

Female animals: contraction characteristics (in msec)

Month	n	CT	HCT	TCC	LT	HRT
March	10	32.8 ± 0.71	16.1 ± 0.53	11.4 ± 0.32	6.0 ± 0.32	30.2 ± 1.84
May	9	32.7 ± 1.64	15.0 ± 0.71	10.3 ± 0.66	6.1 ± 0.75	32.8 ± 3.58
August	8	28.7 ± 1.46	15.7 ± 0.59	8.5 ± 0.54	6.1 ± 0.30	21.1 ± 2.58
November	7	34.9 ± 1.05	17.9 ± 0.60	11.7 ± 0.45	5.2 ± 0.22	31.7 ± 4.20
P _{MA}		<0.02		<0.001		<0.01
P _{AN}		<0.005		<0.001		<0.05

CT, contraction time; HCT, half contraction time; TCC, maximal rise of tension development; LT, latency period; HRT, half relaxation time. P_{MA}, probability values: March–August; P_{AN}, probability values: August–November.

tively high ATPase activity, i.e. are type II muscle fibres¹², whereas in the 'male' muscle, both fibres with high ATPase activity and very large fibres with very low ATPase activity (i.e. type I fibres), can be found.

Thus the sexual dimorphism of the flexor carpi radialis muscle of the frog concerns not only muscle weight and fibre size⁷ but also contraction properties and the related histochemical fibre pattern according to ATPase activity. 'Male' muscles are relatively slow and have a greater proportion of type I fibres, i.e. large muscle fibres with low ATPase activity. This relative 'slowness' of 'male' muscles is apparently due to the relative androgen-dependency of the 'male' muscle, resulting in seasonal variation of contraction properties related to seasonal changes of androgen levels. Androgens affect speed of the fast levator ani muscle, highly sensitive to the male sex hormone in vitro¹³ and in vivo¹⁴. A prolongation of concentration time in this muscle can be observed after castration⁶. On the other hand 'male' and 'female' temporal muscles, serving primarily masticatory function, are both fast muscles, the sexual dimorphism being, however, marked in the enzyme pattern, i.e. especially in the ratio of glycolytic to oxidative enzymes¹⁴. Thus 3 different androgen-dependent muscles show differences in speed of contraction and in their reaction to changes of androgen level. In contrast to the fast levator ani of the rat and the fast temporal muscle of the guinea-pig, the flexor carpi radialis of the frog is a slow muscle with a more tonic function operating in the 'clasping reflex' of the male. Enlargement of various muscles of the forelimb, associated with this reflex of the male during the mating act clearly shows seasonal variations⁷ and can apparently be interpreted as results of androgen dependence¹⁵. In this respect the prolongation of contraction and especially relaxation time in the flexor carpi radialis during the mating season, and the following temporary shortening of these parameters, may be explained by changes in level of androgen, seasonally increasing or decreasing the tonic function of the muscle. However, environmental changes may also affect related changes in

contraction properties. Rise of environmental temperature in the summer months may participate in the shortening of contraction time, as it affects both 'male' and 'female' muscle. There is also an increase of Na-K activated activity of ATPase¹⁶, increase of Ca²⁺, Na⁺ and decrease of K⁺¹⁷ and respiratory quotient¹⁶ and decrease of contraction response to ACh¹⁸ during the summer months.

The mechanisms by which genetic and environmental factors determine the sexual dimorphism, and the seasonal variations in the flexor carpi radialis muscle of the frog, have still to be elucidated.

Zusammenfassung. Es wird ein Sexualdimorphismus beim Daumenbeugemuskel (m. flexor carpi radialis) des Frosches (*Rana temporaria* L.) mit Bezug auf das Kontraktionsverhalten, wie auch in histochemischer Richtung, festgestellt. Kontraktions- und Relaxationszeit sind bei männlichen Muskeln verlangsamt mit entsprechender ATPase-Aktivität. Saisonbedingte, geschlechtstypische Testosteronkonzentrationen stehen damit im Zusammenhang.

J. MELICHNA, E. GUTMANN, ANNA HERBRYCHOVÁ and JINDRA STICHOVÁ

Czechoslovak Academy of Sciences,
Institute of Physiology, Praha 4-Krc (Czechoslovakia),
11 June 1971.

¹² W. K. ENGEL, Neurology 12, 778 (1962).

¹³ M. BUREŠOVÁ and E. GUTMANN, Endocrinology 50, 643 (1971).

¹⁴ A. BASS, E. GUTMANN, V. HANZLÍKOVÁ and I. SYROVÝ, Physiologia bohem slov. 18, 177 (1969).

¹⁵ M. NUSSBAUM, Ergebn Anat. EntwGesch. 75, 39 (1905).

¹⁶ W. G. NAYLER, Life Sci. 7, 295 (1968).

¹⁷ M. MUKHERJEA, Ind. J. exp. Biol. 7, 231 (1969).

¹⁸ K. WACHHOLDER and F. NOTHMANN, Pflügers Arch. ges. Physiol. 229, 120 (1932).

Wirkung von NIH-LH auf das Ovar unreifer Ratten unter Progesteron-, Norgestrel- und Lynestrenol-Einfluss

Das Luteinisierungshormon LH stimuliert im Ovar das Interstitium, ist für die Follikelreifung und zur Ovulation nötig und bewirkt am reifen Follikel eine Stoffwechselumstellung zur Progesteronsynthese¹. Ob das Luteinisierungshormon unbedingt zur Oestrogensynthese im Ovar erforderlich ist, wird in Frage gestellt. Im Tierexperiment

ist gezeigt worden, dass ein weitgehend LH-freies FSH-Präparat auch Östrogensynthese induzieren kann². Zahlreiche klinische und tierexperimentelle Arbeiten befassen sich mit der Funktion des Ovariums unter der Wirkung von verschiedenen Steroidhormonen. Die oft widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich mit dem inhomogenen

Untersuchungsmaterial, mit den methodischen Unterschieden und mit den verschiedenen Wirkungen der einzelnen Substanzen, abhängig von der Dosis und von dem Zeitpunkt der Verabreichung, erklären³⁻⁵. In einer Reihe von Tierexperimenten hatten wir die Stimulierbarkeit der Ovarien unter verschiedenen Steroidhormonwirkungen untersucht^{6,7}. Die dabei erhobenen Befunde sind ebenfalls nicht einheitlich. Um zu einer möglichen Klärung dieser noch offenstehenden Fragen beizutragen, untersuchten wir jetzt die Wirkung von NIH-LH auf das Ovar unreifer intakter Ratten, wobei ebenfalls untersucht werden sollte, ob durch eine gleichzeitige Verabfolgung von Progesteron, Norgestrel und Lynestrenol die Wirkung des zugeführten LH verändert werden konnte.

Material und Methode. 40 unreife, 21-23 Tage alte weibliche Ratten aus dem Sprague-Dawley-Stamm wurden in 5 Gruppen eingeteilt. Je eine Gruppe wurde mit 1 mg/die Lynestrenol p.o. (Orgometril), 1 mg/die Progesteron i.m. (Proluton) und mit 1 mg/die Norgestrel i.m. 7 Tage lang behandelt. Am 5., 6. und 7. Versuchstag erhielten 4 Gruppen je 10 µg NIH-LH i.p. Die 5. Gruppe wurde nicht behandelt. Alle Tiere wurden am 8. Versuchstag getötet. Die Hypophysen, Ovarien, Uteri und Nebennieren wurden entnommen und im frischen Zustand gewogen,

fixiert und für histologische Untersuchungen eingebettet. Nach der Einbettung wurden 7 µm dicke Serienschnitte angefertigt und mit Haematoxilin-Eosin gefärbt. Die statistische Auswertung der Organgewichte erfolgte nach dem Student *t*-test-Verfahren.

Ergebnisse. Die Ovarien zeigten unter Progesteron-, Norgestrel- sowie Lynestrenolbehandlung eine signifikante Gewichtsverminderung ($P < 0,0005$; Figur 1). Die Uterusgewichte waren bei Progesteronbehandlung signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Nach Lynestrenolgabe kam es zu einer Gewichtserhöhung des Uterus. Die Gewichte der Hypophysen zeigten schon nach NIH-LH-Gabe eine signifikante Verminderung und die 3 Steroidhormone verursachten eine weitere Gewichtsabnahme ($P < 0,0005$; $P < 0,0125$). Bei den Nebennieren kam es zu keinen nennenswerten Gewichtsveränderungen. Die histologische Untersuchung der Ovarien ergab nach alleiniger NIH-LH-Gabe mehrere frische Corpora lutea (Figur 2). Ohne LH-Gabe enthalten die Ovarien in diesem Alter nur gelegentlich ein Corpus luteum. Unter Progesteron-, Norgestrel- oder Lynestrenol-Einfluss konnte das gegebene LH seine Wirkung nicht entfalten. Die Ovarien dieser drei Tiergruppen enthielten keine Corpora lutea (Figur 3). Die primären und sekundären Follikel sowie das Interstitium zeigten bei den einzelnen Tiergruppen keinen bemerkenswerten Unterschied. Die tertiären Follikel der mit Lynestrenol behandelten Tiere waren gelegentlich verändert und es wurden bei diesen Follikeln zwischen der Theca interna und der Granulosa-schicht zahlreiche Erythrozyten gefunden. Auch im Follikel-Cavum liessen sich Erythrozyten nachweisen (Figur 4). Bei den anderen Tiergruppen fanden wir solche Veränderungen nicht. Die Hypophysen und Nebennieren waren bei dieser Art der histologischen Untersuchung nicht nennenswert verändert, das Endometrium entsprach der Wirkung der einzelnen Substanzen.

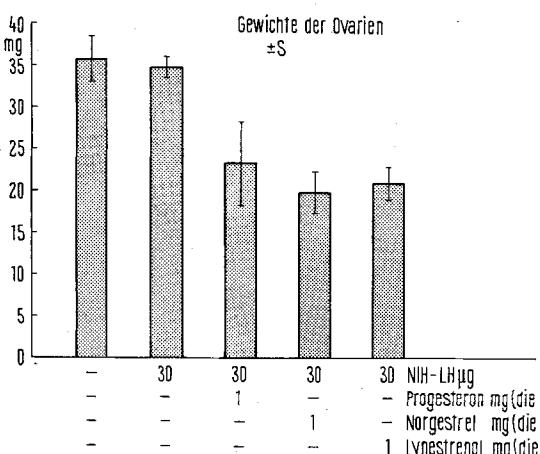


Fig. 1. Gewichtsverminderung der Ovarien unter Progesteron, Norgestrel sowie Lynestrenol, die gegenüber den Kontrollgruppen signifikant ist ($P < 0,0005$).

¹ R. BUCHHOLZ, Arch. Gynäk. 207, 107 (1969).

² P. PETRUSZ, C. ROBIN und E. DICZFALUSY, Acta endor., Copenh. 63, 454 (1970).

³ G. A. OVERBEEK und J. DE VISSER, Acta endocr., Copenh. Suppl. 90, 179 (1964).

⁴ J. STARUP und E. OSTERGAARD, Acta endocr., Copenh. 52, 292 (1966).

⁵ E. DICZFALUSY, Am. J. Obstet. Gynec. 7, 136 (1968).

⁶ A. UHLARIK und J. RIEKE, in Vorbereitung.

⁷ A. UHLARIK und H. WIEGAND, in Vorbereitung.

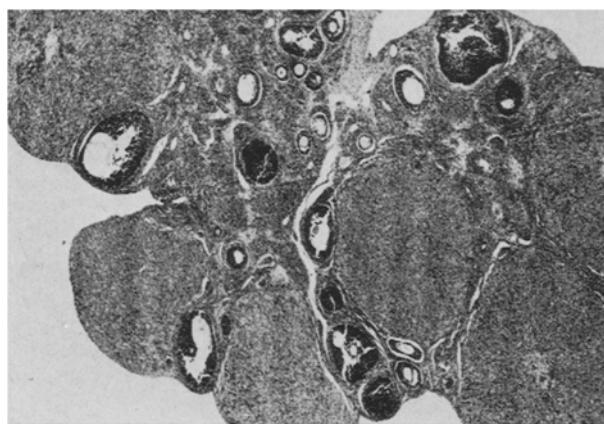


Fig. 2. Histologisches Bild eines Rattenovars nach 30 µg NIH-LH mit mehreren Corpora lutea. $\times 10$.



Fig. 3. Rattenovar nach Lynestrenol. Auf 30 µg NIH-LH kommt es nicht zur Ausbildung von Corpora lutea. $\times 10$.

Diskussion. Auf Grund von tierexperimentellen Befunden wird angenommen, dass unter den ovulationshemmenden Gestagenen zwei Haupttypen zu unterscheiden sind. Einmal Substanzen, welche die Ovulation durch die Blockierung der LH-Freisetzung unterdrücken und für ihre Wirkung weniger Zeit benötigen, zum andern die sogennanten «FSH-Inhibiting»-Typen. Deren Wirkung wird sichtbar in der mangelhaften Reifung der Follikel. Sie benötigen für die Entfaltung ihrer Wirkung mehr Zeit³. Es ist anzunehmen, dass die komplizierten Vorgänge in den Ovarien unter einem längeren Einfluss von Progestagenen nicht unbeeinflusst bleiben. Mehrere klinische und tierexperimentelle Befunde sprechen dafür, dass Progesteron und auch Progestagene auf der Ebene des Ovars ebenfalls eine Wirkung haben können^{4, 5, 8-13}. Weitere Ergebnisse bestätigen eine sichere Wirkung auf das Hypothalamus-Hypophysen-System¹⁴⁻¹⁹. Frühere Untersuchungen über die morphologischen Veränderungen in den Ovarien nach Progesterongabe führen zu der Schlussfolgerung, dass die LH-Freisetzung unterdrückt wird, während die FSH-Freisetzung unberührt bleibt²⁰⁻²².

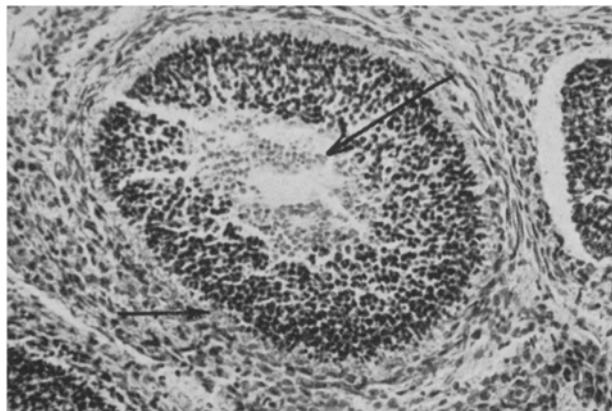


Fig. 4. Haemorrhagische Reaktion eines tertiären Follikels auf Lutestrenol-Behandlung. Zwischen der Theca interna und Stratum granulosum sowie im Cavum folliculi zahlreiche Erythrozyten. $\times 80$.

- ⁸ G. A. OVERBEEK und J. DE VISSER, Int. J. Fert. 9, 177 (1964).
- ⁹ B. LUNENFELD, Int. J. Fert. 9, 167 (1964).
- ¹⁰ G. HECHT-LUCARI, Int. J. Fert. 9, 205 (1964).
- ¹¹ A. E. ARGUELLES, C. M. SABORIDA und M. CHEKHEROEMIAN, Int. J. Fert. 9, 217 (1964).
- ¹² E. DICZFALUSY, Br. med. J. 2, 1394 (1965).
- ¹³ R. BUCHHOLZ, *Handbuch der experimentellen Pharmakologie* (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1969), vol. 23, p. 720.
- ¹⁴ E. B. ASTWOOD und H. L. FEWOLD, Am. J. Physiol. 127, 192 (1939).
- ¹⁵ M. KAWAKAMI und C. H. SAWYER, Endocrinology 65, 652 (1959).
- ¹⁶ C. L. RALPH und R. M. FRAPS, Endocrinology 66, 269 (1960).
- ¹⁷ T. KOBAYASHI, S. TAKEZAWA und K. OISHIMA, Endocr. jap. 9, 302 (1962).
- ¹⁸ C. A. BARRACLOUGH, S. YRARAZAUAL und R. HATTON, Endocrinology 75, 838 (1964).
- ¹⁹ G. DÖRNER und F. DÖCKE, 2nd Int. Congr. Hormon Ster., Excerpta med., int. Congr. Section 111, 194 (1966).

In unserer Versuchsanordnung konnten wir die LH-Wirkung auf das Ovar unreifer Ratten durch Gestagenbehandlung unterdrücken. Nach NIH-LH-Gabe haben wir in den Ovarien unter Progesteron-, Norgestrel- oder Lynestrenol-Einfluss keine Corpora lutea gefunden. Dies widerspricht Untersuchungsergebnissen mit unveränderter LH-Wirkung unter Progesteron-Einfluss²³⁻²⁵. Nach Norgestrel- und Lynestrenol-Behandlung wurde in den Ovarien das gleiche Bild wie nach einer Progesteron-Behandlung gefunden. Dieser Befund spräche für eine Unterdrückung der FSH-Freisetzung oder für eine Hemmung sowohl der FSH- als auch der LH-Ausschüttung. Die signifikanten Gewichtsverminderungen der Ovarien unter allen drei verabfolgten Gestagenen unterstreichen diese Wirkung. Die oft erwähnte selektive Wirkung dieser Substanzen auf die Hypophyse^{26, 27} konnten wir bei dieser Versuchsanordnung nicht demonstrieren. Es ist bekannt, dass z.B. Progesteron die «Realizingfactor»-Freisetzung nach anfänglicher Sensibilisierung erschwert. Der eigentliche Wirkungsort der von uns benutzten Substanzen ist bei dieser Versuchsanordnung ebenfalls im Hypothalamus zu suchen. Interessant ist, dass die alleinige NIH-LH-Gabe eine signifikante Gewichtsverminderung der Hypophysen hervorruft. Für eine direkte Beeinflussung des Ovars durch Lynestrenol sprach die hämorrhagische Reaktion einiger Tertiärfollikel. Ähnliche morphologische Veränderungen wurden unter Lynestrenoleinwirkung auch beim menschlichen Ovarium beobachtet²⁸. Das Uterusgewicht und das histologische Bild entsprachen den Erwartungen der früheren Untersuchungen^{25, 29}.

Summary. The influence of NIH-LH upon the ovary of infantile rats can be eliminated by treatment with progesterone, norgestrel and lynestrenol. This result suggests suppression of the hypophysary functions of gonadotropines. A direct influence of lynestrenol on the ovary suggests the presumption that some tertiary follicles change haemorrhagically.

A. UHLARIK³⁰

Universitäts-Frauenklinik und Hebammenlehranstalt,
Pilgrimstein 3, D-355 Marburg an der Lahn (Deutschland),
29. Juni 1971.

- ²⁰ F. L. HISAW, R. K. MEYER und C. K. WEICHERT, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 25, 754 (1928).
- ²¹ G. GIULIANI, L. MARTINI, A. PECILE und M. FOCHI, Acta endocr., Copenh. 38, 1 (1961).
- ²² S. N. McCANN, Am. J. Physiol. 202, 601 (1962).
- ²³ E. W. DEMPSEY, Am. J. Physiol. 120, 126 (1937).
- ²⁴ R. IGLESIAS, A. LIPSCHÜTZ und E. MARDONES, J. Endocr. 6, 369 (1950).
- ²⁵ J. PORATH und A. W. SCHALLY, Endocrinology 70, 738 (1962).
- ²⁶ G. A. OVERBEEK, Z. MADJEREK und J. DE VISSER, Acta endocr., Copenh. 41, 351 (1962).
- ²⁷ H. ERN und K. S. LUDWIG, Experientia 21, 159 (1965).
- ²⁸ J. LAUWERYS und J. FERIN, Int. J. Fert. 9, 35 (1964).
- ²⁹ S. UHLARIK, L. KOVACS, S. VISKI und F. E. SZONTAGH, Endocrinology 47, 82 (1964).
- ³⁰ Die Untersuchungen wurden mit einer Forschungsbeihilfe der Ford Foundation durchgeführt.

Running Activity of Ovarian Tumorigenic Mice

Sterile female mice of the genic *W* series all develop genetically spontaneous ovarian tubular adenomas by 7 months of age and all have atrophic uteri in adult life. At 2 months of age, the ovaries of the genic *W* series lack ova, follicles and are distinctly atrophic¹⁻³. Mice of the C3B6F1-*W* series in many instances had no hair over the

entire face, so we called them 'bald-faced mice'. Genetically developed tumor-bearing animals exhibited the most extensive hair loss⁴.

The 4 genotypes of the C3B6F1-*W* series were studied for the relationship between running activity and ovarian tumorigenesis. Ovarian tumor-bearing mice (*W^xW^v*)