

213. Gonadotropes Hormon und Hodenstoffwechsel

(II. Mitteilung¹⁾)

von Werner Schuler.

(27. X. 44.)

Versuche, eine Hormonwirkung auf den Gewebsstoffwechsel von Organen nachzuweisen und zu analysieren, haben früher ergeben, dass sich am Hoden von Ratten die Inkretfunktion der Hypophyse nicht nur an Veränderungen des Wachstums und der Gewebsstruktur nachweisen lässt, sondern auch an charakteristischen Veränderungen des Gewebsstoffwechsels *in vitro*. Die Analyse dieser hormonbedingten Stoffwechseländerung erfolgte 1. durch den Vergleich der Atmung von Hodengewebe normaler Ratten mit der von Hoden hypophysenloser Ratten und 2. durch die Untersuchung der Hodenatmung hypophysenloser, unbehandelter Ratten im Vergleich mit der hypophysenloser, mit gonadotropem Hormon behandelter Ratten. Wir berichten im Folgenden über Versuche, welche unsere damaligen Befunde ergänzen und erweitern.

1.

Hodengewebe normaler, erwachsener Ratten atmet in glucosehaltiger *Ringer*-Lösung wesentlich stärker als in glucosefreier Lösung, vermag also zugesetzte Glucose *in vitro* oxydativ zu verwerten.

Hodengewebe hypophysenloser Ratten atmet — etwa 4—5 Wochen nach der Hypophysektomie, in welcher Zeit die Hoden stark atrophiert sind — in glucosefreier Lösung nahezu wie normales Hodengewebe, in glucosehaltiger Lösung dagegen nicht stärker als in glucosefreier Lösung; das Hodengewebe vermag also nach dem Ausfall der Inkretfunktion der Hypophyse *in vitro* zwar zelleigenes Material nach wie vor oxydativ zu verwerten, hat aber die Fähigkeit eingebüßt, zugesetzte Glucose oxydativ umzusetzen.

Dieser früher erhobene Befund einer charakteristischen Stoffwechseländerung des Hodengewebes bezieht sich auf ein Zeitintervall von 4—5 Wochen nach dem Ausfall der Inkretfunktion der Hypophyse, lässt aber die Frage nach der Entwicklung dieser Stoffwechseländerung eines Organes in zeitlicher Abhängigkeit von dem Inkretausfall offen.

Es wurde daher an einer grösseren Anzahl hypophysenloser Ratten zu verschiedenen Zeiten nach der Hypophysektomie die

¹⁾ I. Mitteilung: *W. Schuler*, *Helv.* **24**, 119 E (1941); s. a.: *R. Meier und W. Schuler*: *Helv. med. acta* **7**, Suppl. VI (1940/41).

Hodengewebsatmung sowohl in glucosefreier als auch in glucosehaltiger Lösung, die sogenannte „Grundatmung“ sowie die „Glucoseatmung“¹⁾, bestimmt. Die entsprechenden Atmungswerte einiger normaler Ratten dienten als Kontrolle und dem Nachweis, dass die gefundenen Werte trotz jahreszeitlicher Verschiedenheit mit den früher an zahlreichen Tieren erhobenen Befunden übereinstimmen. Methodische Angaben und die bei den Einzelversuchen gefundenen Atmungswerte sind dem Versuchsteil zu entnehmen. In Fig. 1 sind die mittleren Werte der Grundatmung und der Glucoseatmung in zeitlicher Abhängigkeit von der Hypophysektomie graphisch zur Darstellung gebracht; als quantitativ erfassbare Äusserungen der gleichzeitig erfolgten Hodenatrophie sind die Mittelwerte der Hodenfeuchtgewichte (pro 100 g Tiergewicht) und der Hodentrockengewichte (in % der Feuchtgewichte) ebenfalls in der Figur eingetragen.

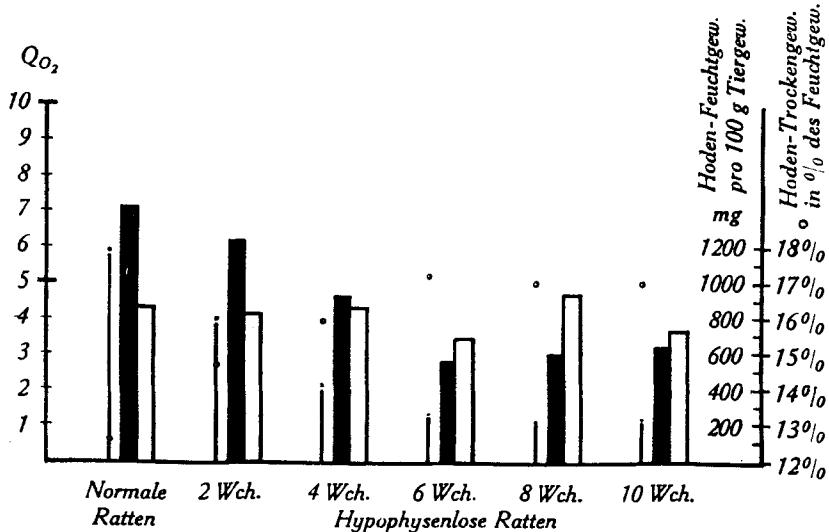


Fig. 1.

Hodengewebsatmung vor und zu verschiedenen Zeiten nach Hypophysektomie.

Q_O_2 in glucosehaltiger Lösung: schwarz (Glucoseatmung)

Q_O_2 in glucosefreier Lösung: weiss (Grundatmung)

Hodenfeuchtgewichte pro 100 g Tiergewicht in mg: Linie

Hodentrockengewichte in % der Hodenfeuchtgewichte: o o o

Bei normalen Ratten entsprechen die gefundenen Mittelwerte der Grundatmung und der Glucoseatmung des Hodengewebes weitgehend den früher von uns festgestellten mittleren Werten; die Glucoseatmung ist wesentlich höher als die Grundatmung.

¹⁾ Vgl. W. Schuler, Helv. physiol. pharmacol. acta 1, 105 (1943).

Dass unsere Atmungswerte für Hodengewebe niedriger sind als die anderer Autoren (*O. Warburg c. s.*¹⁾; *W. Reiss c. s.*²⁾) bedarf vielleicht der Begründung: aus besonderen, früher eingehend erörterten Gründen³⁾, auf die auch im Versuchsteil nochmals kurz eingegangen wird, sind unsere Werte auf das gesamte Trockengewicht, bestimmt an einem aliquoten Teil des frischen Hodens, bezogen. Der höhere, weil verlustlose Trockengewichtswert erniedrigt den *Warburg'schen* Atmungsquotienten.

Auch das mittlere Hodenfeuchtgewicht, bezogen auf je 100 g Tiergewicht, sowie das Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes entsprechen den früher von uns gefundenen³⁾ Werten.

Bei hypophysenlosen Ratten verhalten sich Grundatmung und Glucoseatmung verschieden:

Die Grundatmung verändert sich mit der Zeit nach Hypophysektomie kaum; bei den 6, 8 und 10 Wochen nach der Hypophysektomie gefundenen Mittelwerten war entsprechend der langen Zeit und der Anfälligkeit der Tiere mit der etwas grösseren Schwankung der Grundatmung zu rechnen.

Die Glucoseatmung dagegen nimmt mit der Zeit nach der Hypophysektomie kontinuierlich ab. Sie erreicht in dieser Versuchsreihe nach etwa 6 Wochen einen Tiefwert, der auch nach längerer Zeit, 8 und 10 Wochen, nicht weiter unterschritten wird und mit den früher von uns 4—5 Wochen nach Hypophysektomie gefundenen Glucoseatmungswerten befriedigend übereinstimmt.

Nahezu gleichzeitig mit der Abnahme der Glucoseatmung verläuft die Abnahme der mittleren Hodenfeuchtgewichte als Ausdruck der mit der Zeit nach Hypophysektomie zunehmenden Hodenatrophie, histologisch charakterisiert durch zunehmenden Schwund der Hodenkanälchen sowie Abnahme ihres zelligen Inhaltes und dessen Differenzierung.

Das Hodentrockengewicht, ausgedrückt in % des Feuchtgewichtes, nimmt demgegenüber mit der Zeit nach der Hypophysektomie stark zu und erreicht ebenfalls nach etwa 6 Wochen einen Maximalwert, der nicht mehr überschritten wird und mit den früher von uns³⁾ festgestellten Werten, 4—5 Wochen nach Hypophysektomie, übereinstimmt.

Das Minimum der Glucoseatmung des Hodengewebes und des Hodenfeuchtgewichtes wie das Maximum des prozentualen Hodentrockengewichtes werden also zu etwa gleicher Zeit erreicht; weder der zeitliche Verlauf dieser Gewichtsveränderungen noch der der Veränderungen des histologischen Bildes der Hoden, verglichen mit dem zeitlichen Verlaufe der Stoffwechseländerung nach Hypophysektomie, ergeben Anhaltspunkte dafür, dass einer der Vorgänge dem anderen vorausgeht oder nachfolgt.

¹⁾ *O. Warburg, K. Posener, E. Negelein, Bioch. Z. 152, 309 (1924).*

²⁾ *W. Reiss, H. Druckrey, A. Hochwald, Endokrinologie 12, 243 (1933).*

³⁾ *R. Meier, W. Schuler, Helv. med. acta 7, Suppl. VI (1940/41).*

2.

Die Behandlung hypophysenloser Ratten mit gonadotropem Hormon verursacht nicht nur Wachstum des atrophischen Hodens und Veränderungen der geweblichen Struktur, sondern auch eine Steigerung der als Folge der Hypophysektomie herabgesetzten Hodengewebsatmung *in vitro*. Während aber nach der Hypophysektomie nur die Glucoseatmung des Hodens — und zwar, wie vorgehend beschrieben, kontinuierlich — absinkt, steigt bei der Behandlung hypophysenloser Ratten mit gonadotropem Hormon nicht nur die Glucoseatmung, sondern in den ersten 10—12 Behandlungstagen gleichzeitig und gleich stark auch die durch die Hypophysektomie nicht veränderte Grundatmung, sodass ein Atmungsstoffwechsel resultiert, der von dem normalen Hodengewebes wesentlich verschieden ist und dem des Hodens infantiler Ratten gleicht.

Diese früher erhobenen Befunde (l. c. S. 1¹) liessen zwei Deutungsmöglichkeiten offen: entweder ist für die Normalisierung des Hodenstoffwechsels hypophysenloser Ratten ausser dem gonadotropen Hormon noch ein anderer Hypophysenfaktor nötig, der in unseren gereinigten Extrakten fehlt — oder die Stoffwechseländerung des Hodengewebes ist im wesentlichen von der durch das gonadotrope Hormon bedingten Wachstums- und Strukturänderung des Gewebes abhängig; in diesem Falle müsste eine länger dauernde Behandlung zur Normalisierung des Hodenstoffwechsels führen, im erstgenannten Falle nicht.

Um diese Frage zu entscheiden, haben wir eine grössere Anzahl von Ratten, welche seit 4 Wochen hypophysenlos waren (und von denen einige zur Bestimmung der Hodenatmung lt. Fig. 1 Verwendung fanden) täglich während weiteren 4 Wochen mit einem gonadotrop stark wirksamen Hypophysenpräparat behandelt, das von Dr. Benz in unseren chemischen Laboratorien dargestellt, weitgehend gereinigt und von uns auf seine gonadotrope Wirksamkeit geprüft worden war.

Nach 4 Wochen Behandlung wurde bei den noch überlebenden Tieren wie üblich die Grund- und Glucoseatmung des Hodengewebes bestimmt. Die gefundenen Mittelwerte sind in Fig. 2 neben früher gefundenen Atmungswerten graphisch zur Darstellung gebracht.

Nach einer Behandlungszeit von 4 Wochen ist — wie ersichtlich — die Glucoseatmung wieder wesentlich stärker als die Grundatmung; das Hodengewebe dieser hypophysenlosen, lange mit gonadotropem Hormon behandelten Ratten verhält sich also wie das normaler Ratten und die Atmungswerte sowohl der Glucose- wie der Grundatmung erreichen fast die Werte normaler, erwachsener Tiere.

¹⁾ R. Meier, W. Schuler, Helv. med. acta 7, Suppl. VI (1940/41).

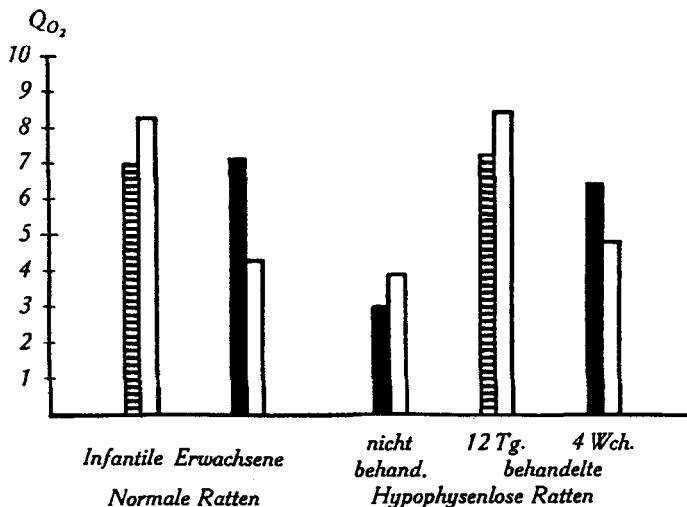


Fig. 2.

Hodengewebsatmung von Ratten, welche 4 Wochen nach Hypophysektomie weitere 4 Wochen mit gonadotropem Hormon behandelt worden sind, sowie von infantilen und erwachsenen Normalratten und von unbehandelten und nur 12 Tage behandelten hypophysenlosen Ratten.

Q_{O_2} in glucosehaltiger Lösung: schwarz (Glucoseatmung);
 Q_{O_2} in glucosefreier Lösung: weiß (Grundatmung).

Die Normalisierung der Hodenatmung durch Behandlung mit gonadotropem Hormon erfolgt aber nicht durch kontinuierlichen Anstieg der Glucoseatmung, wie der Abfall derselben nach Hypophysektomie, sondern verläuft über einen dem Hodengewebe infantiler Ratten ähnlichen Atmungstyp, der erst nach langer dauernder Behandlung normalisiert wird.

Versuchsteil.

Die Versuchstiere entstammen unserem Tierbestand, doch kamen nur ausgesuchte, in jeder Beziehung einwandfreie, schon längere Zeit bei uns unter optimalen Bedingungen gehaltene Ratten zur Verwendung, da die Hypophysektomie einen immerhin schweren operativen Eingriff darstellt.

Die Hypophysektomie wurde im wesentlichen nach der Methode von Collip, Selye und Thompson¹⁾ durchgeführt, welche sich uns seit langer Zeit bewährt hat; Schwierigkeiten bereitete lediglich die jahreszeitlich unterschiedliche Blutungsneigung der Tiere, die durch Nachblutung aus der Knochenwunde zu höherer Sterblichkeit post operationem führen kann. Durch Füllen des Bohrloches mit etwas Wachs lässt sich die Gefahr der Nachblutung vermeiden. Die Sterblichkeit der Ratten beträgt bei uns in den ersten 4 Wochen ca. 20—30%, in 6—8 Wochen ca. 30—40%. Nur Tiere, welche sich bei der Autopsie als völlig hypophysenlos erwiesen, wurden zu den Versuchen verwandt.

¹⁾ I. B. Collip, H. Selye, D. L. Thompson, Nature (Brit.) 131, 56 (1933); Virchow's Arch. 290, 24 (1933).

Tabelle I.
Atmung von Hodengewebe normaler Ratten.

Vers. Nr.	Tier- zahl	Tier- Gewicht g	Hodengewicht feucht pro 100 g Tier			% trocken	Q_{O_2} Atmungs-Ringer-Lösung	
			g	g	%		ohne Glucose (Grund- atmung)	mit Glucose (Glucose- atmung)
252	1	220	2,55	1,16	12,7	5,2	—	—
254	1	190	2,40	1,26	12,3	4,7	—	—
254	1	190	2,41	1,26	12,3	4,0	—	—
256	1	245	2,83	1,15	12,8	4,0	—	—
256	1	245	2,83	1,15	12,6	3,9	—	—
253	1	196	2,46	1,25	12,5	—	7,4	—
255	1	250	2,85	1,14	12,6	—	6,5	—
255	1	250	2,85	1,14	12,6	—	7,2	—
256	1	245	2,83	1,15	12,8	—	7,0	—
256	1	245	2,83	1,15	12,8	—	7,2	—
Mittelwerte:			2,68	1,18	12,6	4,4	7,1	—

Tabelle II.
Atmung von Hodengewebe hypophysenloser Ratten.

Vers. Nr.	Tier- zahl	Tier- Gew. g	Wo- chen hypo- physen- los	Hodengewicht feucht pro 100 g Tier			% trock- ken	Q_{O_2} Atmungs-Ringer-Lösung	
				mg	mg	%		ohne Glucose (Grund- atmung)	mit Glucose (Glucose- atmung)
283	2	143	2	1120	783	14,4	3,6	6,2	—
283a	2	127	2	1020	803	15,1	4,7	6,2	—
Mittelwerte:				1070	793	14,7	4,15	6,2	—
284	2	190	4	666	351	16,0	4,2	3,9	—
284a	3	120	4	616	513	15,7	4,5	5,4	—
Mittelwerte:				641	432	15,9	4,35	4,65	—
307	2	140	6	350	250	18,5	4,1	2,8	—
307a	2	96	6	295	307	16,2	3,5	2,7	—
308	2	120	6	319	266	16,9	2,9	1,7	—
308a	4	106	6	281	265	17,3	3,3	3,9	—
Mittelwerte:				311	272	17,2	3,45	2,78	—
316	3	130	8	300	231	15,3	4,8	3,0	—
317	3	110	8	247	224	18,7	4,6	3,0	—
Mittelwerte:				273	227	17,0	4,7	3,0	—
318	3	100	10	180	180	17,8	3,3	2,8	—
318a	3	130	10	375	289	15,6	4,1	3,8	—
Mittelwerte:				277	234	17,0	3,7	3,3	—

Die Atmung des Hodengewebes wurde nach Warburg möglichst schnell und immer zu gleicher Zeit nach dem Tode der Tiere in glucosefreier und glucosehaltiger Atmungs-Ringer-Lösung (0,2% Glucose) bestimmt. 0,4 cm³ 20-proz. NaOH-Lösung im Einsatz der Atmungsgefäße diente der Kohlendioxydabsorption; die Versuchstemperatur betrug 37,02—37,04° C. Nach Warburg geben wir die Atmungsgrösse als Atmungsquotient Q_{O_2} (= mm³ O₂/1 Std./1 mg Trockengewicht) an, verwenden aber als Trocken Gewichtswert nicht, wie sonst üblich, das Trockengewicht des nach dem Versuche aus der Lösung herausgenommenen Gewebes, sondern das sofort an einem aliquoten Teil des Hodens bestimmte sogenannte „Gesamtrockengewicht“, denn die Herausnahme des Hodengewebes nach dem Versuche führt, wie R. Meier und ich (l. c.) früher zeigten konnten, unvermeidlich zu grösseren Verlusten. Durch die Bezugnahme des Sauerstoffverbrauches auf ein höheres, weil verlustloses Trockengewicht sind unsere Atmungswerte niedriger als die anderer Autoren.

Tabelle III.

Atmung von Hodengewebe hypophysenloser, behandelter Ratten.
Die Ratten wurden 4 Wochen nach Hypophysektomie weitere 4 Wochen mit täglich 0,1 mg eines gonadotrop wirksamen¹⁾ Hypophysenpräparates behandelt, sind also insgesamt 8 Wochen hypophysenlos.

Vers. Nr.	Tier- zahl	Tier- Gew. g	Wo- chen hypo- physen- los	Hodengewicht			Q_{O_2}	
				feucht pro 100 g mg	Tier mg	trok- ken %	Atmungs- Ringer-Lösung ohne Glucose (Grund- atmung)	mit Glucose Glucose- atmung)
300	2	160	8	1800	1130	13,0	4,5	6,5
300a	2	145	8	1000	690	12,9	5,9	6,7
302	2	140	8	1200	860	13,5	5,3	5,9
302a	2	120	8	1200	1000	13,1	4,5	6,1
303	2	154	8	1300	840	13,2	5,7	6,6
303a	2	140	8	1200	860	13,1	4,5	6,8
304	2	175	8	1200	690	13,4	5,0	6,0
306	2	120	8	1250	1050	13,0	4,0	6,6
306a	2	120	8	1250	1050	13,0	3,9	5,5
Mittelwerte:				1270	900	13,2	4,8	6,4

Zusammenfassung.

Die Untersuchung der Hodengewebsatmung von Ratten nach Hypophysektomie sowie nach Behandlung hypophysektomierter Ratten mit gonadotropem Hormon hat ergeben:

1. Die „Glucoseatmung“ des Hodengewebes fällt in den folgenden Wochen nach der Hypophysektomie kontinuierlich mit der Zeit und erreicht nach etwa 6 Wochen einen Minimalwert, der sich in der folgenden Zeit nicht mehr verändert, während die „Grundatmung“ unverändert bleibt. Die nach ca. 6 Wochen erreichten Hodenatmungswerte stimmen mit den früher gefundenen weitgehend überein.

¹⁾ Für die gonadotrope Wirksamkeit von Hypophysenpräparaten existiert kein internationaler Standard; 15 γ unseres Präparates innert 3 Tagen bewirken an juvenilen Ratten eine Uterusgewichtssteigerung auf das 3-fache des Ausgangswertes.

2. Der kontinuierliche Abfall der „Glucoseatmung“ des Hoden-gewebes nach der Hypophysektomie verläuft so weitgehend parallel den quantitativ erfassbaren Erscheinungen der Hodenatrophie — dem Abfall des Feuchtgewichts und dem Anstieg des prozentualen Trocken-gewichts des Hodens wie auch den histologischen Strukturverände-rungen —, dass man nicht zu entscheiden vermag, ob einer der Vor-gänge dem andern vorangeht oder nachfolgt.

3. Die Normalisierung der Hodengewebsatmung hypophysen-loser Ratten durch Behandlung mit gonadotropem Hormon erfolgt nicht durch kontinuierlichen Wiederanstieg der „Glucoseatmung“ zu normalen Werten, sondern über Atmungswerte, welche von denen normalen Hodengewebes stark verschieden sind — gelingt aber nach relativ langdauernder Behandlungszeit. Der Hodenstoffwechsel ist offensichtlich abhängig von Struktur- oder Differenzierungsverände-rungen des Gewebes, die histologisch nicht erfassbar sind.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

214. Über Steroide.

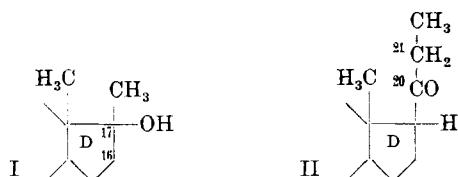
(38. Mitteilung¹)).

Zur Herstellung von 16-Methyl-progesteron und verwandten Verbindungen

von A. Wettstein.

(27. X. 44.)

Durch Einführung einer Methylgruppe in 17-Stellung des Testo-sterons²) bleibt die androgene Wirkung nicht nur voll erhalten, son-dern wird überraschenderweise nun auch bei peroraler, nicht nur bei parenteraler Verabreichung erzielt³). Diese neue Eigenschaft des 17-Methyl-testosterons (Teilformel I):



¹) 37. Mitteilung siehe K. Miescher, Helv. **27**, 1727 (1944). Die neue Arbeit stellt zugleich Nr. VI dar in der Reihe „Homologe der Keimdrüsenhormone“; Nr. V siehe A. Wettstein, Helv. **24**, 311 (1941).

²) L. Ruzicka, M. W. Goldberg, H. R. Rosenberg, Helv. **18**, 1487 (1935).

³) K. Miescher, E. Tschopp, Schweiz. med. Wschr. **68**, 1258 (1938).