

1914. — MORITZ, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 82. — PORTER, Americ. Journ. of physiol. 1. 1898. — PRATT, ebenda. — SEYDERHELM und GOLDBERG, Über orthostatische Wasserretention. Dtsch. med. Wochenschr. 52, Nr. 31. — SINGER, „Experimentelle Studien über die Schmerzempfindlichkeit des Herzens und der großen Gefäße“. Wien. Arch. f. klin. Med. Bd. XII. 1926 und Forts. 1927. — TIGERSTEDT, Physiologie des Kreislaufs. Bd. I, S. 315 u. ff. und Bd. III, S. 86 u. ff.

TIEREXPERIMENTELLE STUDIEN ÜBER AKUTE UND CHRONISCHE HYPOPHYSIN-INTOXIKATION.

Von

Dr. med. KARL EHRHARDT, Assistenzarzt und
WM. A. SIMUNICH, B. S. Med. Doct. aus Chicago.

Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Frankfurt a. M.
(Dir.: Geheimrat Prof. Dr. SEITZ.)

Durch die Forschungen der letzten Jahre sind unsere Kenntnisse über die Wirkungsweise der Hypophysenauszüge wesentlich erweitert und ergänzt worden. Es wurden nicht nur neue Wirkungskomponenten gefunden, sondern es wurde auch die Verteilung der verschiedenen Komponenten auf die verschiedenen Teile der Hirnanhangdrüse ermittelt.

HOGGEN und WINTON zeigten, daß Hinterlappenextrakte eine starke Verdunkelung hellhäutiger Frösche, bedingt durch eine Expansion der Hautmelanophoren, hervorrufen und entdeckten damit ein Wirkungsprinzip, welches sowohl für die Erforschung des Hirnanhanginkretes als auch für die experimentelle Erforschung des Farbenwechsels der Amphibien von großem Interesse ist.

ZONDECK und ASCHHEIM studierten, ausgehend von den Untersuchungen von EVANS und LONG, die Wirkungsweise des Hypophysenvorderlappenhormons und fanden, daß das Vorderlappenhormon das übergeordnete und allgemeine Sexualhormon darstellt, welches die gesamte Sexualfunktion des weiblichen Organismus auf dem Weg über die Ovarien beeinflusst.

H. B. VAN DYKE aus dem Pharmakologischen Institut zu Freiburg beschrieb eine Methode, welche ihm ermöglichte, die verschiedenen Wirkungskomponenten der Hypophysenauszüge auf die verschiedenen Teile der Hypophyse, d. h. auf Vorder-, Mittel- und Hinterlappen zu projizieren und ebnete so die Wege für weitere exakte Untersuchungen.

EVANS und LONG sahen bei ihren Versuchstieren nach monatelanger intraperitonealer Zufuhr von fein gepulverter Vorderlappensubstanz eine Wachstumssteigerung und Gewichtszunahme, so daß die Versuchstiere mit 8 Monaten doppelt so schwer waren als die gleichaltrigen Kontrolltiere. Ausgehend von diesen Versuchen begannen wir vor einiger Zeit die Wirkung fortgesetzter Injektionen von Vorderlappen- und Hinterlappenextrakten zu prüfen und möchten an dieser Stelle zunächst über den ersten Teil unserer Untersuchungen, d. h. über die Wirkung fortgesetzter Injektionen von Hinterlappenextrakt berichten. PARISOT und ETIENNE haben bereits vor Jahren ähnliche Versuche angestellt und konnten bei Kaninchen eine ausgesprochene Hypertrophie des Cors nachweisen. Die Tiere kamen nach wiederholten Injektionen meist ad exitum und zeigten außer der erwähnten Herzhypertrophie keinerlei greifbare Organveränderungen.

Als Hinterlappenpräparat verwandten wir in unseren Versuchen das „Hypophysin Höchst“. Nachfolgend lassen wir die erforderlichen Angaben über die Standardisierung dieses Präparates folgen, denn ohne derartige Angaben ist es nicht möglich, die Ergebnisse der Arbeit für spätere Nachprüfungen nutzbar zu machen. Das Hypophysin-Höchst wird nach Mitteilung der Fabrik in erster Linie an der überlebenden Uterusmuskulatur jungfräulicher Albinoratten im Gewicht von 150 bis 180 g eingestellt. Als Standardpräparat wird das frische Extrakt eines Hypophysenhinterlappens verwandt, von dem die wirksamen Inkrete von 0,2 g 1 ccm der Handelslösung entsprechen. Der Titer wird nach Vögtlineinheiten angegeben und wird neben der obigen Methode durch ein Vögtlintrockenpräparat bestimmt. 1 ccm der Handelslösung entsprechen

3 Vögtlineinheiten, d. h. dem wirksamen Anteil von 1,5 mg Vögtlintrockenpulver.

Als Versuchstiere wählten wir Albinoratten, die wir uns selbst züchteten, deren Alter und Stammbaum wir daher genau kannten und die noch nicht vorbehandelt waren. Wir nahmen sowohl wachsende als auch geschlechtsreife bzw. gravide Tiere in den Versuch.

Dosierung. In welcher Menge sollten wir das Hypophysin unseren Versuchstieren täglich verabfolgen? Man hätte daran denken können, die fragliche Dosis aus der therapeutischen menschlichen Dosis an Hand der Gewichtsproportion zu ermitteln. Wir haben jedoch aus ganz besonderen Gründen von einer derartigen Berechnung Abstand genommen. In hormonalen Problemen darf man nicht einseitig quantitativ denken; die Erfahrung lehrt, daß die wirksame hormonale Dosis für Tier und Mensch häufig recht nahe beieinander liegt. So hat beispielsweise ZONDECK bei seinen Untersuchungen über die Dosierung des Ovarialhormons festgestellt, daß ein menschlicher sprungreifer Follikel durchschnittlich nur 3—5 Mäusebrunsteinheiten enthält. Auch beim Insulin liegt die Menschen-dosis und die Kaninchendosis nicht weit auseinander. Auf Grund dieser Tatsachen gingen wir bei der Ermittlung der gesuchten Hypophysindosis anders vor. Zunächst suchten wir ein Urteil über die Toxizität des Hypophysins bei Ratten zu gewinnen. Dabei zeigte sich, daß die Tiere enorm hohe Dosen ohne ernstliche Gefährdung der vitalen Existenz vertrugen. Wir injizierten beispielsweise einer 180 g schweren Ratte 10 ccm Hypophysin, d. h. eine Menge, die bei einem 60 kg schweren Menschen nach der Gewichtsproportion einer Menge von 3333 ccm Hypophysin = 9999 Vögtlineinheiten, also rund 10000 Vögtlineinheiten entsprechen würde, eine Menge, die genügen würde, um eine stattliche Anzahl von Menschen ad exitum zu bringen. Man sieht, welche katastrophalen Folgen eine einseitige, quantitativ-mathematische Denkweise bei der Ermittlung hormonaler Dosen auf Grund des Tierexperimentes in der Humanmedizin haben könnte, eine Tatsache, auf die auch ZONDECK bereits wiederholt aufmerksam gemacht hat. Auf Grund dieser Überlegungen und Tatsachen gingen wir bei der Ermittlung der gesuchten Tagesdosis anders vor. Zunächst ermittelten wir die für Ratten letale Hypophysindosis. Dieselbe betrug für ein 180 g schweres Tier 15 ccm = 45 Vögtlineinheiten. Alsdann injizierten wir fortlaufend immer kleinere Mengen: 8 ccm, 6 ccm, 4 ccm, 2 ccm, 1 ccm, $\frac{1}{2}$ ccm usw. unter gleichzeitiger Beobachtung der durch die Injektionen hervorgerufenen Intoxikationssymptome. Auf diese Weise mußten wir diejenige Dosis finden, die zwar einerseits noch deutliche Intoxikationssymptome auslöste, andererseits aber den Tieren durch Wochen und Monate hindurch ohne Gefährdung der vitalen Existenz verabfolgt werden konnte. Als die geeignete Dosis, die diesen Anforderungen entsprach, fanden wir die Menge von $\frac{1}{2}$ ccm Hypophysin = $1\frac{1}{2}$ Vögtlineinheiten. Diese Dosis wurde in den nachfolgenden Versuchen von der Mehrzahl der Tiere ohne Gefährdung ihrer Vitalität monatelang vertrugen.

Die akute Hypophysinintoxikation. Nach subcutaner oder intraperitonealer Zufuhr von toxischen Hypophysindosen traten bei unseren Versuchstieren charakteristische Vergiftungssymptome auf, die wir nachfolgend kurz beschreiben.

Verabfolgt man mittelschweren Ratten 5—8—10 ccm Hypophysin, so verfallen die Tiere alsbald in einen schlafähnlichen Zustand. Sie liegen langhingestreckt, den Kopf zwischen den Vorderpfoten aufgestützt, in ihrem Käfig und nehmen kaum Notiz von ihrer Umgebung. Zwingt man sie durch Schmerzreize zur Fortbewegung, so marschieren die sonst so schnellen Läufer und kühnen Springer mit müden lahmen Schritten vorwärts. Sie schwanken hin und her, taumeln, fallen um und können sich nur mit Mühe und sehr unbeholfen wieder aufrichten. Wurden größere Hypophysinmengen injiziert, so wird die Schmerzempfindung aufgehoben. Kneift man die Tiere in den Schwanz, so antworten sie mit müden, langsamen Bewegungen des Kopfes, während Normaltiere blitzschnelle Abwehrbewegungen machen, umsich-beißen usw. In Fällen hochgradiger Intoxikation stellt sich

tiefe Bewußtlosigkeit mit Aufhebung der Reflexe ein, so daß wir wiederholt Tiere in diesem Zustand wie in tiefer Narkose laparotomieren konnten. Die Temperatur, die bei gesunden Ratten etwa 38°C rektal beträgt, stürzt alsbald nach erfolgter Hypophysininjektion ab und sinkt auf 33°C, 32°C und tiefer. Dieser Temperatursturz stellt ein sehr konstantes Symptom der akuten Hypophysinintoxikation dar. Zwar konnten wir auch nach intraperitonealer Injektion von größeren Mengen indifferenten Mittel (z. B. Ringerlösung) eine Temperaturerniedrigung feststellen; doch beträgt diese gewöhnlich nur 1–2° und ist von verhältnismäßig kurzer Dauer, während der Temperatursturz bei der akuten Hypophysinintoxikation 5–6° und mehr beträgt, tagelang anhalten kann und auch nach subcutaner Injektion kleiner Mengen zustande kommt. Ein pathognomonisches Symptom stellt der beschriebene Temperatursturz indessen nicht dar; denn wir konnten ihn auch bei der Adrenalinvergiftung beobachten.

Die Dauer dieses Intoxikationszustandes ist abhängig von der Höhe der verabfolgten Hypophysinmenge und beträgt nach Injektion von 8–10 ccm etwa 2–3 Tage.

Die Wirkung täglicher Hypophysininjektionen. Um die Wirkung fortgesetzter Zufuhr von Hinterlappenextrakt zu prüfen, injizierten wir, wie bereits mitgeteilt, unseren Versuchstieren täglich 1/2 ccm Hypophysin subcutan und lösten dadurch täglich die oben beschriebenen Intoxikationserscheinungen aus, allerdings — entsprechend der kleineren Dosis — in geringerer Intensität. Die Injektionen wurden von der Mehrzahl der Tiere monatelang vertragen. Sobald die akuten Intoxikationserscheinungen vorüber waren, was meist nach einigen Stunden der Fall war, waren die Tiere wieder völlig munter, zeigten flinke und gewandte Bewegungen und die Temperatur stieg zur Norm an. Von 10 Versuchstieren kam 1 Tier nach 73 Injektionen ad exitum. Die Autopsie ergab einen Ileus und eine leichte Hypertrophie des linken Ventrikels. Dem möglicherweise vorgelegenen Zusammenhang zwischen der Peristaltik erregenden Wirkung des Hypophysins und dem Ileus sind wir nicht weiter nachgegangen.

EVANS und LONG veröffentlichten 1922 eine Arbeit, in der sie über den Einfluß fortgesetzter Zufuhr von Hypophysenvorderlappensubstanz auf Ovulation, Östrus und Wachstum berichteten. Die beiden Autoren fanden, daß der Östrus bei ihren Versuchstieren entweder ganz fehlte oder aber in ungewöhnlich langen Intervallen auftrat. Ferner sahen sie bei jungen Tieren Bildung von Corpora lutea, und schließlich beobachteten sie eine hochgradige Wachstumssteigerung, so daß die Versuchstiere doppelt so schwer wurden wie die normalen Kontrolltiere. Ausgehend von diesen Resultaten studierten ZONDECK und ASCHHEIM in systematischen Untersuchungen die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen- und Genitalfunktion und fanden, daß das Vorderlappenhormon das allgemeine und übergeordnete Sexualhormon darstellt, welches bei infantilen Tieren (Mäusen) den follikulären Apparat in Gang bringt. In Anbetracht dieser Tatsachen haben wir in unseren Versuchen die Frage geprüft, ob vielleicht auch zwischen Hypophysenhinterlappen- und Genitalfunktion irgendwelche biologisch nachweisbare Wechselbeziehungen bestehen. Durch tägliche vaginalabstriche kontrollierten wir die einzelnen östrischen Phasen und konnten feststellen, daß die Injektionen keinerlei Störungen im östrischen Zyklus hervorriefen. Um im übrigen ein Urteil über eventuelle Veränderungen im Genitalapparat, bedingt durch fortgesetzte Hypophysininjektionen, zu gewinnen, prüften wir die Fertilität unserer Versuchstiere, ausgehend von dem Gedanken, daß die Gravidität eine bequeme biologische Funktionsprüfung für den normalen Ablauf der Sexualfunktion des weiblichen Organismus darstellt. Dabei zeigte sich, daß die Fruchtbarkeit unserer Versuchstiere durch vorausgegangene Zufuhr von Hinterlappenextrakt nicht beeinflusst wurde. Sämtliche Tiere, die mit täglichen Hypophysininjektionen lange Zeit hindurch vorbehandelt worden waren, wurden gravid. Auch die histologische Untersuchung der Sexualorgane zeigte keine pathologische Veränderungen.

Ferner prüften wir den Einfluß täglicher Hypophysininjektionen auf schwangere Tiere, denen ebenfalls täglich

1/2 ccm verabfolgt wurde. Theoretisch hätte man annehmen können, daß derartige unphysiologisch hohe Dosen bei täglicher Verabfolgung einen Abortus provozieren würden. Diese Annahme bestätigte sich nicht. Conzeption und Nidation vollzogen sich trotz der täglichen Injektionen ungestört. Dagegen entfaltete das täglich applizierte Hypophysin am Ende der Gravidität bei einem Teil der Tiere seine Wirkung, so daß ein Partus praematurus ausgelöst wurde. Die Tiere brachten 1–2 Tage früher als ungespritzte Kontrolltiere untergewichtige 3,5–3,9 g schwere Junge zur Welt, wodurch die Annahme gerechtfertigt erscheint, daß es sich in diesen Fällen um Frühgeburten handelte. Mit diesen Resultaten stimmen diejenigen von KNAUS aus der Universitäts-Frauenklinik zu Graz überein, welcher bei Kaninchen in den ersten 17 Tagen der Gravidität, d. h. in der ersten Schwangerschaftshälfte mit hohen Pituitrindosen niemals einen Abortus provozieren konnte, während eine künstliche Einleitung der Geburt mit kleinen Pituitringaben vom 29. bis zum 32. Schwangerschaftstag, d. h. gegen das Ende der Tragzeit hin ohne weiteres möglich war. Von Interesse sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von DIXON und MARSHALL; diese beiden Autoren glauben auf Grund ihrer Studien annehmen zu sollen, daß am Ende der Gravidität die wiedererwachende Ovarialtätigkeit eine erhöhte Sekretion des Hypophysenhinterlappens und somit eine Anreicherung des Liquors mit Hinterlappeninkret bewirke und daß dieser ovario-hypophysäre Mechanismus einen wichtigen Faktor in der Ursache des Geburtseintrittes darstelle. Tatsächlich sprechen viele Überlegungen für diese Annahme. Allerdings muß betont werden, daß die in folgerichtiger Fortführung dieses Gedankens unternommenen Versuche, durch Zufuhr von Hinterlappenextrakten die Schwangerschaft (auch in der ersten Schwangerschaftshälfte!) zu unterbrechen, ein negatives Resultat ergeben haben. Doch ist dieses negative Resultat deshalb nicht ganz beweiskräftig, weil die Zufuhr der Hinterlappenextrakte bis jetzt stets auf subcutanem, intravenösem oder intramuskulärem Wege geschah und weil wir vorerst noch nicht wissen, ob das so applizierte Hinterlappeninkret die Bluthirnschranke passiert und in den Liquor übertritt. Um der Lösung dieser Frage näher zu kommen, haben wir anlässlich von Lumbalpunktionen, die aus anderweitigen Gründen ausgeführt werden mußten, versucht, das vorher subcutan (experimenti causa!) injizierte Hypophysin im Lumbalpunktat nachzuweisen, erhielten jedoch stets negative Resultate. Doch wurden derartige Untersuchungen noch nicht in genügender Anzahl durchgeführt, um ein abgeschlossenes Urteil abgeben zu können. — Schließlich sei noch an dieser Stelle auf einige Untersuchungen hingewiesen, die vor kurzem begonnen wurden und über die später ausführlich berichtet wird. Diese Untersuchungen gingen von dem von DIXON und MARSHALL geäußerten Gedanken aus, daß die Anreicherung des Liquors mit Hypophysenhinterlappeninkret vielleicht in ursächlichem Zusammenhang mit dem Geburtseintritt stehen könnte. Daher prüfte der eine von uns die Frage, ob es vielleicht möglich wäre, durch suboccipitale Injektionen von Hypophysin in den Duralsack beim graviden Kaninchen die Schwangerschaft zu unterbrechen. Die bis jetzt vorliegenden Resultate sind negativ; weitere Untersuchungen sind im Gang.

In Ergänzung unserer Untersuchungen prüften wir schließlich noch den Einfluß täglicher Hypophysininjektionen auf laktierende Muttertiere sowie auf die säugenden Jungen. Irgend welche pathologische Veränderungen konnten nicht festgestellt werden. Das Längenwachstum und die Gewichtszunahme der jungen Tiere erfolgte in der gleichen Weise wie bei normalen Kontrolltieren.

Literatur: HOGBEN und WINTON, Studies on the Pituitary. Biochem. Journ. 1922, 619. — DIXON, Journ. of physiol. 57. 1923. — DIXON und MARSHALL, Journ. of physiol. 59. 1924. — KNAUS, Zur Ursache des Geburtseintritts. Münch. med. Wochenschr. 1927, Nr. 9. — H. B. VAN DYKE, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 114, 262. 1926. — ZONDECK und ASCHHEIM, Klin. Wochenschr. 1927, Nr. 6. — EVANS und LONG, Proc. of the nat. acad. of sciences (U. S. A.) 8, 38. 1922.