

der Atmung der Spermien zugeschrieben, während es jetzt klargelegt ist, dass im Sperma auch bei Abwesenheit von Spermatozoen vollständige, sauerstoffverbrauchende Fermentsysteme vorhanden sind. Um die Atmung der Spermien selber beobachten zu können, müsste man diese von den Spermaflüssigkeiten zuerst abtrennen. Nun ist es auch begreiflich, dass der Sauerstoffverbrauch eines Sperma um so kleiner, je grösser die Spermienzahl pro Volumeinheit ist¹⁾.

Für die Beweglichkeit der Spermien scheint das DO-System der Spermaflüssigkeit ohne Bedeutung zu sein, da jene auch im Cyanidhaltigen Medium noch erhalten ist²⁾, während die DO durch Kaliumcyanid gewöhnlich gehemmt wird³⁾.

Zusammenfassung.

1. Im menschlichen Sperma finden sich 0,5—1 Diamin-oxydase-Einheiten, etwa 100mal mehr als im gleichen Volumen Serum.

2. Daneben existiert mindestens noch ein weiteres, durch Semicarbazid nicht hemmbares vollständiges sauerstoffverbrauchendes Enzysystem in der Spermaflüssigkeit.

3. Der Sauerstoffverbrauch des Sperma ist nicht in erster Linie den Spermien, sondern den in der Spermaflüssigkeit gelösten Fermentsystemen zuzuschreiben.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

14. Weibliche Sexualhormone, Schwangerschaft und Cholin-esterase.

2. Mitteilung über Beziehungen zwischen Sexualhormonen und Fermenten

von **E. Albert Zeller** und **Hans Birkhäuser**.

(30. XII. 40.)

In der vorangehenden Mitteilung⁴⁾ konnte gezeigt werden, dass bei der weissen Ratte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Cholin-esterase (ChE) der Leber und weiblichen Sexualhormonen besteht. Bei Männchen, bei juvenilen und bei kastrierten Weibchen war der ChE-Gehalt dieses Organs niedrig, bei reifen Weibchen aber hoch. Bei kastrierten Weibchen stieg er über den der reifen Tiere hinaus, wenn jene mit grossen Dosen Oestradiol und Progesteron behandelt worden waren.

¹⁾ K. Windstosser, Klin. Wschr. **14**, 193 (1935).

²⁾ Iwanoff, zitiert nach B. Belonoschkin, Arch. Gynäkol. **169**, 151 (1939).

³⁾ E. A. Zeller, Helv. **23**, 1418 (1940).

⁴⁾ 1. Mitteilung: H. Birkhäuser und E. A. Zeller, Helv. **23**, 1460 (1940).

Diese Versuche wurden in verschiedener Hinsicht weitergeführt. So wurde der Einfluss der beiden Hormone getrennt bestimmt und nicht nur Weibchen, sondern auch kastrierte Männchen der Wirkung des Follikelhormons Oestradiol unterworfen. Schliesslich wurde auch der ChE-Gehalt der Leber von graviden Tieren untersucht, da in der Schwangerschaft von der Placenta grosse Mengen von Follikelhormon gebildet werden. Das Verhalten der ChE bei diesem Zustand interessierte uns auch wegen der bei diesem gefundenen starken Erhöhung eines andern Enzyms, der Diamin-oxydase (DO), bei Mensch¹⁾ und Tier²⁾. Beide Fermente sind nämlich aufs engste miteinander verknüpft: Die Substrate der DO hemmen die ChE (vgl. Abschnitt 4) und umgekehrt blockiert das Reaktionsprodukt der ChE, das Cholin, die DO³⁾. Sowohl die DO wie die ChE werden durch Aneurin (Vitamin B₁) ausgeschaltet³⁾.

Methodik.

Die Herstellung der Fermentlösungen und die manometrische ChE-Bestimmungen wurden in genau gleicher Weise, wie es früher beschrieben wurde⁴⁾, durchgeführt. Bei Versuchen dieser Art ist es äusserst wichtig, dass die Enzymlösungen von verschiedenen Tieren miteinander vergleichbar sind und dass sie praktisch die ganze Fermentmenge des betreffenden Organs enthalten.

Die Albinoratten mit dem Wurfdatum vom 22. 1. 40 wurden am 6. 6. 40 kastriert⁵⁾. Sie waren bei der Kastration 5 ½ Monate alt und geschlechtsreif. Nach weiteren 4 ½ Monaten wurde den Tieren zwischen dem 24. 10. und 20. 11. 40 dreimal in Abständen von einer Woche 0,5 cm³ Sesamöl, in dem 100 γ Oestradiol resp. 500 γ Progesteron enthalten war, subcutan injiziert. Insgesamt erhielten sie damit 300 γ Oestradiol resp. 1500 γ Progesteron. Am 23. bis 27. 11. 40 wurden die Ratten getötet und in der Leber die ChE und DO gemessen.

Bei den weiblichen Tieren wurde unmittelbar vor der Tötung ein Vaginalabstrich gemacht. Die unbehandelten Kontrolltiere zeigten das Bild des Diöstrus (Ruhestadium) mit Leukocyten und kernhaltigen Epithelzellen, ebenso diejenigen, denen reines Sesamöl injiziert worden war. Bei den Oestradiol-Ratten fand sich der typische Vollöstrus mit kernlosen Epithelzellen (Schollen), bei den Progesterontieren neben vielen Leukocyten und verhältnismässig wenigen kern-

¹⁾ E. A. Zeller und H. Birkhäuser, Schweiz. med. Wschr. **70**, 975 (1940); E. A. Zeller, Helv. **23**, 1509 (1940); Klin. Wschr. **20** (1941) im Druck; Schweiz. med. Wschr. **71** (1941) im Druck.

²⁾ E. A. Zeller, Helv. **23**, 1502 (1940).

³⁾ Literatur bei E. A. Zeller und H. Birkhäuser, Helv. **23**, 1457 (1940).

⁴⁾ H. Birkhäuser, Helv. **23**, 1071 (1940).

⁵⁾ Kastration (Rückenschnitt, Diathermiemesser) im Laboratorium der Gesellschaft für Chem. Industrie, Basel (Ciba), der wir für die Ermöglichung dieser Operation wie auch für das gelieferte Oestradiol-dipropionat und Progesteron bestens danken.

haltigen einige vereinzelte kernlose Epithelzellen. Bei der Sektion war der Uterus bei den unbehandelten Kontrolltieren und bei den Progesteron-Tieren klein und schlank, bei den Oestradiol-Tieren vergrößert.

Die graviden Ratten stammten aus der gleichen Zucht wie die übrigen Ratten. Mit 2 Ausnahmen war der Beginn der Trächtigkeit genau bekannt.

Die Zahl der verwendeten Tiere war nicht gross. Die Versuche führten trotzdem zu einem eindeutigen Ergebnis, weil die Ratten aus einer äusserst homogenen und sorgfältig geführten Zucht stammten, so dass die Werte von verschiedenen Tieren, die auf die gleiche Weise behandelt worden waren, sehr gut miteinander übereinstimmten, während anderseits die gefundenen Abweichungen so gross sind, dass sie sicher ausserhalb der von vielen frühern Versuchen bekannten Variationsbreite des Tiermaterials lagen (vgl. vorangehende Mitteilung I. c.).

1. Oestradiol und Leber-Cholin-esterase von Männchen.

In der Tabelle 1 sind die betreffenden Versuche zusammengefasst. In dieser wie in den nachfolgenden geben die Werte die Zahl der in 60 Minuten in Freiheit gesetzten $\text{mm}^3 \text{CO}_2$ an, die ein gutes Mass für die Menge der vorhandenen aktiven ChE bildet (*Birkhäuser* I. c.). Unmittelbar nebeneinander stehende, durch Bruchstrich getrennte Werte entsprechen Doppelversuchen. Vergleichshalber sind einige Mittelwerte der ersten Mitteilung mitangeführt und mit I bezeichnet.

Tabelle 1.

Cholinesterase in der Leber von Rattenmännchen.

| Vorbehandlung der Tiere | $\text{mm}^3 \text{CO}_2/\text{Stunde}$ | | Mittelwert |
|--------------------------------------|---|-------|------------|
| I, juvenil | | | 9,5 |
| I, geschlechtsreif | | | 13 |
| geschlechtsreif, kastriert | 19/21 | 16/17 | 18 |
| kastriert, Oestradiol | 65/66,5 | 34 | 50 |

Aus der Tabelle geht hervor, dass die Kastration beim Männchen die ChE der Leber zu erhöhen scheint. Eine sehr deutliche und sichere Zunahme findet sich nach Oestradiol, das also hier die gleiche, wenn auch etwas schwächere Wirkung wie beim kastrierten Weibchen hat (vgl. Tabelle 2).

2. Oestradiol und Leber-Cholin-esterase von Weibchen.

Die entsprechenden Versuche sind in gleicher Weise wie in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 2.

Cholinesterase in der Leber von Rattenweibchen.

| Vorbehandlung der Tiere | mm ³ CO ₂ /Stunde | Mittelwerte |
|---|---|-------------|
| I, juvenil | | 17 |
| I, geschlechtsreif | | 65 |
| I, reif, kastriert | | 32 |
| I, reif, kastriert, Oestradiol + Progesteron | | 106 |
| reif | 58/60,5 | 59 |
| reif, kastriert | 20/20 | 20 |
| reif, kastriert, Sesamöl | 23/25 14/16 | 20 |
| reif, kastriert, Progesteron | 16/18 17,5/18 13/16 | 16 |
| reif, kastriert, Oestradiol | 88/92 57 84 | 77 |

Diese Versuche bestätigen diejenigen der vorangehenden Mitteilung: Kastration bewirkt beim reifen Weibchen eine starke Erniedrigung des ChE-Gehalts der Leber. Weder Sesamöl, das Lösungsmittel für die Hormone, noch Progesteron, das Gelbkörperhormon, vermögen die Aktivität zu steigern, wohl aber das Follikelhormon Oestradiol. Die in der 1. Mitteilung beschriebene Zunahme nach Injektion von Oestradiol + Progesteron ist damit hauptsächlich dem erstern zuzuschreiben. Der früher gefundene Mittelwert liegt höher als der spätere, was von der kleinen Abweichung in der Versuchsanordnung herrühren kann. Oder es könnte hier ein enzymchemisches Analogon für die bekannte Erfahrung vorliegen, dass nur ein mit Follikelhormon sensibilisierter Uterus auf Progesteron reagiert. Diese Frage muss noch durch weitere Versuche abgeklärt werden.

3. Leber-Cholin-esterase und Gravidität.

Es wurde in der Einleitung bemerkt, dass in der Gravidität grosse Mengen von Follikelhormon von der Plazenta gebildet werden. Es interessierte uns, zu erfahren, ob dieses endogen gebildete Follikelhormon die gleiche Wirkung wie das injizierte Oestradiol auf die ChE der Leber ausüben würde. In der Tabelle 3 sind die betreffenden Werte angegeben. Mit Ausnahme von 2 Tieren war der Beginn der Trächtigkeit genau bekannt.

Aus der Tabelle geht hervor, dass die erwartete Veränderung im ChE-Gehalt der Leber bei der Gravidität sich experimentell bestätigen liess. Die Zunahme erfolgt sehr rasch und scheint, wenn die wenigen Versuche diesen Schluss gestatten, in der Mitte der Trächtigkeitsperiode von einer leichten Abnahme gefolgt zu sein, die nach dem Werfen schon nach einem Tag bis zu einer unterhalb der Norm liegenden Aktivität führt. Erst nach mehreren Wochen

beginnen die Werte wieder normal zu werden. Dieser starke Wechsel eines Leberferments innerhalb kurzer Zeit ist in der Figur 1 nochmals zur Darstellung gebracht worden.

Tabelle 3.

Cholinesterase in der Rattenleber während und nach der Gravidität.

| Zeit | mm ³ CO ₂ /Stunde | | Mittelwert |
|-------------------------------------|---|---------|------------|
| Weibchen, geschlechtsreif | | | 59 |
| gravid, 7. Tag | 79/79 | 85/85 | 82 |
| gravid, ca. 10. Tag | 131 | 145 | 138 |
| gravid, 13. Tag | 127/133 | 113/114 | 122 |
| gravid, 15. Tag | 117/118 | | 118 |
| gravid, 18. Tag | 104/106 | | 105 |
| 1 Tag post partum | 34/35 | 27 | 32 |
| 8 Tage p. p. | 14 | 26 | 20 |
| 16 Tage p. p. | 11/14 | | 13 |
| 18 Tage p. p. | 12/12 | | 12 |
| 23 Tage p. p. | 11/11 | 15/17 | 14 |
| 35 Tage p. p. | 48 | | 48 |

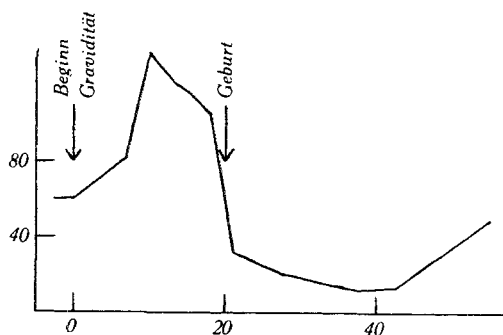


Fig. 1.

Die Beeinflussung der Leber-Cholinesterase durch die Gravidität.

Abszisse: Zahl der Tage nach Beginn der Gravidität.

Ordinate: mm³ CO₂/60 Minuten als Mass für die ChE-Aktivität

Bei der ChE wiederholt sich somit die bei der DO gemachte Erfahrung, dass die Schwangerschaft mit einer tiefgreifenden Veränderung des Fermentchemismus des Körpers verbunden ist.

4. Über den Mechanismus der Aktivitätsänderungen der Leber-Cholin-esterase.

Für diesen rasch erfolgenden Wechsel der Leber-ChE kommen verschiedene Mechanismen in Frage. Es kann sich bei der Zunahme

um eine substantielle Vermehrung des Ferments, um ein Auftreten eines Aktivators oder um ein Verschwinden eines Inhibitors handeln. In der ersten Mitteilung wurde dargelegt, dass dem Follikelhormon nicht einfach die Rolle eines Aktivators zukommt, da es erst nach einer gewissen Zeit, nach dem die Wirkung auf die Geschlechtsorgane schon sichtbar geworden ist, die Leber-ChE erhöht. Bei der Betrachtung solcher ausgiebigen Schwankungen, wie sie beispielsweise nach der Geburt auftreten, wird daher wohl zuerst an das Auftreten und Verschwinden von Hemmungsstoffen zu denken sein. Körper-eigene Inhibitoren der ChE sind das Histamin¹⁾ und andere Substrate der DO²⁾. Es liegt nahe, einen solchen Zusammenhang mit den Diaminen anzunehmen, da deren Stoffwechsel, wie in der Einleitung hingewiesen wurde, in der Schwangerschaft grossen Änderungen unterworfen ist. Es kommen aber auch noch andere basische Substanzen in Frage, da wohl alle Basen, in genügend grosser Konzentration angewandt, die ChE hemmen, wie das soeben der eine von uns am Beispiel mehrerer basischer Farbstoffe zeigen konnte³⁾. Wenn diese Vorstellungen richtig sind, dann müsste es gelingen, die beobachteten Unterschiede zwischen graviden und nichtgraviden Tieren durch Lösung der Bindung ChE-Base zum Verschwinden zu bringen. Das wurde vorerst durch eine einfache, zweitägige Dialyse gegen Bicarbonat-Ringer zu erreichen versucht (Tabelle 4).

Tabelle 4.

Einfluss der Dialyse auf die Cholin-esterase der Leber.

| | mm ³ CO ₂ /Stunde | |
|--------------------------------|---|----------------|
| | vor der Dial. | nach der Dial. |
| 5 Wochen nach Werfen | 35 | 38 |
| 13. Tag Trächtigkeit | 114 | 130 |

Die Versuche zeigten, dass eine solche Bindung, sofern sie existiert, nicht durch eine einfache Dialyse aufgespalten werden kann.

Diskussion der Ergebnisse.

Zwischen dem Follikelhormon Oestradiol und der Leber-ChE besteht ein eindeutiger Zusammenhang. Bei Männchen und Weibchen nimmt diese zu, wenn der Organismus der Wirkung von endogenem (Geschlechtsreifung, Gravidität) oder exogenem Follikelhormon unterworfen wird. Progesteron übt keinen Einfluss aus, oder nur nach Vorbehandlung mit Follikelhormon. Dafür spricht auch das Ergebnis,

¹⁾ Wense, Fermentforsch. **15**, 291 (1937).

²⁾ Unveröffentlichte Versuche.

³⁾ H. Birkhäuser, Schweiz. med. Wschr. **71** (1941), im Druck.

dass auch mit grossen Mengen von Oestradiol nicht die gleich starke Steigerung der Leber-ChE wie mit Oestradiol+Progesteron oder durch die Schwangerschaft, bei der beide Hormongruppen in vermehrter Masse gebildet werden, erzielt werden kann.

Es ist in der ersten Mitteilung die Möglichkeit diskutiert worden, ob die Erhöhung der ChE durch eine Steigerung der Acetyl-cholin-Bildung bedingt sei. Tatsächlich findet sich durch Behandlung mit Follikelhormon¹⁾ und durch die Gravidität²⁾ eine Erhöhung des Acetyl-cholingehaltes des Kaninchenuterus. Die Ergebnisse der vorliegenden Mitteilung stehen in Übereinstimmung mit dieser Vorstellung.

Die biologische Bedeutung dieser Zusammenhänge zwischen einem so einfachen chemischen Körper wie dem Oestradiol und einem Ferment, der ChE der Leber, könnte die sein, dass die durch jenes hervorgerufene Mehrbildung von Acetyl-cholin durch lokale Verstärkung der Durchblutung das Wachstum und die Entwicklung der Geschlechtsorgane (primäre Geschlechtsmerkmale) und sekundären Geschlechtsmerkmale fördert. Der verstärkten ChE-Aktivität der Leber käme dann die Aufgabe zu, überschüssiges Acetyl-cholin zu eliminieren.

Zusammenfassung.

1. Die Leber-ChE der Ratte wird beim kastrierten Männchen und Weibchen durch Injektion von Oestradiol erhöht. Progesteron allein ist in dieser Hinsicht wirkungslos.

2. In der Schwangerschaft nimmt die Aktivität der Leber-ChE ebenfalls zu und erreicht die höchsten bisher beobachteten Werte.

3. Nach dem Werfen sinkt die Leber-ChE sehr rasch ab und bleibt für mehrere Wochen auf der niedrigen Stufe von juvenilen Tieren stehen.

Wir danken Frl. *L. Gschaedler* für die sorgfältige Vorbereitung der Tiere und Frl. *A. Buser* für die gewissenhafte Durchführung der ChE-Bestimmungen.

Physiologisch-chemisches Institut und
Medizinische Klinik der Universität Basel.

¹⁾ *S. R. M. Reynolds*, *J. Physiol.* **95**, 258 (1939).

²⁾ *S. R. M. Reynolds* und *F. J. Foster*, *Am. J. Physiol.* **127**, 343 (1939).