männl. Meerschw., 5 γ Oestron pro ccm
während 30 Tagen aufgetropft; unbehandelte Seite.

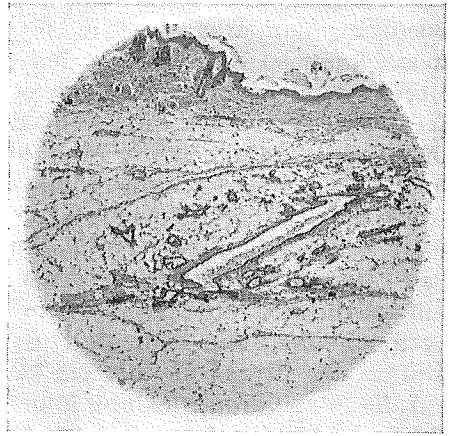


Abb. 32
Männl. Meerschw., 1 γ Oestron pro ccm
während 2 Monaten aufgetropft; unbehandelte Seite.

Aus unseren Versuchen geht ohne weiteres hervor, dass es durch percutane Applikation relativ kleiner Dosen von Oestron gelingt, beim männlichen Meerschweinchen die Ausbildung von Drüsenlappen zu erzeugen, die sich wenigstens qualitativ nicht von denen schwangerer und subcutan injizierter Tiere unterscheiden, während beim stillenden Tier der lappige Bau der Drüse nicht mehr nachweisbar ist. Es seien an dieser Stelle noch einige Feststellungen aus der Literatur mitgeteilt.

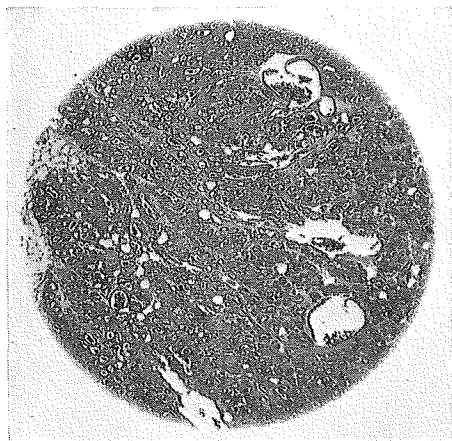


Abb. 33
Stillendes Meerschw., 5 Wochen
post partum.

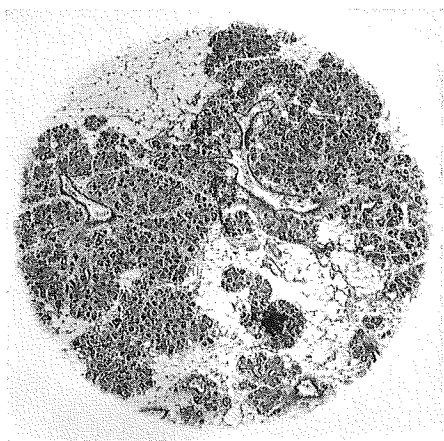


Abb. 34
Männl. Meerschw., 5γ Oestron pro 0,2 ccm
Sesamöl während 30 Tagen subcutan in-
jiziert.

Es besteht noch keine Einigkeit darüber, welchen Hormonen die Umwandlung der Milchgänge in die Milchdrüse zuzuschreiben ist. Drei Hormone kommen in Betracht: das oestrogene Hormon, das Corpus luteum-Hormon und das Hypophysenvorderlappenhormon. HEROLD und EFFKE-MANN schreiben 1939: «Aus den zahlreichen Untersuchungen über die Brustdrüsenentwicklung, sowie über die Physiologie der Laktation wissen wir heute, dass Follikelhormon- und Corpus luteum-Hormonwirkung für den Aufbau des Brustdrüsenparenchyms verantwortlich zu machen sind. So erfolgt nach Zufuhr von Follikelhormon eine lebhaftere Milchgangsprossung und Bildung von viel verzweigten Milchgangsystemen, während das Corpus luteum-Hormon die Alveolarentwicklung nach vorausgegangener Follikelhormonbehandlung bedingt. Die Follikelhormon-Wirkung auf das Gangsystem der Brustdrüse einerseits und die Corpus luteum-Hormonwirkung auf die Alveolarentwicklung andererseits sind aber nach neueren Untersuchungen an die Anwesenheit des HVL gebunden. So konnten GOMEZ, TURNER und REECE zeigen, dass die Entwicklung des Brustdrüsen Gewebes nach Zufuhr dieser beiden Ovarialhormone bei hypophysektomierten Tieren unterbleibt. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Zufuhr von Hypophysenextrakten schwangerer Kühe bei kastrierten Tieren zu der gleichen Brustdrüsenentwicklung führt, wie sie nach kombinierter Follikel-Corpus luteum-Hormonbehandlung eintritt, während die Zufuhr von Hypophysenextrakten nicht schwangerer Kühe keine Brustdrüsenentwicklung bewirkt. Diese Behandlung mit Hypophysenextrakten nichtschwangerer Kühe führt jedoch dann zu der gleichen Brustdrüsenentwicklung, sofern durch Follikelhormonbehandlung eine Umstimmung des HVL nichtschwangerer Tiere erzielt war. Hieraus geht hervor, dass die Wirkung des Follikelhormons keine direkte ist, sondern über den HVL verläuft.»

Bei ELLEN KELLER finden sich folgende Sätze: «Die Entwicklung des Milchgangsystems ist eine Funktion des Follikelhormons, die Ausgestaltung der Alveolaranlage dagegen eine Funktion des Corpus luteum-Hormons. Follikelhormon und Corpus luteum machen die Brust laktationsbereit». Dieser heute ziemlich allgemein akzeptierten Auffassung hat FAUVET in letzter Zeit widersprochen. Hierbei spielt eine Rolle, dass, wie ANSELMINO und HOFFMANN und andere, angegeben haben, beim Meerschweinchen das Corpus luteum-Hormon zur Entwicklung der Drüsenlappen nicht nötig sein soll. Da unsere Versuche an männlichen Meerschweinchen vorgenommen wurden, kommt zur Erklärung der Resultate nur das oestrogene und das HVL-Hormon in Betracht.

Wir haben gesehen, dass bei Applikation einer Lösung, enthaltend 5 γ Oestron pro ccm, auf die Zitze eines Meerschweinchens in 30 Tagen eine Milchdrüse entsteht. Auf der «andern», «unbehandelten» Seite ist dies nicht der Fall. Bei der Applikation von Lösungen, die nur 1 γ Oestron pro ccm enthielten, wurde bei einer zwei Monate dauernden Behandlung ebenfalls nur auf der behandelten Seite die Ausbildung einer Milchdrüse festgestellt.

Wir haben also einen lokalen Effekt (Ausbildung der Milchdrüse) bei fehlendem hämatogenem.¹¹⁾ Dieser Feststellung entsprechen Befunde beim Menschen und beim Affen. Durch die Applikation hormonhaltiger Salben auf die Brust erzielte Mc BRYDE eine wesentlich stärkere Vergrößerung der behandelten als der unbehandelten Brust. CHAMBERLIN, GARDNER und ALLEN fanden nach percutaner Behandlung der Brustdrüse von Affen eine starke Entwicklung der rudimentären Drüsenanlage auf der behandelten Seite, während auf der andern Seite die Wirkung nur schwach war.

Die naheliegendste Erklärung für dieses Phänomen (lokaler Effekt) ist die, dass das Oestron allein für die Ausbildung der Milchdrüse verantwortlich ist, dass es «direkt» wirkt.

Wir glaubten zuerst aus unseren eigenen Versuchen einen Einwand gegen diese Annahme ableiten zu müssen. Wir haben gefunden, dass 10 γ Oestron pro ccm, auf eine Zitze aufgetropft, zu einer Milchdrüsenbildung auf der andern Seite führt. Wir wissen aus unsern Zitzenversuchen (s. S. 42c), dass auf der «andern» «unbehandelten» Seite in diesem Fall nur der 300ste Teil der Oestronmenge zur Wirkung gelangt, der auf die behandelte Zitze wirkt. Wieso genügt diese Menge zur Ausbildung einer Milchdrüse, wenn Lösungen mit 1 γ Oestron pro ccm am Ort der Einwirkung in 30 Tagen nicht genügen? Ist diese Feststellung nicht ein Beweis gegen die «direkte» Wirkung des Oestrone auf die Milchdrüse? Dieser Einwand ist nicht stichhaltig. Er lässt die Tatsache unberücksichtigt, dass an der Milchdrüse der behandelten Seite sicher sehr viel weniger Oestron zur Wirkung kommt als an der Zitze der gleichen Seite.

Gegen die Annahme einer ausschliesslich direkten Oestronwirkung spre-

¹¹⁾ Die Verhältnisse sind genau wie bei der Zitze. Auch hier können wir bei bestimmter Dosierung nur auf der behandelten Seite einen Effekt (Vergrößerung, Akanthose des Epithels und Pigmentierung) feststellen.

chen nun aber die oben erwähnten Befunde aus der Literatur, die darauf hinweisen, dass das oestrogene Hormon «indirekt», auf dem Umwege über die Hypophyse auf die Brustdrüse einwirkt. Wie erklärt sich, wenn man den Umweg über den H V L annimmt, der lokale Effekt bei fehlendem hämatogenem? Es bleibt nichts anderes übrig als eine etwas komplizierte Annahme: direkter und indirekter Effekt auf die Milchdrüse. Man könnte sich das folgendermassen vorstellen: Die Entwicklung der Milchdrüse kommt durch ein Hormon des durch Oestron stimulierten HVL zustande; sie kommt aber nur zustande, wenn die Milchgänge auf die Wirkung dieses Hormons ansprechen; die Milchgänge sprechen aber nur an, wenn sie «direkt» unter Oestronwirkung stehen. 10 γ pro ccm aufgetropft genügen zur Stimulation des HVL und zur Vorbereitung der Milchgänge der behandelten und unbehandelten Seite. Letzteres wäre nicht verwunderlich, denn 10 γ pro ccm aufgetropft genügen ja auch, um die «unbehandelte» Zitze zur Vergrösserung zu bringen. 5 γ Oestron pro ccm aufgetropft genügen zur Stimulation des HVL. Es genügt zur Vorbereitung der Milchgänge auf der behandelten Seite, es genügt aber nicht zur Vorbehandlung der Milchgänge auf der unbehandelten Seite. Letzteres wäre verständlich; wir finden zwar beim Auftropfen von Lösungen mit 5 γ Oestron pro ccm an der unbehandelten Zitze einen Effekt, doch ist er erheblich geringer als wenn Lösungen, enthaltend 10 γ pro ccm, aufgetropft werden (s. T. 11). Müssen wir diese komplizierte Annahme machen? Es ist, wie uns scheint, unmöglich anzunehmen, dass die Entwicklung der Milchdrüse nur «indirekt», über den HVL, erfolgt, denn dann wäre der bei einer bestimmten Dosierung festgestellte lokale Effekt (Entwicklung der Milchdrüse auf der percutan behandelten Seite) bei fehlendem hämatogenem Effekt (keine Milchdrüse auf der «andern» Seite) unverständlich. Es bleibt also nur die eben angeführte Theorie (direkte und indirekte Wirkung), wenn man die oben angeführten Untersuchungen aus der Literatur als richtig ansieht, die sich kurz in den Satz zusammenfassen lassen: ohne Hypophyse keine Milchdrüse. Vielleicht ist dieser Satz aber nicht unumstösslich. SCHMIDT-THOMÉ schreibt: «Oestron bewirkt in gleicher Weise bei männlichen und weiblichen Meerschweinchen Entwicklung der Brustdrüsen. Da diese Wirkung nach ASDELL und SEIDENSTEIN auch bei hypophysektomierten, ovariektomierten Tieren (Kaninchen) eintritt, geht sie nicht über die Hypophyse.»

Das Problem über die Entwicklung der Milchdrüse durch oestrogene Hormone ist, wie sich aus diesen Ausführungen ergibt, nicht vollständig gelöst. Die Bedeutung einer «direkten» Einwirkung des oestrogenen Hormons für die Ausbildung der Milchdrüse geht aber aus unseren Untersuchungen sicher hervor.

Überlegungen zur Sexualhormontherapie auf Grund unserer Tierversuche

Die Resultate von Tierversuchen dürfen nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden. Sie sollten aber auch nicht unberücksichtigt

bleiben, denn sie können u. U. dem Arzt wertvolle Fingerzeige für die Therapie geben. Dies gilt ganz besonders dann, wenn es sich um Behandlungsverfahren handelt, die sich noch im Versuchsstadium befinden. Von diesem Gesichtspunkt aus seien im folgenden einige der wichtigsten, im vorstehenden mitgeteilten Versuchsergebnisse nochmals zusammengefasst. Eine solche Wiederholung des bereits Gesagten erschien uns deswegen zweckmässig, weil die für die Praxis vielleicht wichtigen Feststellungen sonst nur mühsam aufgefunden werden können, da sie in der ganzen Arbeit verstreut sind.

Es besteht augenblicklich «ein Wettlauf der chemischen Industrien um die Einheiten». Es sind jetzt Präparate im Handel, die 10 000 Einheiten = 1 mg weibliches Sexualhormon und mehr im ccm enthalten. Vielleicht ist es gerade deswegen angebracht, darauf hinzuweisen, dass u. U. schon sehr kleine Dosen sehr erhebliche Effekte auslösen können. Täglich ein Tropfen einer Lösung von Oestron auf die Meerschweinchenzitze aufgetropft, bewirkt in einem Monat auch dann einen sehr erheblichen Effekt, wenn sie pro ccm nur 0,05 Einheiten = 0,005 γ = 0,000005 mg enthält. Oestron ist also noch in Verdünnungen von 1 : 200 000 000 bei percutaner Applikation am Ort der Einwirkung recht wirksam. Die gebräuchlichen Salben enthalten 1000 bis 10 000 Einheiten pro g, das entspricht 100—1000 γ oder 0,1—1,0 mg.

Der Versuch an der Meerschweinchenzitze zeigt weiter, dass, wenn man mit der Oestrondosis steigt, der Effekt zunimmt. Es gilt hier aber das Weber-Fechner'sche Gesetz, d. h. grob ausgedrückt: einem relativ grossen Dosiszuwachs entspricht nur eine relativ geringe Zunahme des Effektes. Das wichtigste Ergebnis unserer Versuche über das Verhältnis von Dosis und Wirkung an der Meerschweinchenzitze erscheint uns aber folgende Feststellung. Eine Steigerung der Dosis über ein gewisses Optimum hinaus bewirkt eine Abnahme des Effektes. Lösungen, die 10 γ pro ccm enthalten, d. h. Lösungen von etwa 1 : 100 000 wirken, percutan auf eine Zitze appliziert, sehr viel weniger als zehnmal schwächere Lösungen. Es existiert also ein optimaler Dosisbereich. Ein Überschreiten der optimalen Dosis bewirkt eine rapide Wirkungsverminderung, und zwar sind es keineswegs hohe Konzentrationen, die schon nicht mehr optimal wirken. Die Bedeutung dieses für uns unerwarteten Befundes scheint uns auch deswegen besonders gross, weil er sich nicht nur bei percutaner Applikation am Ort der Einwirkung erheben liess. Auch bei percutaner Applikation an entfernter Stelle erwiesen sich «grössere» Dosen als weniger wirksam als kleinere. Auch bei subcutanen Injektionen, das müssen wir hervorheben, beobachteten wir das gleiche Phänomen. Es ist übrigens nicht nur mit Oestron, sondern auch mit anderen weiblichen Sexualhormonen feststellbar, bei solchen, die Sterone sind, aber auch bei den Stilbenen. Wir möchten noch betonen, dass auch dann, wenn das Hormon auf dem Blutweg an die Zitze gelangt (subcutan injiziert oder nach percutaner Applikation auf die «andere» Zitze), die nicht mehr optimal wirkenden Dosen keineswegs sehr grosse sind. So ist bei täglicher subcutaner Injektion eine Dosis von 100 γ pro die zu gross, um einen maximalen Effekt an den Zitzen auszulösen.

Wir wollen an dieser Stelle die Frage nicht näher besprechen, inwiefern diesem Phänomen eine allgemein biologische und damit allgemein medizinische Bedeutung zukommt. Wir sind uns vollkommen klar darüber, dass es sich hier um Befunde an der Meerschweinchenzitze handelt. Gelten sie auch für andere Organe? Ein Befund von GARDNER spricht dafür, denn dieser Autor hat ganz analoge Beobachtungen an den Milchdrüsen von Mäusen und Affen gemacht. Auch das sind Tierversuche. Wir wollen mit unseren Schlussfolgerungen äusserst vorsichtig sein, aber wir glauben, dass unsere Versuche zusammen mit denjenigen anderer Autoren zu folgender Anregung berechtigen:

Die Ärzte, die Sexualhormone bei der Behandlung von verschiedenen Erkrankungen benutzen, sollten bedenken, dass man im Tierversuch u. U. schon mit sehr geringen Dosen erhebliche Effekte auslösen kann, dass eine Steigerung der Dosis u. U. nicht zu einer entsprechenden Wirkungssteigerung führen muss, ja dass u. U. eine grössere Dosis einen viel geringeren Effekt haben kann als eine kleinere. Es scheint nach den vorliegenden Laboratoriumsbefunden berechtigt, bei Versagern der Sexualhormontherapie mit grösseren Dosen einmal zu probieren, was sich mit viel kleineren Dosen erzielen lässt. Diese Überlegungen gelten für die Injektionsbehandlung wie für die percutane.

Wir haben nachgewiesen, dass man durch die Verwendung sehr verdünnter Oestronlösungen beim Meerschweinchen am Ort der Einwirkung sehr erhebliche Wirkungen erzielen kann, bei minimalem Effekt auf andere, nicht direkt behandelte Organe. (Grosser lokaler Effekt bei minimalem hämatogenem.) Nach unseren neuen Erfahrungen müssen wir uns die Frage vorlegen, ob man durch die Verwendung hochkonzentrierter Sexualhormonlösungen nicht gelegentlich gerade das Gegenteil von dem erreicht, was man will, nämlich einen starken hämatogenen Effekt bei geringem lokalem. Wenn man bei Meerschweinchen die eine Zitze mit relativ konzentrierten Sexualhormonlösungen behandelt, die andere aber ohne Behandlung lässt, so erscheint das Resultat auf den ersten Blick paradox. Die behandelte Zitze hat sich nämlich erheblich weniger vergrössert als die unbehandelte. Dieser Versuchsausfall ist nichts anderes als eine Bestätigung unserer Feststellung, dass grössere Dosen u. U. erheblich weniger wirken als kleinere. Am Ort der Applikation kommt mehr Sexualhormon zur Wirkung als an entfernter Stelle, zu viel, um eine maximale Wirkung zu erzielen, während die geringeren, an die andere Zitze auf dem Blutweg gelangenden Hormonmengen maximal wirken können. Es ist gerechtfertigt, die Ärzte, die durch eine lokale Applikation von Sexualhormonpräparaten einen Effekt erzielen wollen, auf unsere zwei verschieden behandelten Meerschweinchenreihen hinzuweisen: auf diejenige, die mit kleinen Dosen behandelt wurde und bei der die behandelte Zitze gross, die unbehandelte klein ist, und auf die mit etwas grösseren Dosen behandelten, bei der die behandelte Zitze sehr viel kleiner ist als die unbehandelte. Vielleicht lassen sich bei der percutanen lokalen Behandlung von Hauterkrankungen des Menschen durch Herabsetzung der Dosen Erfolge erzielen, die mit den grösseren nicht zu erreichen

sind. Auf diese Weise könnten ungewollte Nebenwirkungen, Wirkungen auf andere Organe, z. B. Schwellungen der Brüste oder Beeinflussung der Menses, vermieden werden. Solche Überlegungen sind vielleicht nicht nur angebracht bei den Versuchen, Hautveränderungen durch die lokale percutane Applikation von weiblichem Sexualhormon zu behandeln, sondern sie führen auch zur Frage, ob es nicht gerechtfertigt ist zu versuchen, Veränderungen der weiblichen Genitalschleimhaut mehr als bisher mit weiblichen Sexualhormon-Präparaten lokal zu behandeln. Solche Versuche wären nicht einmal kostspielig, selbst wenn man statt Auspinselungen und Tampons Spülungen verordnen würde, denn es könnten Versuche mit kleinen Dosen vorgenommen werden, und statt der teuren Sterone die billigeren Stilbene verwendet werden.

Percutane Sexualhormontherapie kann man aus zwei Gründen versuchen. Einmal deswegen, weil man am Ort der Applikation einen besonders starken Effekt erzielen will, während man an anderen Stellen möglichst geringe Veränderungen auslösen möchte. Hierauf beziehen sich z. T. unsere bisherigen Ausführungen. Wir möchten sie noch durch die Erwähnung von folgenden Tierversuchen ergänzen: Es gelingt durch das Auftropfen von Oestronlösungen auf eine Zitze nicht nur eine Vergrößerung der Zitze zu erzielen, sondern es lassen sich auch Veränderungen der Milchdrüse erreichen, oder besser gesagt: durch diese Behandlung entsteht aus den wenigen beim Männchen vorhandenen Milchgängen eine richtige alveoläre Milchdrüse, die qualitativ der Drüse eines schwangeren Meerschweinchens entspricht. Die hierzu notwendigen Dosen scheinen wesentlich grösser zu sein als diejenigen, die Veränderungen der Zitze bewirken. Unsere quantitativen Versuche sind hier allerdings noch nicht zahlreich genug. Eines können wir aber jetzt schon mit Sicherheit sagen: sehr gross sind die benötigten Dosen auch für den Milchdrüseneffekt nicht. Lösungen mit 5 γ pro ccm, von denen täglich ein Tropfen appliziert wurde, genügen in 30 Tagen zum Aufbau einer «richtigen» Milchdrüse beim männlichen Meerschweinchen. Rechnen wir 20 Tropfen pro ccm und nehmen wir an, dass alles resorbiert wird, was sicher nicht der Fall ist, so wurden einem Meerschweinchen während 30 Tagen im ganzen 7,5 γ Oestron oder 75 Einheiten appliziert. Diese Dosis genügt zur Ausbildung einer Milchdrüse. Diese Dosis genügt aber nur für die behandelte Seite. (Die doppelte Dosis auf eine Zitze appliziert bewirkt Milchdrüsenentwicklung auf beiden Seiten.) Die Beobachtung des einseitigen (lokalen) Effektes bei bestimmter Dosierung ist theoretisch interessant, denn er beweist, dass der Einfluss von weiblichem Sexualhormon auf die Milchdrüse nicht nur, wie angenommen wurde, ein indirekter sein kann. Man nimmt auf Grund von Tierversuchen an, dass das weibliche Sexualhormon indirekt wirkt, indem es die Hypophyse stimuliert, deren Hormone dann die Milchdrüse zur Entwicklung bringen. Ob das zutrifft, können wir nicht entscheiden; auf jeden Fall muss aber auch ein direkter Einfluss des weiblichen Sexualhormons auf die Milchdrüsen vorhanden sein, denn sonst liessen sich unsere Versuchsergebnisse ebenso wenig erklären wie die bereits früher veröffentlichten Resultate von MCBRYDE und GARDNER die bei Men-

schen und Affen grössere Brüste auf der behandelten Seite feststellen konnten. Praktisch haben diese Befunde insofern eine Bedeutung, als sie zeigen, dass eine lokale Behandlung hypotrophischer Brüste mit Sexualhormonpräparaten vielleicht doch aussichtsreicher ist als eine mit subcutanen Injektionen von weiblichem Sexualhormon. Ob eine solche Behandlung allerdings ganz harmlos ist, möchten wir nicht entscheiden. Auf jeden Fall erscheint es uns ganz falsch, wenn sie heute schon vielfach ohne jede ärztliche Kontrolle durchgeführt wird.

Wir haben ganz vereinzelt solche Versuche beim Menschen durchgeführt. Wir haben den Eindruck grosser individueller Differenzen in Bezug auf das Ansprechen auf solche Behandlungsversuche. Vielleicht erklärt sich das dadurch, dass zur Entwicklung der Milchdrüse eine direkte und eine indirekte (über die Hypophyse gehende) Einwirkung von weiblichem Sexualhormon notwendig ist. Je nach der Pathogenese der Hypotrophie der Brust wäre, so kann man sich denken, die Behandlung mit percutanen lokalen Applikationen von weiblichem Sexualhormon wirksam oder nicht.

Einen praktisch brauchbaren Fingerzeig ergeben vielleicht unsere Versuche, Milchdrüsenentwicklung mit kleineren Dosen als 5 γ pro ccm zu erzielen. Mit Lösungen, die nur 1 γ pro ccm enthielten, hatten wir nach einem Monat täglichen Auftropfens ein negatives oder fast negatives Resultat. Durch eine länger dauernde Behandlung erzielten wir aber doch noch ein einwandfrei positives Ergebnis. Daraus möchten wir nur die eine Schlussfolgerung ziehen: Es ist vielleicht gelegentlich zweckmässig, eine Behandlung längere Zeit fortzusetzen, da man u. U. mit einer längeren «Inkubationszeit» rechnen muss. Man kann aber andererseits u. U. schon nach sehr kurzer Zeit einen Effekt der Oestrontherapie feststellen. Das beweist nicht nur der Allen-Doisy Test, sondern auch das Verhalten der Zitze, die sich nach wenigen Applikationen oestrogenen Hormons nicht nur vergrössert hat, sondern deren Epithel eine starke Verbreiterung aufweist.

Wir haben weiter oben gesagt, dass man aus zwei Gründen sich veranlasst sehen kann, das Sexualhormon percutan zu applizieren. Der erste Grund ist der, dass man an der Applikationsstelle einen möglichst starken Effekt bei minimalem, hämatogenem Effekt erzeugen möchte. Hiervon war bisher die Rede. Man kann nun aber auch das Hormon dann percutan applizieren, wenn man einen hämatogenen Effekt erzielen will. Einen Grund hierfür kann der Wunsch sein, ohne Spritze zum Ziel zu kommen. Dann kommen der percutane und der perorale Weg in erster Linie in Betracht. Auf Grund vieler Angaben in der Literatur muss man das Aufgeben der Spritze mit einer erheblichen Wirkungseinbusse bezahlen. Ist dies aber wirklich für alle Erfolgsorgane zutreffend? ZONDEK hat bereits darauf hingewiesen, dass es den Anschein hat, dass man percutan noch weniger Hormon zur Brustdrüsenreaktion benötigt als subcutan. Unsere quantitativen Versuche haben gezeigt, dass von der einen Zitze percutan resorbiertes Oestron auf die andere Zitze wesentlich stärker wirkt als eine entsprechende subcutan injizierte Oestronmenge. Hier scheinen sich uns wichtige neue Aufgaben für das Laboratorium und für die Klinik zu zeigen. Eine grössere

Anzahl Fragen müssen beantwortet werden: Gilt die obige Feststellung für Oestron auch für andere oestrogene Hormone? Welche Hormone sind bei percutaner Applikation an entfernter Stelle am wirksamsten? Welche Organe verhalten sich wie die Zitze des Meerschweinchens, und welche wie der Uterus der Maus, bei dem augenscheinlich die percutane Applikation der subcutanen wesentlich unterlegen ist? Welche Rolle spielt der Applikationsort auf der Haut, welche Rolle das Vehikel, u. a. m.? Diese Fragen müssen untersucht werden, denn es besteht die Möglichkeit, dass durch besonders geeignete percutane Applikation bestimmter oestrogener Hormone Effekte erzielt werden könnten, die sich durch subcutane Injektionen nicht in gleicher Weise erzielen lassen. Es handelt sich also nicht nur darum, durch den percutanen Applikationsweg von der Spritze loszukommen, was allerdings an sich schon in den Fällen, in denen eine langdauernde Behandlung in Betracht kommt, ein grosser Vorteil ist. Je mehr sich das Indikationsgebiet für Sexualhormone erweitert (man denke an die Versuche bei Diabetes mellitus, Ulcus ventriculi und Basedow'scher Krankheit), um so wichtiger erscheinen solche Experimente.

Die Anzahl der Substanzen mit oestrogener Wirkung nimmt ständig zu. Zu den Steronen haben sich die Stilbene hinzugesellt. Die Wirkungen der verschiedenen Präparate werden verglichen. Man findet in der Literatur Angaben: das Präparat X ist so und so viele Male wirksamer als das Präparat Y. Aber solche Angaben sind vollkommen ungenügend. Es muss erstens einmal hinzugefügt werden, mit welchem Test die Prüfung vorgenommen wurde. Oestradiol soll der Literatur nach erheblich wirksamer sein als Oestron. Werden die beiden Präparate im lokalen Nipple Test miteinander verglichen, so ergibt sich kein Unterschied. Für diese Divergenz bestehen a priori verschiedene Erklärungsmöglichkeiten: Der Unterschied kann darauf beruhen, dass in den Versuchen der Literatur das Oestradiol injiziert wurde, im lokalen Nipple Test wurde es lokal appliziert. Diese Erklärung trifft im speziellen Fall jedenfalls nicht zu, denn wir konnten auch im Nipple Test nach subcutaner Injektion einen Unterschied in der Wirkung von Oestron und Oestradiol nicht feststellen. Eine zweite Erklärungsmöglichkeit ist die, dass in den Versuchen, in denen sich das Oestradiol als wirksamer erwies als das Oestron, Mäuse verwendet wurden, in unseren Versuchen aber, bei denen die beiden Präparate gleich wirksam waren, Meerschweinchen. Ob diese Erklärung zutrifft, wurde noch nicht experimentell überprüft. Es gibt nun aber noch eine weitere Erklärungsmöglichkeit: Die divergenten Befunde über das Verhältnis der Oestron- zur Oestradiolwirkung könnten nicht auf der Verwendung verschiedener Tierarten, sondern auf der Verwendung verschiedener Testorgane beruhen. Wenn es gelingt, dies einwandfrei nachzuweisen, dann ist das vielleicht von sehr grosser Bedeutung. Es ist dann nämlich bewiesen, dass die verschiedenen Organe auf die verschiedenen weiblichen Hormone verschieden gut ansprechen. Die möglichen praktischen Konsequenzen liegen auf der Hand. Dann könnte das Vorhandensein von so verschiedenen weiblichen Sexualhormonen viel wichtiger werden, als dies heute der Fall ist.

Die Verwendung weiblicher Sexualhormone ist heute sehr verbreitet. Es ist wohl kein Zweifel, dass wesentliche Erfolge erzielt werden; es ist aber ebenso sicher, dass viele Resultate nicht mit der genügenden Kritik ausgewertet werden. Sehr oft werden diese Präparate ohne jede ernstere Indikationsstellung verordnet. Sie finden sich in kosmetischen Präparaten, die ohne ärztliche Ueberwachung zur Verbesserung des Teints, zur Vergrößerung der Brüste etc. in grossem Maßstab angewendet werden. Wir wollen hier nicht nochmals auf das viel diskutierte Problem weibliches Sexualhormon und Krebs eingehen. (Vergl. S. 8.) Auf einen Punkt, den wir allerdings auch schon besprochen haben, sei hier nochmals kurz hingewiesen. Die Versuche an der Zitze zeigen, dass mit weiblichen Sexualhormonen erzeugte Veränderungen nicht unter allen Umständen sich rasch und vollkommen zurückbilden müssen. Das muss man sich, wenn man diese Präparate verordnet, immer vor Augen halten. Es scheint wenigstens an der Zitze so zu sein, dass der Effekt um so länger bestehen bleibt, je länger die Behandlung gedauert hat. Das kann sehr erfreulich sein, wenn die Behandlung das erreicht hat, was sie erreichen sollte. Wenn aber eine ungewollte Nebenwirkung aufgetreten ist? Und eine solche Nebenwirkung kann u. U. erst nach längerer «Inkubationszeit» manifest werden. Das sind alles Überlegungen, die vielleicht nur ausnahmsweise zutreffen. Sie basieren aber auf exakten Tierversuchen, und es ist keineswegs gesagt, dass das an der Zitze festgestellte Verhalten nicht auch an anderen Organen in der Regel, oder wenigstens häufig, festgestellt werden kann, wenn man genau beobachtet. Sollte einmal ein solcher unerwünschter Effekt aufgetreten sein, dann wird man sich an die Antagonisten der weiblichen Sexualhormone erinnern: an die männlichen Sexualhormone. Dass sie Antagonisten sind, das ist auch durch unsere Versuche an der Zitze bewiesen. Der Antagonismus zeigt sich zwar nicht unter allen Umständen; es sind auch synergistische Wirkungen bekannt. Aber selbst wenn ein Antagonismus besteht, so ist noch keineswegs gesagt, dass es ohne weiteres gelingt, die unerwünschte Wirkung des weiblichen Sexualhormons wieder rückgängig zu machen. 5000 γ Testosteronpropionat verhindern das Auftreten der durch 1 γ Oestron erzeugten Wirkung an der Zitze nicht einmal dann vollständig, wenn beide Präparate gleichzeitig gegeben werden.

Wir haben in der Einleitung unserer Arbeit darauf hingewiesen, dass unsere Zitzenversuche noch keineswegs abgeschlossen sind. Wir haben aber doch schon Resultate erzielt, die nicht nur rein wissenschaftlich ein gewisses Interesse beanspruchen dürfen, sondern sie haben die Grundlage abgegeben zu Überlegungen über die Sexualhormontherapie. Bis jetzt sind es nur Anregungen, die wir auf Grund unserer Nipple Test-Versuche machen konnten, ja eigentlich sind es nur Fragen, die aufgeworfen wurden. Es ist aber vielleicht ganz nützlich, wenn auf Grund von experimentellen Feststellungen kritische Fragen gestellt werden auf einem Gebiet, auf dem leider so viele Aussagen noch auf mehr oder weniger vagen klinischen Eindrücken basieren.

Der Nipple Test ist eine biologische Messmethode. Allen biologischen

Messmethoden haften erhebliche Fehler an. Diese müssen berücksichtigt werden. Wenn dies geschieht, so ergibt das Verfahren wertvolle Resultate, denn es gestattet, den Einfluss einer biologisch sehr wichtigen Gruppe von Substanzen auf ein bestimmtes Testorgan quantitativ zu verfolgen. Die Methode ist sehr empfindlich, relativ einfach und nicht allzu zeitraubend. Es ist nicht notwendig, dass die zu prüfenden Substanzen chemisch rein vorliegen, die Methode ergibt z. B. mit Urinen von Mensch und Tier zuverlässige Resultate. Wir glauben daher, dass der Nipple Test ein gewisses physiologisches und klinisches Interesse beanspruchen darf.

Zusammenfassung

Die durch Ovarienimplantation und durch die Injektion von Ovarial- und Placentaextrakten erzielte Zitzenvergrößerung kommt durch «weibliche» Sexualhormone vom Typus des Oestrone, Oestradiols etc. zustande.

Die oestrogenen Hormone bewirken eine starke Akanthose des Zitzenepithels, die auffällig rasch eintritt.

Sie bewirken ferner eine Hyperpigmentierung von Zitze und Zitzenhof. Es handelt sich hierbei nicht, oder nicht nur um eine Vermehrung des Pigmentes in den Melanoblasten, sondern um die Ausbildung einer pigmentierten Akanthose. Zitzenvergrößerung, Akanthose und Hyperpigmentierung kommen direkt, und nicht auf einem Umwege (z. B. über die Hypophyse) zustande.

Es wird die Technik der Messung der Meerschweinchenzitze besprochen. Die Frage nach der Berechtigung der Einführung eines neuen Tests für «weibliche» Sexualhormone wird aus verschiedenen Gründen bejaht.

Es werden verschiedene Formen des Nipple Test besprochen, der hämatogene nach subcutaner Injektion der zu prüfenden Substanz, der «percutane hämatogene» und der lokale Nipple Test.

Es werden die Bedingungen, unter denen der lokale Effekt gross, der percutane hämatogene minimal ist, besprochen. Es wird gezeigt, wie trotz der individuellen Schwankungen, durch Verwendung zahlreicher Zitzen, sehr gute Resultate erzielt werden können, da statistische Methoden zur Berechnung der Fehler anwendbar sind. Der Nipple Test erfüllt die Anforderungen, die man an eine biologische Messmethode stellen darf.

Untersuchungen über die Dosis und Wirkung im lokalen Nipple Test ergeben 1. die grosse Empfindlichkeit des lokalen Nipple Test, 2. die Feststellung, dass in einem gewissen Dosisbereich das Weber-Fechner'sche Gesetz gilt, 3. dass bei einer gewissen Dosis ein Maximum der Wirkung erreicht wird und 4., dass bei weiterer Vergrößerung der Dosis eine Abnahme der Wirkung erfolgt.

Nicht nur Oestron, Equilin und Equilenin bewirken, auf die Zitze appliziert, eine Vergrößerung derselben, sondern auch Androstendion, Androstandion und auch, das muss speziell betont werden, Testosteronpropionat und Androsteron (bisexuelle Hormone). Die «männlichen» Sexualhormone wirken in den geprüften Dosen weniger stark als die «weiblichen». Auch Corticosteron

und Adrenosteron sind wirksam. Anol wirkt nicht. Positive Resultate sind auf bei längerer Aufbewahrung entstandene Umwandlungsprodukte zurückzuführen. Quantitative Versuche zeigen, dass im lokalen Nipple Test ein Unterschied in der Wirkung von α -Oestradiol und Oestron nicht festgestellt werden kann. Oestradioldipropionat wirkt etwas stärker als diese beiden Präparate. Stilböstrol wirkt qualitativ genau wie Oestron. Kleine Dosen sind im lokalen Nipple Test wirksamer als die entsprechenden Oestron Dosen; die erzielte maximale Zitzenvergrößerung ist aber etwas geringer als die durch Oestron bedingte. p, p' -Dioxydiphenylhexandisuccinat wirkt, soweit untersucht, ebenso wie Stilböstrol. Das wasserlösliche Natriumstilböstrol hat einen deutlichen Effekt im lokalen Nipple Test.

Die Untersuchung von Urinen von Mensch und Tier im lokalen Nipple Test ergab bei viel geringerem Tierverbrauch und Arbeitsaufwand analoge Resultate wie der Allen-Doisy Test.

Bei lange fortgesetzter Oestronapplikation bleibt der erzielte Effekt an der Zitze bestehen. Nach Aussetzen der Behandlung nimmt er ab, allerdings nur sehr langsam, speziell wenn lange behandelt wurde. Es kommt nicht mehr zum Status quo ante.

Die subcutane Injektion von Oestron bewirkt eine Vergrößerung der Zitze. Bis zu einer gewissen Dosis gilt der Satz: Je grösser die Dosis, um so grösser der an der Zitze feststellbare Effekt. Wird aber eine bestimmte Dosis überschritten, so vergrössert sich die Zitze erheblich weniger stark. 1γ Oestradioldipropionat täglich subcutan injiziert wirkt stärker als 1γ Oestron, während 1γ Oestradiol, ebenfalls täglich subcutan injiziert, im Gegensatz zu den Erfahrungen im Allen-Doisy Test, nicht wirksamer ist als Oestron.

Bei der percutanen Behandlung nur einer Zitze des Meerschweinchens durch Auftropfen von Sexualhormonlösungen lassen sich folgende Feststellungen machen: 1. Bis zu einer gewissen Dosis wird die «unbehandelte» Zitze um so grösser, je grösser die auf die «andere Zitze» applizierte Dosis ist. 2. Die unbehandelten Zitzen werden durch das percutan auf die «andere» Zitze applizierte in Aceton und Wasser gelöste Oestron stärker vergrössert, als wenn entsprechende Sexualhormonmengen in Sesamöl gelöst subcutan injiziert werden. 3. «Grosse» percutan auf die «andere» Zitze applizierte Sexualhormonmengen bewirkten ein weniger starkes Zitzenwachstum als etwas kleinere Dosen. 4. Bei der Verwendung grösserer Dosen ist die behandelte Zitze kleiner als die unbehandelte.

Die Hoden hemmen die durch percutane Oestronapplikation erzeugte Zitzenvergrößerung, ebenso Testosteronpropionatinjektionen. Bei der subcutanen Injektion von Oestron-Testosteronpropionatgemischen hemmt das Testosteronpropionat die Wirkung des Oestrone auf die Zitze, doch genügt auch die 5000fache Menge Testosteronpropionat nicht, um die Wirkung von 1γ Oestron aufzuheben.

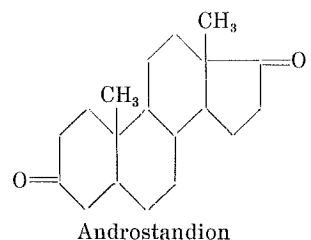
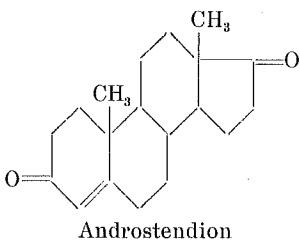
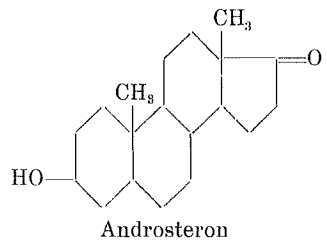
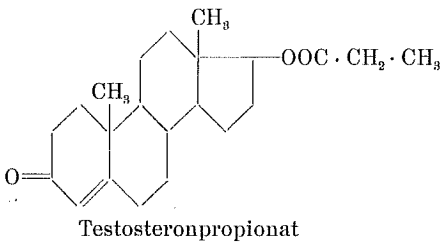
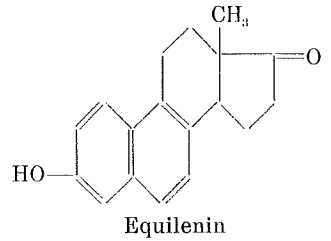
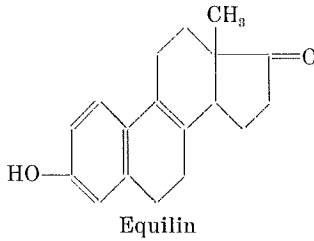
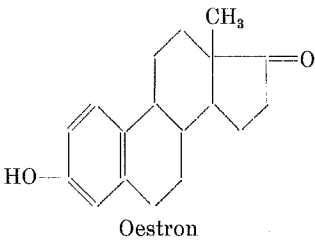
$0,1 \gamma$ ccm Oestron, auf die Zitzen weiblicher Meerschweinchen aufgetropft, bewirkte eine geringere Zitzenvergrößerung als die gleiche Dosis bei Männchen und bei Kastraten.

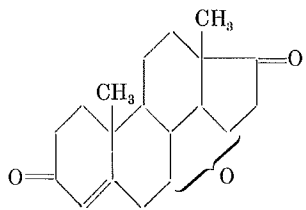
Während der Gravidität nimmt die Zitzenlänge allmählich zu. Unmittelbar post partum erfolgt eine plötzliche, durch das Saugen der Jungen bedingte oder mitbedingte Zitzenverlängerung.

Subcutane Prolaninjektionen bewirken bei Weibchen eine deutliche Zitzenverlängerung.

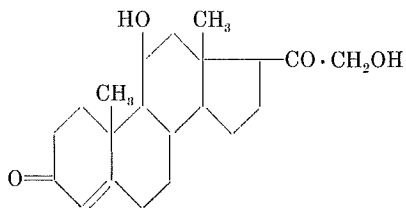
Durch percutane Applikation relativ kleiner Dosen von Oestron gelingt es beim männlichen Meerschweinchen, die Ausbildung von alveolären Milchdrüsen zu erzeugen, die sich, wenigstens qualitativ, nicht von denen schwangerer und subcutan mit Oestron injizierter Tiere unterscheiden, während beim stillenden Tier der lappige Bau der Drüse nicht mehr nachweisbar ist. Durch Auftropfen bestimmter Oestronmengen auf die eine Zitze gelingt es, nur auf der behandelten Seite eine Milchdrüse zu erzeugen. Wir haben unter gewissen Bedingungen einen lokalen Effekt (Ausbildung der Milchdrüse) bei fehlendem hämatogenem (keine Milchdrüse auf der «anderen», «unbehandelten» Seite).

Formeln der in der Arbeit verwendeten Substanzen

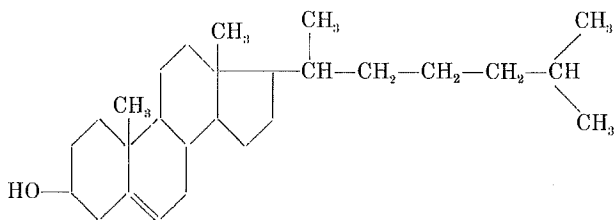




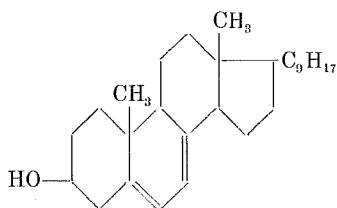
Adrenosteron



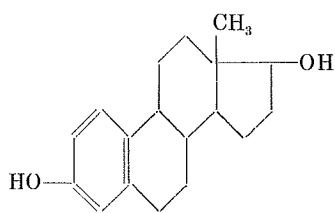
Corticosteron



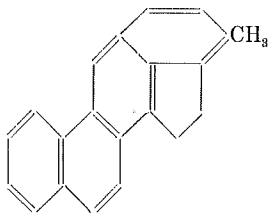
Cholesterin



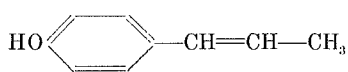
Ergosterin



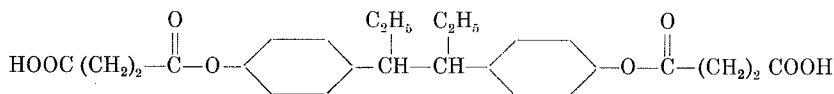
Oestradiol



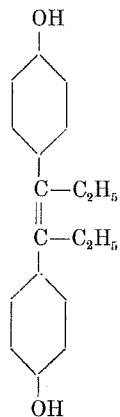
Methylcholanthren



Anol



p,p'-Dioxydiphenylhexandisuccinat



Stilböstrol

Literaturverzeichnis

- ALLEN, E., GARDNER, W. U. und SMITH, G. M.: *Endocrinology* 21, 412 (1937).
- ANSELMINO, K. J. und HOFFMANN, F.: *Zbl. Gyn.* 47, 2770 (1934).
- ASDELL, S. A. und SEIDENSTEIN, H. R.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 32, 931 (1935).
- BASTENIE, B. und ZYLBERSZAC: *Arch. internat. de méd. exp.* 13, 183 (1938).
- BLOCH, B. und GULDBERG, G.: *Klin. Wschr.* 1933, 734.
- und SCHRAFL, A.: *Arch. Dermat.* 165, 268 (1932).
- BOTTOMLEY, A. C. und FOLLEY, S. J.: *Proc. of the Royal Soc. of London*, 126, 224 (1939).
- und FOLLEY, S. J.: *Chemistry and Industry* 56, 1054 (1937).
- und FOLLEY, S. J.: *Proc. of the Physiol. Soc.* 92, (1938).
- BÜLBRING und BURN: *J. of Physiol.* 85, 320 (1935).
- BURN: *Biologische Auswertungsmethoden*. Verl. J. Springer, Berlin (1937).
- BUTENANDT, A.: *Ztschr. f. physiol. Chemie* 191, 151 (1930).
- und KUDSZUS, H.: *Biochem. Zeitschr.* 237, 75 (1935).
- CAFFIER, P. und SIRRY-OEZKAYAALP: *Zbl. Gyn.* 1941, 50.
- CHAMBERLIN, T. L., GARDNER, W. U. und ALLEN, E.: *Endocrinology* 28, 753 (1941).
- CHODOWSKI, K.: *Protoplasma* 28, 597 (1937).
- CLAUBERG, C.: *Zwangoose Abhandlungen aus dem Gebiete der innern Sekretion*, Bd. 2 (1937).
- COURIER, R. und COHAN-SOLAL: *C. r. soc. biol.* 124, 925 (1937).
- und GROS, G.: *C. rendus des séances de la soc. de biologie* 128, 194 (1938).
- DANNENBAUM, H.: *Ergebnisse der Physiologie* 38, 796 (1936).
- DEANSLY, R. und PARKES, A. S.: *Proc. Roy. Soc. London*, s. B. 124, 279 (1937).
- DESSAU, F.: *Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 58, 344 (1938).
- DINGEMANSE, E. und LAQUEUR, E.: *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* (1940), 3287.
- DODDS, E. C., GOLDBERG, L., LAWSON, W. und ROBINSON, R.: *Nature* 141, 247 (1938).
- und LAWSON, W.: *Nature* 139, 627 (1937); 139, 1068 (1937).
- LAWSON, W. und NOBLE, R. L.: *Lancet* 234, 1389 (1938).
- DUSTIN, A. P.: *Jubilee Vol. of Prof. J. de Moor*, (1937).
- FAUVET, E.: *Zbl. Gyn.* 1941, 580 u. 1566.
- FECHNER: cit. nach Meyers Lexikon, Bibliograph. Inst., Leipzig, (1927).
- FIERZ, F.: *Helv. chim. acta* 22, 989 (1939).
- FIERZ, H. E., JADASSOHN, W. und UEHLINGER, E.: *Schweiz. med. Wschr.* 37, (1938) 1056.
- JADASSOHN, W., UEHLINGER, E. und MONNIER, R.: *Nature* 141, 974 (1938).
- FRANKE, H.: *Münchener med. Wschr.* 45, (1939).
- FREUD, J.: *Biochem. J.* 27, 1438 (1933).
- FUSSGÄNGER, B.: *Medizin und Chemie* 2, 194 (1934).
- GALLAGHER, T. F. und KOCH, F. C.: *J. biol. Chem.* 84, 495 (1929).
- PETERSOHN, D. H., DORFMAN, R., KENYON, A. T. und KOCH, F. C.: *J. of clinical investigation* 16, 695 (1937).
- GARDNER, W. U.: *Endocrinology* 28, 53 (1941).
- und PFEIFFER, C. A.: *Proc. soc. exp. biol. med.* 38, 599 (1938).
- GEIST, S. H. und SALMON, N. J.: *Amer. J. of obstetrics and gynaecology* 41, 29 (1941).
- GESCHICKTER, C. F.: *Amer. J. of Roentgenology and Radium Therapy*, 39, 90 (1938).
- GOMEZ, TURNER und REECE: *Proc. soc. exp. biol. med.* 34, 404 (1936).
- GRIMSEHL: *Lehrbuch der Physik*, Bd. I, 11. Aufl., S. 599 (1940). Verl. Teubner, Leipzig, Berlin.

- GRUMBRECHT, P. und LOESER, A.: Arch. Gyn. *168*, 889 (1939); *167*, 373 (1938).
 — und LOESER, A.: Arch. exp. Pathol. Pharm. *190*, 376 (1938).
- GUSTAVSON, R. O., MASON, L. W., HAYS, E. E., WOOD, T. R. und D'AMOUR, F. E.: Amer. J. of Obstetrics and Gynaecology *35*, 115 (1938).
- GUYÉNOT, HELD und MOSZOWSKA: Comptes rendus des Sciences de la soc. de Phys. et d'Hist. Nat. de Genève, *53* (1936).
- HAMILTON, M. B.: Proc. soc. exp. biol. *40*, 502 (1939).
- HEROLD, L. und EFFKEMANN, G.: Klin. Wschr. *13*, 455 (1939).
- HIRSCH-HOFFMANN, H. U.: Arch. Gyn. *168*, 295 (1939).
- HOFFMANN, F. R. und TREITE: Zbl. Gyn. 1940, 1603.
- HOUSSAY, B. A., GIUSTI, L. und LASCAÑO-GOUZALES, J. P.: C. R. Biol. *107*, 1203 (1931).
- HUF, E.: Klin. Wschr. *20*, 729 (1941).
- JADASSOHN, W.: Schweiz. med. Wschr. *14*, 313 (1939).
 — und FIERZ, H. E.: Schweiz. med. Wschr. *50*, 1554 (1941).
 — FIERZ, H. E. und PFANNER, E.: Helv. chim. acta *25*, 3 (1941).
 — FIERZ, H. E. und RUFFONI, G.: Helv. chim. acta *23*, 569 (1940).
 — und SCHAAF, F.: Klin. Wschr. *23*, 845 (1934).
 — UEHLINGER, E. und MARGOT, A.: Schweiz. Naturforsch. Ges., 186 (1937).
 — UEHLINGER, E. und MARGOT, A.: Revue de Path. comp. et d'Hyg. gén. *38*, 570 (1938).
 — UEHLINGER, E. und MARGOT, A.: J. invest. dermat. *1*, 31 (1938).
 — UEHLINGER, E. und FIERZ, H. E.: Schweiz. med. Wschr. *1*, 6 (1941).
 — UEHLINGER, E. und ZÜRCHER, W.: Klin. Wschr. *9*, 313 (1937).
 — UEHLINGER, E. und ZÜRCHER, W.: Helv. med. acta *4*, 199 (1937).
- DE JONGH, S. E., KOK, D. J. und VAN DER WOERD, L. H.: Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie *58*, 310 (1938).
 — und LAQUEUR, E.: Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, V. Abt., Verl. Urban u. Schwarzenberg, Berlin, 1938.
- KELLER, ELLEN: Zbl. Gyn. *63*, 2341 (1939).
- KLEINER, WEISSMANN und MISCHKIND: Science *85*, 75 (1937).
- KORENCHEVSKY, V.: Biochem. J. *31*, 780 (1937).
 — Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung, Bd. 2, 418 (1939).
- LACASSAGNE, A.: Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung, Bd. 2, 258 (1939).
- LAQUEUR, E., BORCHARDT, E., DINGEMANSE, E. und DE JONGH, S. E.: Deutsche med. Wschr. *54*, 465 (1928).
- LEINZINGER, E.: Zbl. Gyn. (1941) 2128.
- LIPSCHÜTZ, A.: Virch. Arch. *276*, 676 (1930).
- LITS, F.: Comptes rendus soc. biol. *115*, (1934).
- LOEWE, S. und VOSS, H. E.: Klin. Wschr. (1926) 1083.
- MCBRYDE, C. M.: J. amer. med. assoc. *112*, 1045 (1939).
- MIESCHER, K., SCHOLZ, C. und TSCHOPP, E.: Schweiz. med. Wschr. *13*, (1937).
 — und GASCHE, P.: Schweiz. med. Wschr. (1941) 1301.
- MØLLER-CHRISTENSEN: Münchner med. Wschr. *31*, 854 (1941).
- MOORE, LAMAR und BECK: J. amer. med. assoc. *111*, 11 (1938).
- MÜHLBOCK, O.: Acta Brevia Neerlandica *9*, 7 (1939).
- MUSSIO-FOURNIER, J. C., ALBRIEUX, A. und BUNO, W.: Bulletin de l'académie de médecine *117*, 64 (1937).
- PALMER und ZUCKERMANN: Lancet *236*, 933 (1939).

- PARKES und EMMENS: Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung, Bd. 3 (im Druck).
- PÉZARD: C. rend. acad. Sciences Paris 153, 1027 (1911).
- PINKUS, F.: Handb. d. Haut- und Geschlechtskrankheiten, I/1, 89 (1927).
- REICHSTEIN, T.: Helv. chim. acta 19, 223 (1936).
- ROBSON, M. J.: J. Physiol. 92, 371 (1938).
- ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. Thieme, Leipzig, 1940.
- SCHAAF, F.: Dermat. Ztschr 72, 249 (1935).
- SCHMIDT-THOMÉ, J.: Ergebnisse der Physiologie 39, 192 (1937).
- SIEBKE, H.: Zbl. Gyn. 54, 1601 (1930).
- SIMONNET, H.: L'hormone folliculaire. Masson et Cie., Paris (1937).
- SMELSER: Physiol. Zool. 6, 396 (1933).
- STEINACH, E.: Pflügers Arch. f. Physiol. 144, 71 (1912).
- STEINACH, E., KUN, H. und PECZENIK, O.: Wien. Klin. Wschr. (1936 u. 1938).
- STÖHR-V. MÖLLENDORFF: Lehrbuch der Histologie. 24. Aufl., Verl. Gustav Fischer, Jena (1940).
- v. SZENT-GYÖRGY, A.: Science (N. Y.) 72, II, 125 (1930).
- TECHNER, F.: Klin. Wschr. (1934) 1614.
- UEHLINGER, E., JADASSOHN, W. und FIERZ, H. E.: J. invest. dermat. (1942).
- VOSS, H. E.: Klin. Wschr. (1937) 769.
- WALKER, C. E.: Proc. Roy. soc. med. Path. section I, 153 (1908).
- WEBER, E. H.: cit. nach Meyers Lexikon, 1927. Bibliograph. Inst., Leipzig.
- WINTERSTEIN, A.: Dix-huitième congrès de chimie industrielle. Nancy, 22. Sept. bis 2. Okt. 1938.
- ZONDEK, B.: Klin. Wschr. 8, 2229 (1929).
- Schweiz. med. Wschr. 1168 (1935).
- Hormone des Ovariums. 2. Aufl. Verl. J. Springer, Wien (1935).
-

Inhaltsübersicht

Einleitung	1
Wodurch kommt die Zitzenvergrößerung zustande?	2
Hormonal bedingte histologische Veränderungen der Meerschweinchenzitze und des Zitzenhofes	2
Akanthogene Hormonwirkung	3
Wie kommt die Akanthose zustande?	6
Die Pigmentierung von Zitze und Zitzenhof	9
Das Stroma der durch weibliches Sexualhormon vergrößerten Zitze	13
Quantitative Testmethoden für Sexualhormone. Allgemeine Vorbemerkungen	13
Technik der Messung der Zitze des Meerschweinchens	14
Ist die Einführung eines neuen Tests für weibliches Sexualhormon berechtigt?	15
Der hämatogene und der lokale Nipple Test	16
Die percutane Resorption weiblicher Sexualhormone	17
Der lokale Effekt	17
Technik des lokalen Nipple Test	18
Die individuellen und zeitlichen Schwankungen	19
Dosis und Wirkung im lokalen Nipple Test	21
Die Wirkung verschiedener Sexualhormone im lokalen Nipple Test	25
Orientierende Versuche	25
Quantitative Versuche	27
Versuche mit Oestradiol	27
Versuche mit Oestradioldipropionat	28
Stilböstrolversuche	30
p,p'-Dioxydiphenylhexandisuccinatversuche	33
Versuche mit Natriumstilböstrol	33
Versuche mit Urinen von Mensch und Tier	34
Verhalten der Zitze bei lange Zeit fortgesetzter lokaler Oestronapplikation	35
Verhalten der durch Oestronbehandlung vergrößerten Meerschweinchenzitze nach Aussetzen der Behandlung	36
Vorteile des lokalen Nipple Test	37
Der hämatogene Nipple Test nach subcutaner Injektion	39
Der percutane hämatogene Nipple Test	40
Antagonismus «weiblicher» und «männlicher» Sexualhormone	44
Der Nipple Test bei weiblichen Tieren	48
Oestron und Milchdrüse	50
Überlegungen zur Sexualhormontherapie auf Grund unserer Tierversuche	56
Zusammenfassung	63
Formeln der in der Arbeit verwendeten Substanzen	65
Literaturverzeichnis	67



