

les conducteurs de platine sont alors passés coaxialement avec les fils de nylon de traction par des joints glissants de mercure placés dans les 6 tubes latéraux. Dans ces conditions les mêmes phénomènes d'interceptions réciproques des complexes R_A et R_V par les électrodes ont été retrouvés.

Par ailleurs cette cellule permettant la polarographie d'oxygène, il a paru intéressant d'examiner le comportement respiratoire du cœur ouvert de Grenouille en suspension dans l'air. Le montage comprend un appareil de mesure constitué par un nano-ampèremètre Siemens et un galvanomètre TSIC Sefram couplé à un suiveur de spot «Photodyne» PHD8 Sefram; l'électrode (E, Figure 5) est le modèle à fil de platine de 15 μ de diamètre à membrane de Teflon de 25 μ d'épaisseur qui a été utilisé précédemment⁷. Qu'il y ait ou non agitation de l'ambiance par un tourniquet magnétique, on ne peut noter de diminution de la pO_2 . On peut attribuer ce fait à l'insuffisante sensibilité du dispositif de détection, cependant le montage est sensible à 0,04 μ l d'oxygène en solution de Ringers⁸, de sorte qu'il faut penser qu'à l'air le tissu cardiaque, quoique offrant ici une surface maximum, ne pourrait plus capter facilement l'oxygène en phase gazeuse (par suite peut-être de la rétention interfaciale de CO_2 par des tampons tissulaires); autrement dit le métabolisme du

cœur de Grenouille serait alors principalement - si ce n'est exclusivement - anaérobie, fait qui viendrait à l'appui des résultats^{8,9}, montrant que ce cœur peut fonctionner électro-mécaniquement en tant qu'aérobie facultatif.

Summary. (1) When in air, a quasi-dielectric medium, the frog's heart, opened in extension, emits auricular potentials which are detected on the ventricular track and conversely. (2) Polarographic tests for pO_2 changes in such a preparation, enclosed in a special moist box, show no variations; predominant anaerobiosis in heart or size of the box has to be considered.

B. RYBAK

Service de Zoophysiologie, Faculté des Sciences, Caen (France), le 3 juin 1964.

⁷ Je remercie mon collègue le Professeur LÖBBERS qui m'a fait l'amitié de m'offrir cette électrode.

⁸ A. J. CLARK, M. G. EGGLETON, P. EGGLETON, R. GADDIE et C. P. STEWART, *The Metabolism of the Frog's Heart* (Oliver & Boyd Publ., Edinburgh 1938).

⁹ B. RYBAK et J. TRÉPEAU, C. r. Soc. Biol. 151, 101 (1956).

Strukturelle und funktionelle Veränderungen am menschlichen Ovar unter Einwirkung hormonaler Antikonzepztiva

PINCUS et al.¹ entdeckten schon im Jahre 1955, dass gewisse oral wirksame Gestagene bei der Ratte zu einer Ovulationshemmung führen. Die gleichen Progestativa, kombiniert mit einem Östrogen, erwiesen sich in der Folge auch bei der Frau als absolut sichere Antikonzepztiva, wenn sie vom 5. bis 24. Cyclustag regelmässig eingenommen werden². In Analogie zum Tierversuch wurde angenommen, dass bei der Frau die antikonzepztive Wirkung ebenfalls auf eine Ovulationshemmung zurückzuführen sei². Die Beobachtung, dass ein Ansteigen der Pregnandiolexkretion in der zweiten Hälfte des Behandlungscycles ausbleibt, wurde in diesem Sinne gedeutet³. Auch das Fehlen des für den normalen Cyclus typischen Anstiegs der Östrogenausscheidung um die Cyclusmitte sprach für einen anovulatorischen Zustand⁴. Die gefundenen Werte entsprechen während des ganzen Behandlungscycles der Östrogenausscheidung von Frauen nach der Menopause. Gleichzeitig beobachtete Rock⁵ anhand von Biopsien, dass diese Steroidkombinationen beim Menschen zu Endometriumsveränderungen führen, die ungünstige Bedingungen für eine Nidation des Eies schaffen. Den Mechanismus der Ovulationshemmung glaubte man entdeckt zu haben, als bei diesen Frauen eine verminderte Gonadotropinsekretion festgestellt wurde^{3,6,7}. Man nahm deshalb an, dass die Bremsung der Gonadotropinproduktion für die beschriebenen endokrinen und morphologischen Veränderungen im wesentlichen verantwortlich sei.

Später zeigte sich jedoch bei Versuchen mit Ortho-Novum (10 mg Norethisteron + 0,06 mg Mestranol), dass diese Hemmwirkung auf den Hypophysenvorderlappen oft nicht sehr ausgesprochen ist⁸. Sie lässt sich bereits

nach sechs Lyndiol-Behandlungscycles in einem Viertel der Fälle nicht mehr nachweisen, wie einer von uns 1964 zusammen mit KELLER⁹ zeigen konnte. Es schien uns deshalb wahrscheinlich, dass es unter Einnahme von Lyndiol, einer antikonzepztiv absolut sicher wirkenden Gestagen-Östrogenkombination, noch häufiger als unter Enovid zu einer Gelbkörperbildung kommt. Dieser oft vorhandene Wiederanstieg der Gonadotropinausscheidung erlaubt wohl den Schluss, dass innerhalb relativ kurzer Zeit eine weitgehende Adaptation des Hypophysenvorderlappens an die neue endokrine Stoffwechsel-lage stattfinden kann. Die von LUNENFELD¹⁰ geäusserte Meinung, dass eine direkte Beeinflussung der Ovarien

¹ G. PINCUS und A. P. MERRILL, in C. A. VILLE, *Control of Ovulation* (Pergamon Press, New York, Oxford, London, Paris 1961), p. 37. - R. L. HOLMES und A. M. MANDL, Lancet 1962 i, 1174.

² G. PINCUS, J. ROCK und C.-R. GARCIA, Rep. Proc. 6th Int. Conference on Planned Parenthood (Int. Planned Parenthood Fed., London 1959), p. 216.

³ J. A. LORAIN und E. T. BELL, Lancet 1963 ii, 902.

⁴ R. P. SHEARMAN, Lancet 1963 i, 197.

⁵ J. ROCK, C.-R. GARCIA und G. PINCUS, Recent Progr. Hormone Res. 13, 323 (1957). - J. NEVINNY-STICKEL, Int. J. Fertil. 9, 57 (1964).

⁶ R. BUCHHOLZ, L. NOCKE und W. NOCKE, Geburtsh. Frauenheilk. 22, 923 (1962). - R. KAISER, Dtsch. med. Wschr. 88, 2325 (1962). - G. PINCUS, Proc. Symp. on 19-Nor Progestational Steroids (Searle Research Laboratories, Chicago 1957), p. 105. - F. J. SAUNDERS und V. A. DRILL, Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 516 (1958). - L. MARTIN und K. CUNNINGHAM, J. clin. Endocrin. 20, 529 (1960).

⁷ W. O. NELSON und D. J. PATANELLI, Acta endocrin., Kbh. 20, Suppl. 51, 905 (1960).

⁸ J. GOLDZIEHER, Symp. Am. med. Ass., Upjohn-Symposium (1963).

⁹ H. ERB und M. KELLER, Gynaecologia 158, 1 (1964).

¹⁰ B. LUNENFELD, Int. J. Fertil. 9, 167 (1964). - J. A. LORAIN, Int. J. Fertil. 9, 155 (1964).

durch den Steroidserumspiegel für die Inhibition der Ovarfunktion bedeutsamer sei, scheint uns deshalb einleuchtend. SHEARMAN^{4,11} fand bei der Prüfung der Ovarialsteroidausscheidung unter Anovlar (4 mg Norethisteronacetat + 0,05 mg Äthinylostradiol) keinerlei Anhaltspunkte für eine Corpus-luteum-Aktivität. Er beobachtete 1963 und 1964 bei je einer Versuchsperson Östrogentagesausscheidungen, die weitgehend denjenigen des normalen Cyclus entsprachen. Er nahm an, dass dieses seltene Ereignis die Folge einer gelegentlich auftretenden selektiven LH-Inhibition sei. Eine solche liess sich auch bei Ratten nachweisen, wo es unter Norethisteron zu einer doppelt so starken Abnahme der LH-Aktivität gegenüber derjenigen der FSH-Wirkung kam⁷. GOLDZIEHER⁸ stellte bei 7% der mit Ortho-Novum (Norethisteron + 0,06 mg Mestranol) behandelten Frauen eine deutlich vermehrte Pregnandiolausscheidung in der zweiten Cyclushälfte fest. Er schloss daraus, dass in diesen Fällen eine Corpus-luteum-Bildung stattgefunden haben muss und wohl auch eine lebensfähige Eizelle im Ovar freigegeben wurde. Wenn sich trotzdem keine Schwangerschaften einstellten, so müsste man annehmen, dass zusätzliche Mechanismen vorliegen, die eine Gravidität verunmöglichen. MEARS¹² kam 1964 zu ähnlichen Schlussfolgerungen auf Grund ihrer Feststellung, dass es bei zwei von 495 Versuchspersonen trotz korrekter Einnahme von Enovid zu einer Gravidität kam. Wir sind auf Grund eigener Beobachtungen überzeugt, dass diese Hypothese von GOLDZIEHER⁸ richtig ist. Bei einer Versuchsreihe mit Lyndiol fanden sich nämlich sogar in der Hälfte aller Versuchspersonen während einer sechs- bis neunmonatigen Beobachtungszeit einmalig oder wiederholt am 21. Cyclustag Pregnandiolausscheidungswerte von über 2 mg⁹.

Eigene Beobachtungen. Zur weiteren Abklärung haben wir kürzlich einer 21jährigen und einer 23jährigen Frau mit völlig normalen Menstruationsverhältnissen, welche aus anderweitigen Gründen laparotomiert werden mussten, während einem, bzw. zwei Cyclen in typischer Weise vom 5. bis 24. Cyclustag Lyndiol 2,5® (2,5 mg Lynestrenol + 0,075 mg Mestranol) verabreicht. Die erste Patientin wurde am 26. Cyclustag des ersten und die zweite Patientin am 24. Cyclustag des zweiten Behandlungscycles laparotomiert¹³. Die 24-h-Urinausscheidungen des Östron-Östradiols und des Östriols waren in beiden Fällen am Operationstag niedrig und lagen um 10 mg. Die Pregnandiolkretion betrug bei der ersten Patientin zu diesem Zeitpunkt 1,3 mg, bei der zweiten 1,1 mg/die (Tabelle). Es lagen somit Werte vor, wie wir sie unter Einnahme sogenannter Ovulationshemmer während des ganzen Behandlungscycles anzutreffen gewohnt sind. Schon makroskopisch liess sich in beiden Fällen ein Corpus luteum feststellen. Wir haben die betreffenden Ovarbezirke markiert und keilexcidiert.

Das entnommene Gewebe wurde im Bereich des Corpus luteum halbiert, anschliessend photographiert und die eine Hälfte in Carnoyscher Flüssigkeit fixiert. Die Ein-

bettung in Paraffin erfolgte in der für histologische Präparate üblichen Art über Methylbenzoat¹⁴. Von jedem Block wurde eine lückenlose Serie von 7 μ Schnittdicke hergestellt. Die Schnitte wurden alternierend nach folgenden Methoden gefärbt: Azan, Silberimpregnation nach GÖMÖRI zur Darstellung der argyrophilen Fasern, PAS-Reaktion, Methylgrün-Pyronin und Glykogenreaktion nach BAUER.

Das Corpus luteum wird von einer bindegewebigen Kapsel, die viele Blutgefäße enthält, gegen das übrige Ovarialgewebe abgegrenzt (Figur 1). In seinem Zentrum

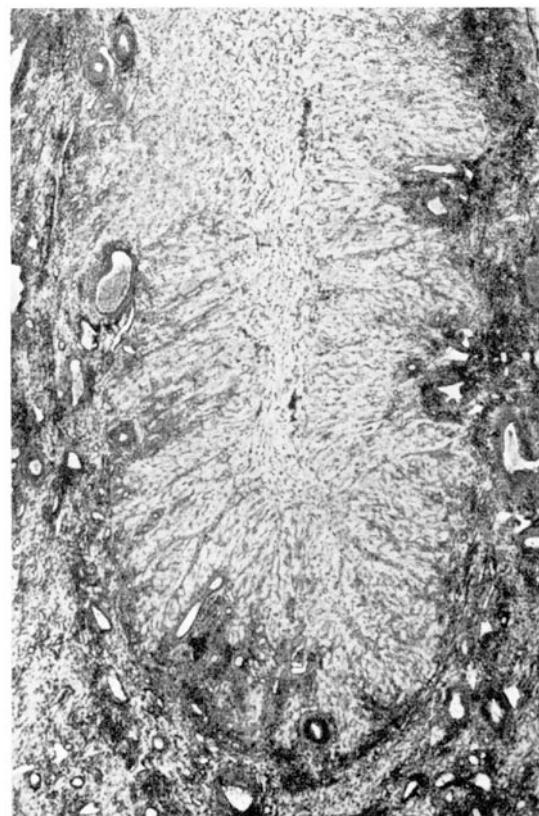


Fig. 1. Corpus luteum des 2. Falles. Fixation: Carnoy. Färbung: Azan. $\times 50$.

¹¹ R. P. SHEARMAN, Lancet 1964 i, 557.

¹² E. MEARS, Symposium on Agents Affecting Fertility (Middlesex Hospital Medical School 1964).

¹³ H. ERB, Diskussionsbeitrag zum Thema *Die Ovulation* (35. Tag. dtsch. Ges. Gynäk., München 1964).

¹⁴ B. ROMEIS, *Mikroskopische Technik*, 15. Aufl. (Leibniz, München 1948).

24-h-Urinausscheidung am 21. Cyclustag vor und während der Einnahme von Lyndiol 2,5®

Patientinnen	Östriol-Östradiol mg/24 h	Östriol mg/24 h	Pregnadiol mg/24 h	17-Ketosteroide mg/24 h	Gonadotropine 1E/24 h
Nr. 1 – R. Sch., 21jährig	Kontr. Cycl. Behandl. Cycl.	7,6 9,1	8,8 9,1	10,8 1,3	18,5 –
Nr. 2 – N. G., 23jährig	Kontr. Cycl. Behandl. Cycl.	11,7 11,0	11,1 11,0	3,6 1,1	15,6 10,2

findet sich ein Fibrinkern, in dem stellenweise Ansammlungen von Erythrocyten zu finden sind (Figur 2). Der Fibrinkern erreicht die Ovaroberfläche und wird hier durch ein junges Granulationsgewebe begrenzt¹³. Dieser Befund wird bei Corpora lutea, die noch nicht 14 Tage alt sind, regelmässig an der ehemaligen Rissstelle des Follikels angetroffen¹⁶. Von der Kapsel aus ziehen zahlreiche, von Venen begleitete Arterien und Arteriolen radiär gegen den Fibrinkern (Figur 1). Diese Gefässen splittern sich zwischen den Granulosaluteinzellen in eine Vielzahl von Kapillaren auf. Den Fibrinkern selbst erreichen nur einige Arteriolen, jedoch viele Kapillaren. Innerhalb des Fibrinkeins finden sich junge Bindegewebszellen, welche mit Hilfe ihrer zahlreichen langen Ausläufer einen weitmaschigen Verband bilden (Figur 2). Hämosiderinhaltige Bindegewebszellen konnten wir keine feststellen, was den Schluss zu lässt, dass das vorliegende Corpus luteum nicht älter als 12 Tage sein kann¹⁵. Die Granulosaluteinzellen sind in radiären Strängen angeordnet (Figur 1). Sie sind durch nur wenige argyrophile Fasern voneinander getrennt (Figur 2). Ihre Zellkerne sind zentral gelegen und besitzen ein lockeres Chromatingerüst. Pyknotische Zellkerne finden sich nur ganz vereinzelt. Dies deutet darauf hin, dass Rückbildungsprozesse noch nicht eingesetzt haben¹⁶. Eigenartig ist die Tatsache, dass das Cytoplasma der Granulosaluteinzellen nur wenig pyroninophiles Material enthält. Dieser Befund lässt auf keine grosse Aktivität dieser Zellen schliessen. Die für ein typisches Corpus luteum charakteristischen Wucherungen der Theca-interna-Zellen an der Grenze gegen die bindegewebige Kapsel fehlen (Figur 1). Auch entlang den Gefässen zwischen den Granulosaluteinzellen finden sich nur vereinzelt Thecaluteinzellen.

Alle diese geschilderten mikroskopisch-anatomischen Befunde lassen den Schluss zu, dass wir ein ungefähr 10 Tage altes Corpus luteum vor uns haben, dessen Theca-interna-Anteil aber hypoplastisch ist.

Im übrigen Ovarialgewebe finden sich zahlreiche Bläschenfollikel von 2 bis 4 mm Durchmesser. Das Follikel-epithel dieser Follikel ist unverhältnismässig dick. Statt bis höchstens 3 Zellagen¹⁵ finden sich regelmässig 5 bis 8 Zellagen (Figur 3). Dabei fallen die vielen Mitosen auf, die in diesem Epithel gefunden werden (Figur 3). Der Cumulus oophorus mit der Eizelle zeigt einen Bau, wie er sonst nur in fast sprungreifen Follikeln gefunden wird¹⁶. Dagegen ist die Zellschicht der Theca interna nur mässig entwickelt. Auffällig ist auch die Tatsache, dass in den vorhandenen atretischen Follikeln die Wucherungen der Theca-interna-Zellen fehlen.

Diskussion. Es scheint uns besonders bemerkenswert, dass bei Pregnandiolausscheidungswerten, auf Grund derer bis jetzt stets auf das Fehlen eines Corpus luteum geschlossen wurde, ein frisches Corpus luteum vorhanden sein kann. Die Ursache könnte eine endokrine Hypo- oder Inaktivität des Gelbkörpers oder ein gestörter Progesteronmetabolismus sein. Das letztere scheint uns wahrscheinlicher, weil in einem gewissen Prozentsatz Pregnandiolausscheidungswerte vorliegen, die auf eine ovariale Progesteronproduktion schliessen lassen^{8,9}. Die unter der Einnahme solcher Steroidkombinationen nur ausnahmsweise nicht verminderte Ausscheidung sämtlicher Östrogenfraktionen hingegen lässt sich durch die histologisch beobachtete fehlende Proliferation der Theca interna in der zweiten Cyclushälfte befriedigend erklären. Schliesslich ist auch die ausgesprochene Proliferation der Follikel-epithelien nach stattgefunder Ovulation ein bemerkenswertes Faktum. Weitere Untersuchungen sind im Gange.

Auf Grund des Verhaltens des Erfolgsorganes ist anzunehmen, dass eine gleichzeitige Bremsung der hypo-

physären FSH- und LH-Aktivität unter Einwirkung dieser Pharmaka am häufigsten vorkommen dürfte. In denjenigen Fällen, in welchen es – wie bei den von uns beobachteten Patientinnen – zu einer Gelbkörperbildung bei gleichzeitigem Fehlen einer Proliferation der Theca interna kommt, muss auf eine selektive FSH-Inhibition geschlossen werden. Wir nehmen deshalb an, dass drei mögliche Varianten der hypophysären Bremsung durch solche Gestagen-Östrogen-Kombinationen existieren: (1) die wohl am häufigsten anzutreffende Form der kombinierten Inhibition der FSH- und LH-Aktivität⁶, (2) die ebenfalls häufig alleinige Inhibition der FSH-Aktivität^{8,9,13}, (3) die extrem seltene selektive Inhibition der LH-Aktivität^{4,11}.

Der antikonzeptionelle Effekt der diskutierten Hormonpräparate ist also nicht in erster Linie in einer Verhinderung der Ovulation zu suchen. Es dürften vielmehr bisher als sekundär betrachtete Alterationen im weiblichen Organismus dafür entscheidend sein. Wir denken

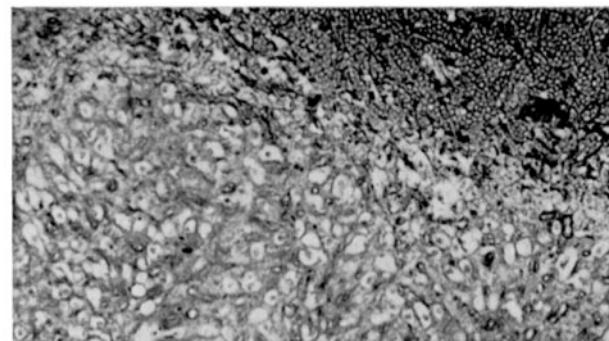


Fig. 2. Fibrinkern mit Erythrocytenansammlung aus dem gleichen Corpus luteum wie in der Figur 1. Fixation: Carnoy. Färbung: Azan. $\times 160$.

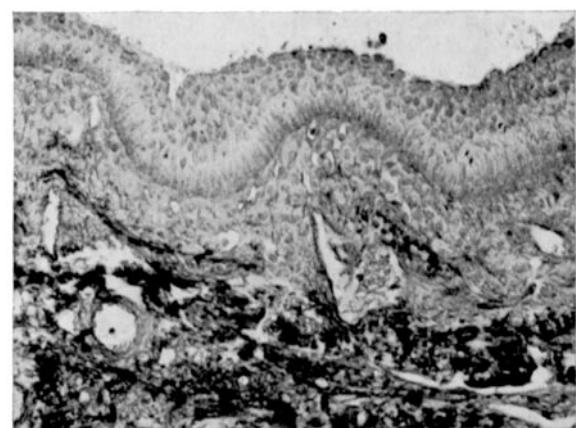


Fig. 3. Ausschnitt aus der Wand eines Bläschenfollikels des 1. Falles. Fixation: Carnoy. Färbung: Azan. $\times 160$. Man beachte im vielschichtigen Folliklepithel die zahlreichen Mitosen. Die Schicht der Theca interna ist im Verhältnis zur Gesamtwand relativ schmal.

¹⁶ M. WATZKA, in VON MÖLLENDORFF, *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* (Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957), Ergänzung zu Vol. VII/1.

dabei vor allem an Einwirkungen auf Tube und Cervix, wie wir sie auch bei Hypoestrogenismus antreffen.

Jedenfalls scheint es uns richtiger, wenn wir in Zukunft wie LAX¹⁶ nicht mehr von peroralen Ovulationshemmern, sondern ganz einfach von hormonalen Antikonzepztiva sprechen.

Summary. In two cases, a fresh corpus luteum was found during treatment with hormonal anticonceptiva (Lyndiol 2.5%). The decreased excretion of all oestrogen fractions can be explained by the lack of proliferation of the theca interna. The striking proliferation of the follicle epithelium after the completed ovulation is as yet an

unexplained phenomenon. The possible endocrine actions of such steroid combinations upon the pituitary are discussed. Further investigations are in progress.

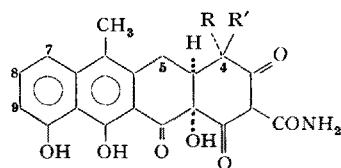
H. ERB und K. S. LUDWIG

Geburtshilflich-gynäkologische Abteilung des Kantons-Spitals Liestal und Anatomisches Institut der Universität Basel (Schweiz), 4. Dezember 1964.

¹⁶ H. LAX, *Das Interview* (Ciba, Basel 1964).

4-Dedimethylamino-4-epi-5a,6-anhydrotetracycline

We recently reported the isolation of a number of C and N demethylated anhydrotetracyclines which had accumulated in fermentations of tetracycline producing strains of *Streptomyces aureofaciens* and *S. rimosus* when normal antibiotic synthesis was disrupted through interference with biological methylation reactions¹. During the course of this work a number of minor components were detected by paper chromatography and we would like to report some experiences with one of these, 4-dedimethylamino-4-epi-5a,6-anhydrotetracycline (I)².



I R = H, R' = NH₂
II R = NH₂, R' = H
III R = H, R' = NMe₂

IV R = NMe₂, R' = H
V R = H, R' = NMe₂
VI R = NMe₂, R' = H

distribution with chloroform-n-butanol-methanol-0.1 N hydrochloric acid solution (1:1:1:1). The pure compound, $[\alpha]_D^{25} -475^\circ$ (c, 0.485 in methanol - 0.1 N HCl (3:1)), is isomeric with 'amino' compound II based upon microanalyses (Found: C, 53.87; H, 5.08; N, 5.48; Cl, 8.06; (C) CH₃, 2.49; (N) CH₃, 0.00; C₂₀H₁₉N₂O₂Cl · 3/4 H₂O requires C, 53.57; H, 4.62; N, 6.24; Cl, 7.93; (C) CH₃, 3.34) and possesses a typical anhydrotetracycline UV and visible absorption spectrum³ ($\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 424, infl. 324, inf. 308, 269 and 224 m μ with log ϵ 3.88, 3.34, 3.65, 4.67, and 4.39 resp.). Treatment with strong sodium hydroxide solution liberated ammonia as the only volatile base⁴ and reaction with methyl iodide in tetrahydrofuran led within 10 min at reflux to quaternary methiodides V and VI in substantially the same proportions as is obtained by reacting 4-epi-5a,6-anhydrotetracycline⁵ (V) under the same conditions. It is interesting to note that the normal epimer (II)

¹ P. A. MILLER, A. SATURNELLI, J. H. MARTIN, L. A. MITSCHER, and N. BOHONOS, *Biochem. biophys. Res. Comm.* **16**, 285 (1964).

² R. K. BLACKWOOD and C. R. STEPHENS, *J. Am. chem. Soc.* **86**, 2736 (1964).

³ C. R. STEPHENS, L. H. CONOVER, R. PASTERNAK, F. A. HOCHSTEIN, W. T. MORELAND, P. P. REGNA, T. J. PILGRIM, K. J. BRUNINGS, and R. B. WOODWARD, *J. Am. chem. Soc.* **76**, 3568 (1954).

⁴ R. PASTERNAK, A. BAVLEY, R. L. WAGNER, F. A. HOCHSTEIN, P. P. REGNA, and K. J. BRUNINGS, *J. Am. chem. Soc.* **74**, 1926 (1952).

⁵ J. R. D. McCORMICK, S. M. FOX, L. L. SMITH, B. A. BITLER, J. REICHENTHAL, V. E. ORIGONI, W. H. MULLER, R. WINTERBOTTOM, and A. P. DOERSCHUK, *J. Am. chem. Soc.* **79**, 2849 (1957).

Substance^a 60 mc proton absorptions (cps) in dimethyl sulfoxide

	C ₄	C ₅	C _{7,8}	C ₉	CONH ₂	N-CH ₃	C-CH ₃
I	285	205	447	413	575	none	142
II	245	205	450	415	550	none	147
4-epi-5a,6-anhydrotetracycline (III)	300	210	452	417	575	188	142
5a,6-anhydrotetracycline (IV)	275	210	446	418	—	185	142
III-methochloride (V)	315	—	447	415	545	218	140
IV-methochloride (VI)	290	—	445	415	575	218	135

^a All derivatives were examined as their hydrochloride salts.