

1. Weitere Untersuchungen über Sexualhormone mit dem „*Nipple-Test*“

von W. Jadassohn, H. E. Fierz und E. Pfanner.

(7. XI. 41.)

Nachdem wir ein Verfahren zur Messung der Länge der Meerschweinchenzitze (*Nipple-Test*) ausgearbeitet hatten, konnten wir eine ganze Anzahl Fragen aus dem Gebiete der Sexualhormone mit diesem Verfahren untersuchen. So haben wir z. B. untersucht: die Wirkung von injizierten und percutan applizierten weiblichen und männlichen Sexualhormonen, die Abhängigkeit von Dosis und Wirkung („quantitativer lokaler *Nipple-Test*“), die Wirkung von percutan applizierten Urinen von Mensch und Tier, die Beeinflussung der Wirkung von percutan appliziertem Oestron durch Kastration und durch Testosteron-propionatinjektionen u. a. m.¹⁾.

Wir haben die *Nipple-Test*-Versuche weiter fortgesetzt und wollen im folgenden berichten 1. über das Verhalten der durch Oestronbehandlung vergrößerten Meerschweinchenzitzen nach Aussetzen der Behandlung. 2. über den *Nipple-Test* beim schwangeren und stillenden Meerschweinchen, 3. über den *Nipple-Test* mit grossen, percutan applizierten Dosen von weiblichem Sexualhormon und 4. über weitere Versuche betreffend den Antagonismus Testosteron-propionat und Oestron.

1. 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.

¹⁾ Literatur über den *Nipple-Test*: s. W. Jadassohn, H. E. Fierz und G. Ruffoni, Helv. 23, 569 (1940), und W. Jadassohn, E. Uehlinger und H. E. Fierz, Schweiz. med. Wochschr. 71, 6 (1941).

Zuerst sei noch eine andere Frage gestellt: bleibt bei fort-dauernder Hormonapplikation ein einmal erzielter Effekt bestehen oder entwickelt sich auf irgendeine Weise (z. B. Antihormone) eine Unempfindlichkeit, so dass trotz fortdauernder Medikament-Applikation die Wirkung abnimmt oder gänzlich verschwindet? Ein Blick auf Fig. 1 zeigt, dass bei der percutanen Oestronapplikation auf die Meerschweinchenzitze der erzielte Effekt (Verlängerung der Zitze) erhalten bleibt, wenn die Hormonapplikation weitergeführt wird.

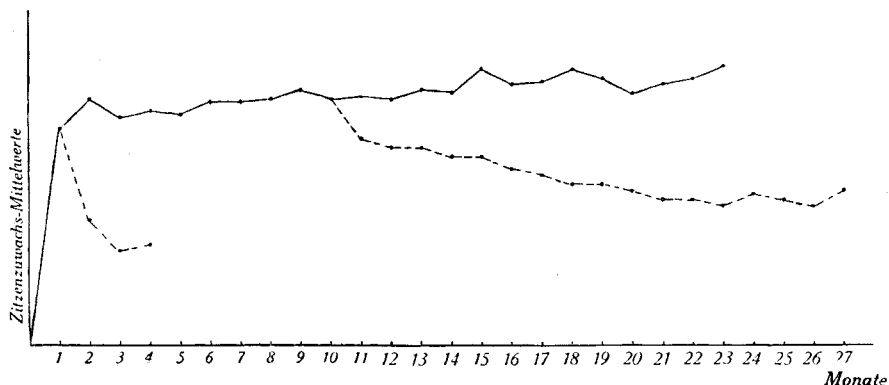


Fig. 1.

- Zitzenzuwachs-Mittelwerte während der Behandlung (Auftröpfen einer Lösung, enthaltend 1 γ Oestron/cm³, 1 Tropfen pro Tag).
- Zitzenzuwachs-Mittelwerte nach Aussetzen der Behandlung.

4 mm = 1 Monat.

Mehr als 2 Jahre haben wir täglich Oestron appliziert. Die einmal erzielte Verlängerung der Meerschweinchenzitze blieb bestehen. Das gleiche Resultat zeigt Fig. 2, in der eine kleinere Menge Oestron während einer kürzeren Zeitperiode täglich appliziert wurde. Bei einer während vielen Monaten fortgeführten percutanen Oestronapplikation bleibt der einmal erzielte Effekt bestehen. Es entwickelt sich keine Unempfindlichkeit gegenüber dem Hormon.

Nach dieser Feststellung kommen wir jetzt zur Beantwortung der Hauptfrage dieses Abschnittes. Wie verhält sich die durch percutane Oestronapplikation verlängerte Meerschweinchenzitze nach Aussetzen der Therapie? Ein Blick auf Fig. 1 und 2 ergibt die Antwort. Nach Aussetzen der Behandlung nimmt der erzielte Effekt ab, 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 viele Monate dauerte, als wenn sie nur während eines Monats erfolgte.

Wir stellen also fest: Der durch percutane Oestronapplikation erzielte Effekt auf die Meerschweinchenzitze (Verlängerung) bildet sich nach Aussetzen der Behandlung zurück, aber diese Rückbildung erfolgt sehr langsam und auch nach Monaten ist die Zitze nicht normal. Die Rückbildung erfolgt besonders langsam, wenn sehr lange behandelt wurde.

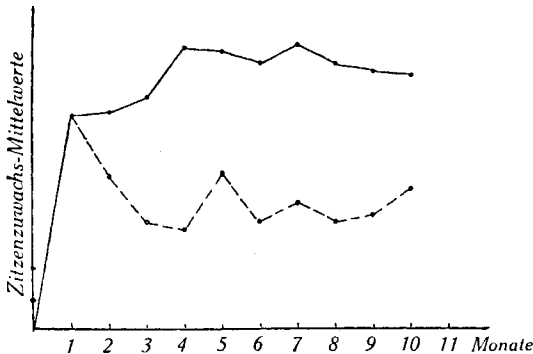


Fig. 2.

—— Zitzenzuwachs-Mittelwerte während der Behandlung (Auftropfen einer Lösung, enthaltend $0,1 \gamma$ Oestron/cm³, 1 Tropfen pro Tag).
---- Zitzenzuwachs-Mittelwerte nach Aussetzen der Behandlung.
5 mm = 1 Monat.

Daraus ergibt sich für die Praxis nur folgendes: Ein durch weibliches Sexualhormon erzielter Effekt kann unter Umständen nach Aussetzen der Therapie nur sehr langsam und unvollständig wieder zurückgehen. Je nach dem Effekt kann das 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 a priori annehmen, dass nach Aussetzen der Therapie in kürzester Zeit der Status quo ante wieder erreicht werden muss.

2. Die Zitzenlänge schwangerer und stillender Meerschweinchen.

Es erschien uns von Interesse, während und nach der Schwangerschaft die Zitze des Meerschweinchens messend zu verfolgen. Die Resultate bei verschiedenen Tieren sind derart analog, dass es vollkommen genügt, eine Kurve als Beispiel zu bringen.

Aus der Kurve ist zu ersehen, dass während der Schwangerschaft die Zitzenlänge zunimmt. Kurz vor der Geburt ist die Zitze mindestens 3mal 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.) Gleich 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 3mal so lang ist wie zu Beginn der Gravidität, sondern mindestens 5mal 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. Lässt man die Jungen jetzt an 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.

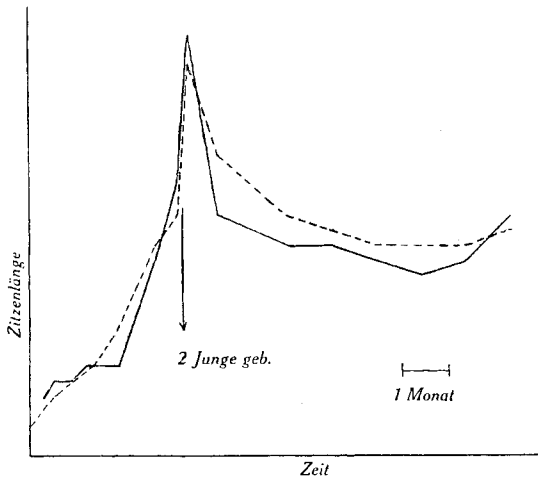


Fig. 3.

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

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 wie in den im ersten Abschnitt besprochenen Versuchen 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 2. Zunahme wird durch das Säugen 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 dem ersten Partus bestimmt wurden, wieder zu erreichen.

3. Dosis und Wirkung.

Wir haben früher nachgewiesen, dass bei percutaner Applikation kleiner Dosen von Oestron und Stilböstrol auf die Meer-schweinchenzitzen das *Weber-Fechner'sche* Gesetz gilt. D. h. die Wirkungskurve ist eine Gerade, wenn die Zitzenverlängerung auf der Ordinate und der Logarithmus der Dosis auf der Abszisse aufgetragen wird. Ganz grob kann man das folgendermassen ausdrücken: Eine starke Vermehrung der Dosis bewirkt nur eine geringe Verstärkung des Effektes. Das *Weber-Fechner'sche* Gesetz gilt nur für kleine Dosen. Bei etwas grösseren Dosen (etwa 0,5 γ Oestron pro cm^3 oder 0,05 γ Stilböstrol pro cm^3) nimmt der Effekt nicht mehr zu. Diese Feststellung erscheint uns wichtig, weil sie uns zeigt, dass es nicht unbedingt gelingen muss, mit grossen Dosen mehr zu erreichen als mit kleinen. Wir haben jetzt sehr viel grössere Dosen untersucht. Wir haben Lösungen hergestellt, die 100 γ Oestron resp. Stilböstrol, in Aceton und Wasser zu gleichen Teilen, enthielten. (Die früheren Versuche waren mit dem gleichen Lösungsmittel durchgeführt worden.)

Die Versuche ergaben folgendes:

Tabelle I.

Oestron	Zitzenzuwachs 30. Tag	Stilböstrol	Zitzenzuwachs 30. Tag
0,5 γ	$6,83 \pm 0,38^*$	0,5 γ	$5,90 \pm 0,69^*$
2,0 γ	$7,05 \pm 0,48^*$	2,0 γ	$6,40 \pm 0,83^*$
100,0 γ	$3,90 \pm 0,54^*$	100,0 γ	$3,95 \pm 0,48^*$

* Die Zahlen bedeuten die mit 2,6 multiplizierte mittlere Abweichung des Mittelwertes.

Es zeigt sich also ein geringerer Effekt bei der Verwendung von Lösungen mit 100 γ/cm^3 Oestron, resp. Stilböstrol als bei der Verwendung von solchen mit 2 γ/cm^3 .

Wir können unsere Feststellungen folgendermassen zusammenfassen: Eine Vermehrung der Dosis bewirkt im Bereich kleiner Dosen im lokalen *Nipple-Test* eine Verstärkung des Effektes. Hier gilt das *Weber-Fechner'sche* Gesetz, d. h. einer starken Dosisvermehrung entspricht nur eine geringe Zunahme des Effektes. Eine Vergrösserung der Dosis über einen für verschiedene weibliche Sexualhormone verschieden hohen Wert hinaus ergibt keine Vergrösserung

des Effektes mehr. (Es wird ein maximaler Effekt erreicht.) Eine noch stärkere Vergrößerung der Dosis bewirkt eine sehr erhebliche Verringerung des Effektes. Es wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, festzustellen, inwiefern diese an der Zitze des Meerschweinchens gemachten Feststellungen auch für andere Organe gelten. Vorläufig muss festgehalten werden, dass im lokalen *Nipple*-Test eine optimale Dosis, resp. ein optimaler Dosisbereich gefunden wurde. Kleinere, aber auch grössere Dosen haben einen geringeren Effekt.

4. Antagonismus von weiblichen und männlichen Sexualhormonen.

Wir haben kürzlich mitgeteilt, dass die durch percutane Oestronapplikation erzielte Zitzenverlängerung durch Testosteron-propionat-injektionen gehemmt werden kann. Es lag nahe, zu untersuchen, wie sich die Meerschweinchenzitze bei der Injektion von Oestron-Testosteron-propionatgemischen verhält.

Sämtliche verwendete Lösungen enthielten in 0,2 cm³ Sesamöl 1 γ Oestron; Lösung 1) kein Testosteron-propionat, Lösung 2) 500 γ und Lösung 3) 5000 γ Testosteron-propionat neben 1 γ Oestron in 0,2 cm³ Öl. Es wurde täglich jedem Meerschweinchen 0,2 cm³ Lösung injiziert. Tabelle II ergibt die Resultate (pro Lösung wurden 10 Meerschweinchen verwendet).

Tabelle II.

Lösung	Oestron pro die	Testosteron- propionat pro die	Zitzenzuwachs- wert 30. Tag
1	1 γ	—	4,29 \pm 0,46*
2	1 γ	500 γ	3,04 \pm 0,37*
3	1 γ	5000 γ	1,72 \pm 0,34*

* Die Zahlen bedeuten die mit 2,6 multiplizierte mittlere Abweichung des Mittelwertes.

Daraus ergibt sich, dass die Wirkung von subcutan injiziertem Oestron auf die Meerschweinchenzitze durch der Oestronlösung beigefügtes Testosteron-propionat gehemmt wird, aber auch 5000 γ Testosteron-propionat genügen nicht, um die Wirkung von 1 γ Oestron auf die Zitze aufzuheben.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Wird während vieler Monate täglich Oestronlösung auf die Meerschweinchenzitze aufgetropft, so bleibt der während des ersten Monats erzielte Effekt (Zitzenverlängerung) bestehen.

2. Wird die Behandlung ausgesetzt, so geht der erzielte Effekt zurück, die Zitze wird kürzer, aber diese Rückbildung erfolgt sehr langsam und auch nach Monaten ist die Zitze nicht wieder normal. Die Rückbildung erfolgt besonders langsam, wenn sehr lange behandelt wurde.

3. Während der Gravidität nimmt die Zitzenlänge des Meerschweinchens zu. Unmittelbar post partum erfolgt eine weitere sehr starke Zunahme der Zitzenlänge, die durch das Saugen der Jungen bedingt oder mitbedingt ist. Nachher geht die Zitzenlänge stark zurück, ohne aber die Anfangswerte wieder zu erreichen.

4. Bei der percutanen Applikation von weiblichen Sexualhormonen auf die Meerschweinchenzitze gibt es eine Dosis (resp. einen Dosisbereich), die einen maximalen Effekt erzielt. Kleinere, aber auch grössere Dosen erzielen einen geringeren Effekt.

5. Die Wirkung von subcutan injiziertem Oestron auf die Meerschweinchenzitze wird durch der Oestronlösung beigefügtes Testosteron-propionat gehemmt; aber auch 5000 γ Testosteron-propionat genügen nicht, um die Wirkung von 1 γ Oestron aufzuheben.

Sämtliche Berechnungen wurden von Hrn. Dr. *Eckmann* durchgeführt, wofür wir ihm unseren herzlichsten Dank aussprechen. Der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel sind wir für die Überlassung von Testosteron-propionat (Perandren) sehr zu Dank verpflichtet.

Biochemisches Laboratorium des technisch-chemischen Instituts
der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

2. Der Einfluss der Nebennierenrinde auf die Glykogen- Phosphorylierung im Muskel

I. Mitteilung

von **F. Verzá** und **C. Montigel**.

(22. XI. 41.)

Die direkte Phosphorylierung von Glykogen mit anorganischem Phosphat durch den Muskel wurde zuerst von *Bodnár* und *Tankó*¹⁾ bewiesen und von verschiedener Seite mit Muskelbrei, Muskel-extrakten, Muskeltrockenpulvern, sowie auch an anderen Organen (Leber und Niere) bestätigt. Nach *Parnas*²⁾ ³⁾ wird hierbei Hexose-monophosphat gebildet. Er fasst das nicht als Hydrolyse, sondern als Auflösung des Glykogens durch Anlagerung von Phosphat auf

¹⁾ *Bodnár* und *Tankó*, *Bioch. Z.* **210**, 143 (1929); **303**, 391 (1940).

²⁾ *J. K. Parnas*, *Ergeb. Enzymforsch.* **6**, 57 (1937).

³⁾ *Nord* und *Weidenhagen*, *Handbuch der Enzymologie* II, 902.