

hormones<sup>1</sup>. Accordingly, lesions in the hypothalamus and the median eminence of the pituitary stalk which cause diabetes insipidus also disturb hypophyseal gonadotrophic functions<sup>2</sup>.

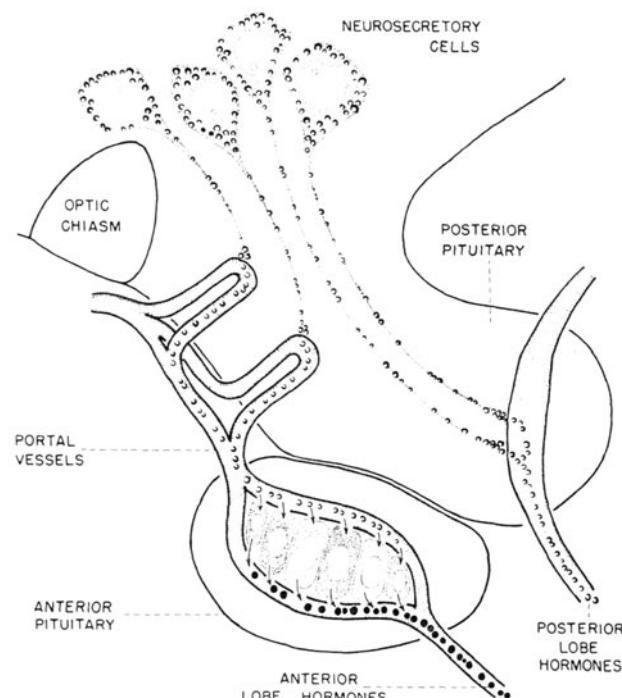


Fig. 3.—Diagram to illustrate a possible passage of neurosecretory material via portal vessels to the anterior pituitary and its hypothetical role in the release of anterior lobe hormones such as ACTH and gonadotropins.

Such relationships could mean that in the release of both posterior and anterior lobe hormones, the same system of neurosecretory cells plays a role in a manner illustrated schematically in Figure 3. However, in mammals there is as yet no direct experimental evidence to support this hypothesis. In fact, ZUCKERMAN<sup>3</sup> concludes from experiments in ferrets that there is no such relationship. On the other hand, the observations of BENOIT and ASSENMACHER<sup>4</sup> in birds strongly support it. Clearly, this problem deserves further study.

E. SCHARRER

Department of Anatomy, University of Colorado, School of Medicine, Denver, Colorado, USA, April 4, 1954.

#### Zusammenfassung

Die Ablagerung von neurosekretorischem Material in der unmittelbaren Umgebung von Blutgefäßen im Hypophysenstiel, die mit Gefäßen des Vorderlappens in Verbindung stehen, wird beim Hund beschrieben. Aus diesem Befund wird auf die Möglichkeit geschlossen,

dass die von den Zellen der Nuclei supraopticus und paraventricularis produzierte neurosekretorische Substanz nicht nur in die Gefäße des Hypophyseninterlappens abgeschieden wird und im Körperkreislauf die sogenannten Hinterlappenhormone abgibt, sondern auch in den Pfortaderkreislauf des Vorderlappens gelangt und dort die Absondierung von Hormonen, wie zum Beispiel ACTH, bewirkt.

#### Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause

Contrairement à la gonadotrophine chorale (HCG, Human Chorionic Gonadotrophin), les actions biologiques des gonadostimulines humaines d'origine hypophysaire sont encore très peu connues. En résumant la littérature sur l'activité gonadotrope des urines provenant de femmes en ménopause physiologique ou artificielle («HMG», Human Menopausal Gonadotrophins<sup>1</sup>), EVANS et SIMPSON<sup>2</sup> arrivent à la conclusion que le facteur FSH (Follicle Stimulating Hormone) prédomine nettement. Les extraits urinaires stimulent en effet chez le rat hypophysectomisé la croissance des follicules ovariens et la prolifération de l'épithélium séminal. D'après les auteurs cités, seules des doses très élevées entraîneraient par contre le rétablissement des cellules interstitielles atrophiées à la suite de l'hypophysectomie ou chez la rate intacte et impubère la formation de corps jaunes. Les effets caractérisant l'action du facteur ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormone) seraient donc discrets par rapport à ceux du facteur FSH.

GREEP et JONES<sup>3</sup> affirment qu'une activité d'ICSH est facilement démontrée dans les urines de femmes ménopausées tout en maintenant qu'il y a peu et que le facteur FSH prédomine. Ils ont obtenu chez des rats impubères hypophysectomisés aussi bien une augmentation des poids des testicules, des vésicules séminales et des prostates ventrales, qu'une augmentation des poids ovariens et utérins et la formation de corps jaunes.

Ces résultats sont opposés aux observations de SCHULER<sup>4</sup> qui a injecté à des rats hypophysectomisés des extraits urinaires provenant de trois femmes dont l'âge dépassait 60 ans. Il n'a pas constaté d'augmentation des poids ovariens et utérins qui aurait témoigné de la présence du facteur FSH, par contre un degré de lutéinisation comparable à une activité de 10-20 U.I. de HCG par litre d'urine.

Nous avons tâché de contribuer, par de nouveaux faits expérimentaux, à la solution du problème en examinant l'activité gonadotrope d'un extrait<sup>5</sup> intitulé «HMG» et préparé à partir d'une grande quantité

<sup>1</sup> Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. BENZ (Bâle), R. BORTH (Genève), J. B. BROWN (Edimbourg), W. R. BUTT (Birmingham), A. C. CROOKE (Birmingham), E. DICZFAJUSY (Stockholm), J. A. LORAIN (Edimbourg), B. LUNENFELD (Genève), W. SCHULER (Bâle) et H. DE WATTEVILLE (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.

<sup>2</sup> H. M. EVANS et M. E. SIMPSON, *Physiology of the Gonadotrophins* dans G. PINCUS et K. V. THIMANN, *The Hormones*, vol. 2 (Academic Press, New York 1950).

<sup>3</sup> R. O. GREEP et I. C. JONES, *Recent Progr. Horm. Res.* 5, 242 (1950).

<sup>4</sup> W. SCHULER, *Helv. physiol. pharmacol. Acta [C]* 5, 47 (1947).

<sup>5</sup> Nous remercions vivement MM. le professeur J. H. GADDUM et le Dr J. A. LORAIN (Edimbourg) qui ont bien voulu mettre à notre disposition un échantillon de cet extrait préparé par la Maison ORGANON (Newhouse, Ecosse).

<sup>1</sup> D. S. FARNER, L. R. MEWALDT, and S. D. IRVING, *Biol. Bull.* 105, 434 (1953). — M. GALGANO and V. MAZZI, *Riv. Biol.* 43, 21 (1951). — J. BENOIT, I. ASSENMACHER, and F. X. WALTER, *C. r. Soc. Biol. Paris* 144, 573 (1950). — J. BENOIT, F. X. WALTER, and I. ASSENMACHER, *J. de Physiol.* 42, 587 (1950). — C. r. Soc. Biol. Paris 144, 1206 (1950). — J. BENOIT and I. ASSENMACHER, *J. de Physiol.* 43, 643 (1951).

<sup>2</sup> F. L. DEY, C. FISHER, C. M. BERRY, and S. W. RANSON, *Am. J. Physiol.* 129, 39 (1940).

<sup>3</sup> S. ZUCKERMAN, *Pubbl. Staz. Zool.* 24 (Suppl.), 21 (1954).

<sup>4</sup> J. BENOIT and I. ASSENMACHER, *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.* 42, 334 (1953).

d'urine provenant de très nombreuses femmes en ménopause, selon la méthode de DEKANSKI<sup>1</sup> et LORAIN<sup>2</sup> (adsorption au kaolin - élution au NaOH - précipitation par l'acétone). 1 mg d'extrait servant à nos expériences correspond à 10 cm<sup>3</sup> du mélange d'urines. Nous avons trouvé l'extrait pratiquement exempt d'œstrogènes, 8 mg ne provoquant aucune augmentation du poids de l'utérus chez la rate impubère castrée. McARTHUR<sup>3</sup> a obtenu avec une méthode analogue des extraits dépourvus d'androgènes.

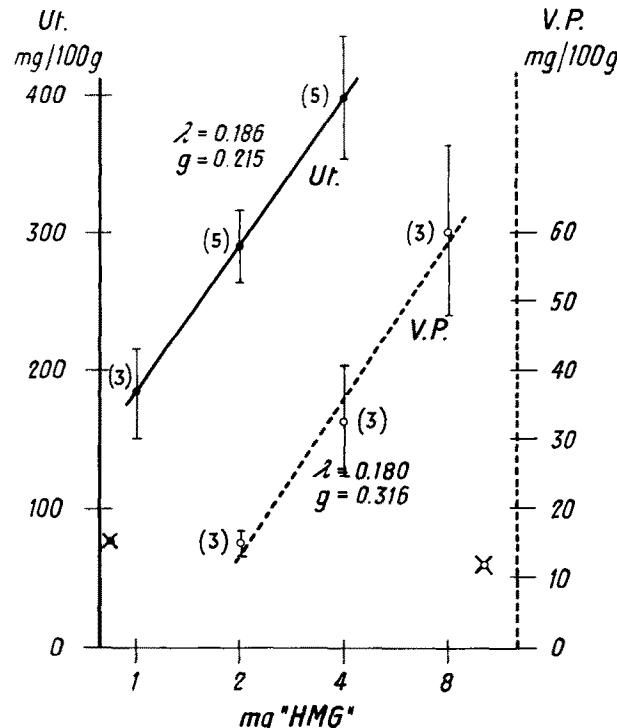


Fig. 1. Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause (HMG, human menopausal gonadotrophins<sup>4</sup>). Courbes des réponses en fonction du logarithme de la dose (dose-response curves), pour les gonadotrophines totales (courbe *U.t.*, poids de l'utérus chez des souris impubères) et pour le facteur ICSH (courbe *V.P.*, poids de la prostate ventrale chez des rats impubères hypophysectomisés). Le  $\lambda$  de GADDUM<sup>5</sup> et le  $g$  de FIELLER<sup>6</sup> sont des coefficients statistiques mesurant la précision de la droite de régression. Nous donnons pour chaque valeur moyenne son erreur-type ainsi que le nombre d'animaux survivants. Les points croisés représentent des témoins non traités.

L'activité des gonadotrophines totales<sup>4</sup> a été testée sur des souris femelles impubères, celle du facteur ICSH sur des rats mâles impubères hypophysectomisés 9 jours auparavant, en empêchant comme critères soit le poids

de l'utérus, soit le poids de la prostate ventrale. Nous donnons sur le graphique (Fig. 1) le nombre des animaux survivants ainsi que les deux courbes des réponses en fonction du logarithme de la dose (dose-response curves). Ces courbes sont des droites de régression caractérisées par les coefficients suivants:

Critère	Coefficient de détermination <sup>1</sup> $B$	$\lambda$ de GADDUM <sup>2</sup>	$g$ de FIELLER <sup>3</sup>
Utérus . . . . .	0,608*	0,186	0,215
Prostate ventrale . . . . .	0,685*	0,180	0,316

\*  $P < 0,01$ .

Pour les doses employées, les réactions des organes récepteurs augmentent donc proportionnellement au logarithme de la dose. Il faut conclure que l'extrait stimule la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire et la sécrétion d'androgènes par le testicule et qu'il peut servir<sup>4</sup> comme standard de référence pour le dosage biologique des gonadotrophines totales et du facteur ICSH. Nos résultats confirment ceux obtenus auparavant par LORAIN<sup>5</sup>.

Antant démontré ainsi l'activité gonadotrope de l'extrait en ce qui concerne les effets indirects dus à la sécrétion des hormones stéroïdes, nous avons cherché à mettre en évidence l'*effet direct sur la morphologie du testicule*. Les testicules des rats hypophysectomisés ont été prélevés et fixés dans la solution alcoolique de BOUIN, et les coupes de 6  $\mu$  d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxylène-éosine. Chez les témoins hypophysectomisés non traités (Fig. 2a) le testicule est en pleine régression. Les tubes séminifères ont un diamètre beaucoup plus petit que chez l'animal adulte intact (Fig. 2b). La spermatogenèse s'arrête au stade de la spermatogénie; si l'on trouve encore quelques spermatocytes I, la plupart d'entre eux montrent des noyaux pycnotiques ou pas de noyaux du tout. Les cellules de LEYDIG sont allongées, elles montrent un protoplasme pâle et souvent des noyaux pycnotiques. Chez les animaux traités avec 8 mg d'extrait (Fig. 2c) les tubes séminifères sont par contre presque aussi larges que chez l'animal intact âgé de 7 mois (Fig. 2b), on voit de nombreux spermatozoïdes et une forte activité à tous les stades de la spermatogenèse. Les cellules de LEYDIG sont rondes et bien formées, leur protoplasme est foncé, elles montrent une forte activité sécrétatoire et diffèrent à peine des cellules de l'animal intact. Après la dose de 2 mg d'extrait, la spermatogenèse s'arrête au stade des spermatocytes II et les cellules interstitielles semblent inactives à l'aspect

<sup>1</sup> J. DEKANSKI, Brit. J. Exper. Path. 30, 272 (1949).

<sup>2</sup> J. A. LORAIN, J. Endocrinol. 6, 319 (1950).

<sup>3</sup> J. W. McARTHUR, Endocrinology 50, 304 (1952).

<sup>4</sup> Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. BENZ (Bâle), R. BORTH (Genève), J. B. BROWN (Edimbourg), W. R. BUTT (Birmingham), A. C. CROOKE (Birmingham), E. DICZFAJLUSY (Stockholm), J. A. LORAIN (Edimbourg), B. LUNENFELD (Genève), W. SCHULER (Bâle) et H. DE WATTEVILLE (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.

<sup>5</sup> J. H. GADDUM, Spec. Rep. Ser. M.R.C., Londres, N° 183 (1933).

- Cf. C. I. BLISS, *Statistical Methods in Vitamin Research* dans P. GYÖRGY, *Vitamin Methods*, vol. 2 (Academic Press, New York 1951).

<sup>6</sup> E. C. FIELLER, J. Roy. Statist. Soc., Suppl. 7, 1 (1940). - Cf. D. J. FINNEY, *Statistical Method in Biological Assay* (Griffin, London 1952).

<sup>1</sup> A. LINDER, *Statistische Methoden* (Birkhäuser, Basel 1951).

<sup>2</sup> J. H. GADDUM, Spec. Rep. Ser. M.R.C., Londres, N° 183 (1933).

- Cf. C. I. BLISS, *Statistical Methods in Vitamin Research* dans P. GYÖRGY, *Vitamin Methods*, vol. 2 (Academic Press, New York 1951).

<sup>3</sup> E. C. FIELLER, J. Roy. Statist. Soc., Suppl. 7, 1 (1940). - Cf. D. J. FINNEY, *Statistical Method in Biological Assay* (Griffin, London 1952).

<sup>4</sup> Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. BENZ (Bâle), R. BORTH (Genève), J. B. BROWN (Edimbourg), W. R. BUTT (Birmingham), A. C. CROOKE (Birmingham), E. DICZFAJLUSY (Stockholm), J. A. LORAIN (Edimbourg), B. LUNENFELD (Genève), W. SCHULER (Bâle) et H. DE WATTEVILLE (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.

<sup>5</sup> Communication personnelle.

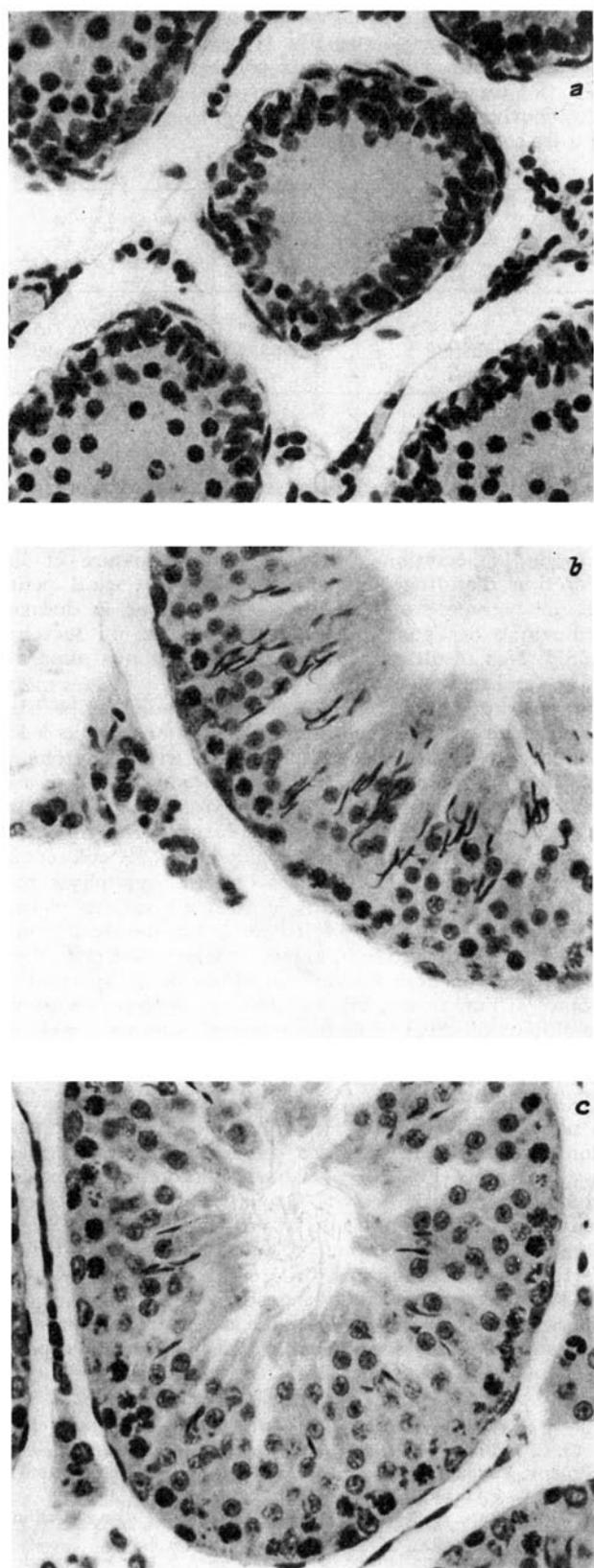


Fig. 2. Coupes histologiques de testicules de rats fixés au BOUIN alcoolique, colorés à l'hématoxyline-éosine. Agrandissement 470  $\times$ .  
 a Animal impubère non traité, 12 jours après hypophysectomie.  
 b Animal intact de 7 mois.  
 c Animal impubère, 12 jours après hypophysectomie et traité avec 8 mg d'extrait d'urines de femmes en ménopause.

histologique. La dose de 4 mg provoque une image intermédiaire entre les deux autres.

*Conclusion.* Un extrait d'urines de femmes en ménopause a été examiné au point de vue de son activité gonadotrope. Chez la souris impubère il stimule la sécrétion d'œstrogènes (croissance de l'utérus). Chez le rat impubère hypophysectomisé il provoque le rétablissement des cellules interstitielles avec sécrétion d'androgènes (croissance de la prostate ventrale) et une spermatogenèse allant jusqu'à la formation de spermatozoïdes. Il s'agit donc d'un extrait dont des quantités identiques et relativement modestes montrent une activité gonadotrope complète comprenant aussi bien le facteur FSH que le facteur ICSH, ce qui laisse entrevoir d'intéressantes perspectives thérapeutiques.

Ce travail a bénéficié de l'appui du Fonds national suisse de la Recherche scientifique. Nous tenons à remercier la Ciba S.A. à Bâle pour les rats hypophysectomisés et M. MORAND et M<sup>le</sup> IWASZKIEWICZ pour leur précieuse assistance technique.

R. BORTH, B. LUNENFELD et  
H. DE WATTEVILLE

*Laboratoire d'Hormonologie de la Maternité, Genève,  
le 12 novembre 1953.*

#### Summary

An extract from pooled postmenopausal urine has been investigated for its gonadotrophic activity. Dose-response curves have been constructed for its total gonadotrophic activity (stimulation of estrogen secretion as reflected by the uterine weight increase in immature mice) and for its ICSH activity (stimulation of androgen secretion as reflected by the ventral prostate weight increase in hypophysectomised immature rats). In hypophysectomised immature rats, the extract produced repair of the interstitial cells of the testes and complete spermatogenesis. It contains, therefore, FSH as well as ICSH activity in comparable amounts, a fact which opens up interesting therapeutic possibilities.

#### PRO EXPERIMENTIS

#### Untersuchung von Adenosintriphosphorsäure (ATP), Adenosindiphosphorsäure (ADP), Adenosinmonophosphorsäure (AMP) und Inosinsäure (IMP) in ruhenden und kontrahierten Froschrektusmuskeln

Zur Klärung der Frage, ob die ATP-Spaltung die unmittelbare chemische Energiequelle für die Muskelkontraktion darstellt, sind schon vergleichende Untersuchungen zwischen ruhenden und ermüdeten Muskeln vorgenommen worden (zum Beispiel LUNDSGAARD, WAJER und NEKHOROCHEFF u.a.<sup>1</sup>). Von den Ergebnissen an ermüdeten Muskeln können aber nicht ohne weiteres Schlüsse auf die Vorgänge bei einer Einzelkontraktion gezogen werden. Die verwendeten Analyseverfahren (Säurehydrolyse nach LOHMANN<sup>2</sup> oder kombinierte enzymatisch-spektrophotometrische Methode nach KALCKAR<sup>3</sup>) haben ausserdem den Nachteil, dass

<sup>1</sup> E. LUNDSGAARD, Proc. Roy. Soc. B. 137, 74 (1950).

<sup>2</sup> K. LOHMANN, Biochem. Z. 202, 477 (1928).

<sup>3</sup> H. M. KALCKAR, J. Biol. Chem. 167, 449 und 461 (1947).