

UNTERSUCHUNG DER LUTEINISATIONEFFEKTE INFANTILER ALBINORATTEN MITTELS PARABIOSE

G. Y. ILLEI

(Eingegangen am 13. April, 1956)

Einleitung

Anlässlich unserer Untersuchungen über die nervöse Steuerung der gonadotropen Sekretion des Hypophysenvorderlappens [5, 6] ergab sich die Notwendigkeit, die Menge der in den Blutkreislauf gelangenden gonadotropen Hormone bei hypothalamuslädierten Tieren biologisch zu bestimmen. Hierzu eignet sich bekanntlich die Methode der Parabiose vorzüglich. Unsere Versuchsanordnung hatte zur Vorbedingung, daß beim intakten Parabionten (Testtier) unter der Versuchszeit im Ovar keine Luteinisation und Progesteronsekretion eintrete. Dies wäre einfach durch Hypophysektomie des intakten Parabionten zu sichern gewesen, da aber die Versuche an infantilen Tieren geschahen und der Versuchspartner kastriert und im vorderen Hypothalamusgebiet lädiert werden sollte, woraus sich ein nicht unbeträchtlicher Verlust ergab, erwies sich dieser Weg nicht als gangbar. Ein anderer Weg wäre der, daß man eine entsprechende Kombination von kastriertem »Versuchs-« und intaktem »Testpartner« solchen Alters findet, bei der innerhalb der Versuchsdauer eine Luteinisation des Testpartners ausgeschlossen ist. Daraus ergab sich als Vorversuch für unsere geplante Versuchsanordnung die hier zu behandelnde folgende Fragestellung:

1. Bis zu welchem Alter dürfen je eine kastrierte und eine normale infantile Albinoratte in Parabiose vereinigt werden, und wie lange kann der Zustand der Parabiose aufrecht erhalten werden, ohne daß beim normalen »Testpartner« Luteinisation eintritt?

2. Welchen Einfluß hat das Lebensalter des kastrierten »Versuchspartners« auf den Luteinisationseffekt des »Testpartners«?

Da wir in früheren Versuchen bereits festgestellt hatten, daß 30tägige Albinoratten einesteils Hypothalamusläsionen schon vertragen und auch eine genügende Genauigkeit zur Einzielung der Läsionen mit der stereotaxischen Methode gewähren, war es vor allem wichtig festzustellen, ob eine Parabiose 30tägiger Partner den oben unter 1. angegebenen Bedingungen und für welche Versuchsdauer genügt. Die unter 2. angegebene Frage suchten wir durch Kom-

Tabelle I

30—30tägige parabiologische Partner, davon einer kastriert

Nr.	Versuchsdauer in Tagen	Histologischer Charakter der Ovarien des intakten Partners	
		Follikelapparat	Luteinapparat
1.	20	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	Zahlreiche Corpora lutea
2.	20	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
3.	18	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
4.	18	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
5.	18	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
6.	15	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
7.	15	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
*8.	15	Schwache Follikelreifung, viele atretische Follikel	Keine Corpora lutea
9.	14	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	Zahlreiche Corpora lutea
*10.	14	Schwache Follikelreifung, viele atretische Follikel	Keine Corpora lutea
11.	13	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	Zahlreiche Corpora lutea
12.	13	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	Keine Corpora lutea
13.	13	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
14.	12	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
15.	12	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
16.	12	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
*17.	12	Schwache Follikelreifung, viele atretische Follikel	« « «
18.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
19.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
20.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
21.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
22.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
23.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
24.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
25.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen Follikeln	« « «
*26.	10	Schwache Follikelreifung, viele atretische Follikel	« « «

* = Nicht bewertbar; weitere Erklärung im Text

binationen 30 und 60tägiger »Test-« und »Versuchspartner« bzw. umgekehrt zu beantworten.

Vorliegende Versuchsserie wurde allerdings als Vorversuch für anderweitige Untersuchungen geplant, ihr Ergebnis ist aber auch von allgemeinem Gesichtspunkte nicht uninteressant, weshalb wir sie im folgenden kurz mitteilen.

Untersuchungsmaterial und Technik

Zu den Versuchen wurden zu einem Stamme — (ursprünglich Wistar) — gehörende an einer Standarddiät gehaltene weibliche Albinoratten von 30 bzw. 60 Tagen Lebensalter verwendet.* Je zwei Tiere wurden nach der von BUNSTER und MEYER [3] modifizierten Technik von SAUERBRUCK und HEIDE [8] vereinigt. Von uns wurde die Technik nur insofern modifiziert, daß nicht nur die einander anliegenden Scapulae, sondern auch die Glutaei mit einer starken Naht vereinigt wurden. Der Eingriff wurde in intraperitonealer Evipan-Narkose (1 mg/10 gr Körpergewicht) ausgeführt, die Kastration des »Versuchspartners« gleichzeitig mit der Vereinigung durch die Bauchwunde ausgeführt. Die Parabioten wurden während der ganzen Versuchsdauer in einem Thermostaten bei 28° C gehalten. Ein nennenswerter Gewichtsverlust war nicht zu verzeichnen. Die bei Versuchsende in 10% Formol fixierten Ovarien wurden im Gefrierschnitt mit Scharlach R-Haematoxylin bzw. mit Haematoxylin-Eosin gefärbt. — Die beigefügten Mikrophotos entsprechen einem größeren Querschnitt des Ovars und wurden ausnahmslos in 12× Vergr. aufgenommen.

Beschreibung der Befunde

Tabelle I zeigt die charakteristischen Eigenschaften der Ovarien von 26 intakten »Testpartnern«, die in 30tägigem Alter mit gleichaltrigen frisch kastrierten Versuchspartnern für 10—20 Tage parabiotisch vereinigt waren. Als Kontrolle dienten die Ovarien von acht 40tägigen Albinoratten des gleichen Stammes. Die Ovarien dieser Tiere zeigten eine vollkommen übereinstimmende histologische Struktur mit weiten reifenden Follikeln, die jedoch schon sehr früh, meistens noch vor der Mittelreife in Atesie übergehen. Corpora lutea sind naturgemäß nicht zu beobachten (Abbildung 1, 2). Von den 26 parabiotischen Paaren sind insgesamt 4 (No. 8, 10, 17, 26 in der Tabelle mit * bezeichnet) auszumerzen, da wie aus dem vollkommen infantilem Charakter der Genitalien hervorgeht, die erhöhte gonadotrophe Aktivität des kastrierten Partners offenbar infolge mangelnder Kreislaufverbindungen und Säfteaustausch sich am »Testpartner« nicht auswirken konnten. Diese und ähnliche Fälle der anderen Serien wurden im weiteren natürlich nicht berücksichtigt.

Bei den 22 verwertbaren parabiotischen Paaren war unabhängig von der Zeitdauer der Parabiose der Follikelapparat in intensiver Reifung begriffen mit zahlreichen reifen, oder in fortgeschrittener Reife befindlichen Follikeln. Dagegen zeigt die Entwicklung des Luteinapparates einen deutlichen Zusammenhang mit

* Um bei gleichalten Tieren einen gleichen Entwicklungsgrad zu sichern, wurden nur aus einem Gehege von je 5—7 Jungen stammende Tiere verwendet.

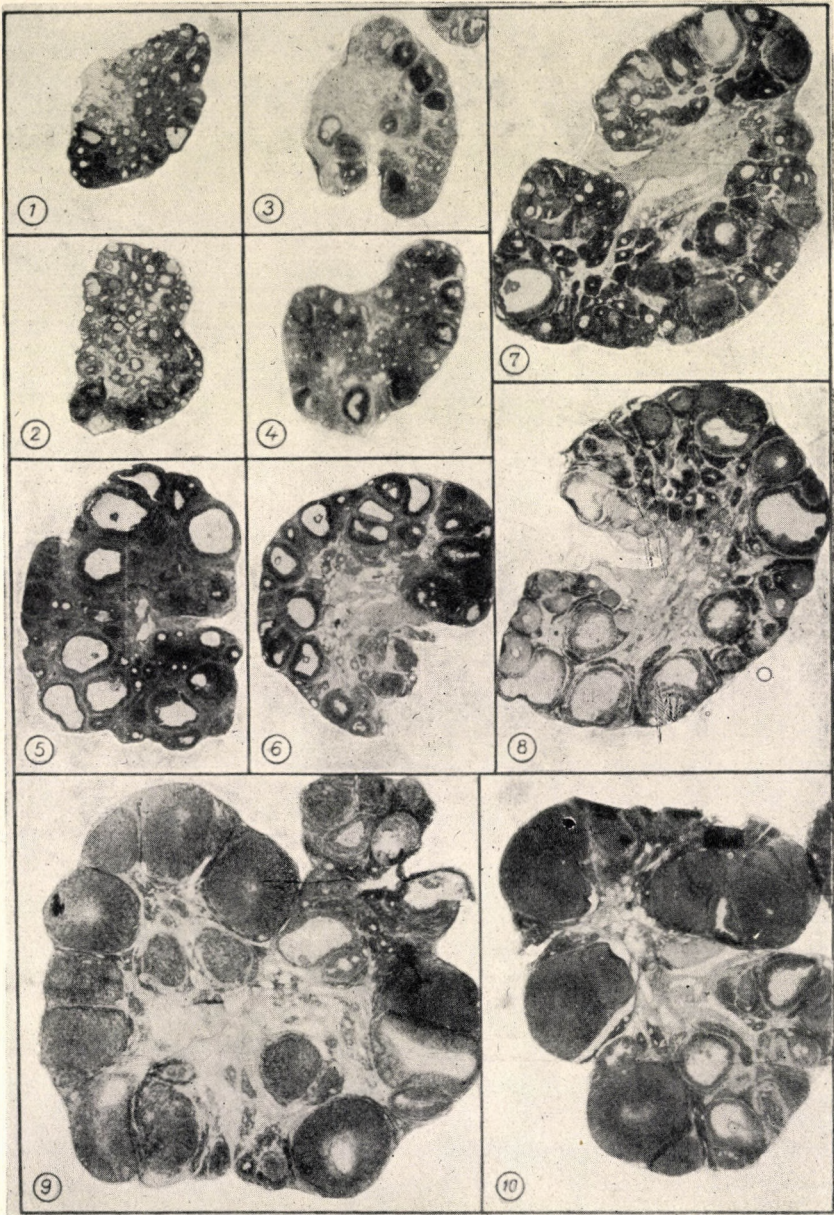


Abb. 1 u. 2. 40 Tage alte Albinoratte; Normalkontrolle — Abb. 3 u. 4. 70 tägige Albinoratte; Normalkontrolle — Abb. 5 u. 6. Ovarien der intakten Partner von parabiotischen Paaren, die im Alter vom 30 Tagen vereinigt und 10 Tage in Parabiose gehalten wurden. Intensive Follikelbildung ohne Luteinisation — Abb. 7 u. 8. Ovarien der intakten Partner die im Alter von 30 Tagen mit einem 60tägigen frisch kastrierten Partner vereinigt und 10 Tage in Parabiose gehalten wurden. Intensive Follikelbildung ohne Luteinisation — Abb. 9 u. 10. Ovarien der intakten Partner, die im Alter von 60 Tagen mit einem 30tägigen frisch kastrierten Partner vereinigt und 10 Tage lang in Parabiose gehalten wurden. Zahlreiche Corpora lutea. (Sämtliche Ovarien in $12\times$ Vergrößerung. Gefrierschnitte durch den größten Querschnitt Scharlach R.-Haematoxylin Färbung)

der Zeitdauer, in dem in 8 verwertbaren Fällen (No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 9) mit einer Dauer der Parabiose von 14—20 Tagen ohne Ausnahme zahlreiche, z. T. in früher Regression befindliche Corpora lutea vorhanden sind. Dagegen sind bei 11 verwertbaren Fällen von 10—12 Tagen (No. 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 und 25) in keinem Corpora lutea nachweisbar (Abbildung 5, 6). Unter den Partnern mit 13 Tagen Versuchsdauer sind von drei Fällen in zweien (No. 12 und 13) keine Corpora lutea, in einem dagegen (No. 11) solche vorhanden.

Tabelle II

Parabioten von 30—60 Tagen Lebensalter, davon die 60tägigen kastriert

No.	Versuchsdauer in Tagen	Histologischer Charakter der Ovarien des intakten Partners	
		Follikelapparat	Luteinapparat
1.	10	Intensive Follikelreifung mit Follikeln in mittlerer Reife	Keine Corpora lutea
2.	10	Intensive Follikelreifung mit Follikeln in mittlerer Reife	« « «
3.	10	Intensive Follikelreifung mit reifen Follikeln	« « «
4.	10	Intensive Follikelreifung mit reifen Follikeln	« « «
5.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen und überreifen Follikeln	« « «
6.	10	Intensive Follikelreifung mit zahlreichen reifen und überreifen Follikeln	« « «
*7.	10	Schwache Follikelreifung mit Übergang in Atresie	« « «
*8.	10	Schwache Follikelreifung mit Übergang in Atresie	« « «

* = nicht bewertbar; weitere Erklärung im Text

Tabelle II gibt die histologischen Verhältnisse der Ovarien an, wenn intakte 30tägige Partner mit 60tägigen kastrierten »Versuchspartnern« für 10 Tage vereinigt wurden. Von 8 parabiotischen Paaren sind zwei wegen offenbar ungenügenden Kreislaufverbindungen nicht verwertbar, was aus der den Kontrollen gleichen histologischen Struktur der Ovarien und dem niedrigen Uterusgewicht hervorging. Von den übrigen 6 Fällen sind in allen intensive Follikelreifung und mittelreife bis reife Follikel zu beobachten. Anzeichen von Luteinisation sind nicht nachzuweisen (Abbildung 7, 8).

In Tabelle III sind die histologischen Bilder der Ovarien einer Serie angegeben, bei denen die auf 10 Tage vereinigten »Testpartner« bei Versuchsanfang 60 Tage, die kastrierten »Versuchspartner« 30 Tage alt waren. Von 8 Paaren war eines wegen ungenügender Kreislaufverbindungen nicht wertbar, bei den anderen 7 zeigten die Ovarien der »Testpartner« intensive Follikelbildung und Reifung, sowie zahlreiche Corpora lutea verschiedenen Alters (frische sich or-

Tabelle III

Parabiose von je 60 und 30 Tage alten Partnern davon die 30 Tage alten kastriert

No.	Versuchsdauer in Tagen	Histologischer Charakter der Ovarien des intakten Partners	
		Follikelapparat	Luteinapparat
1.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	Zahlreiche Corpora lutea
2.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
3.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
4.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
5.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
6.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
7.	10	Follikelreifung mit in verschiedenen Stadien der Reifung befindlichen Follikeln	« « «
*8.	10	Schwache Follikelreifung und intensive Atresie	Keine Corpora lutea

* = nicht bewertbar

ganisierende, funktionstüchtige und in Regression begriffene) (Abbildung 9, 10). Die Ovarien von als Kontrollen verwendeten 10 aus gleichem Stamme genommenen 70 Tage alten Albinoratten wiesen noch keinerlei Anzeichen von Luteinisation auf (Abbildung 3, 4).

Besprechung der Ergebnisse

Aus einem Vergleich der Versuchsergebnisse geht deutlich hervor, daß die Luteinisation im Ovar des intakten »Testpartners« von zwei Faktoren abhängt. Einers its vom Alter des intakten Tieres und anderenteils von der Zeitdauer der Parabiose. Dagegen ist der Luteinisationseffekt vom Alter des kastrierten »Versuchspartners« weitgehend unabhängig. Mit anderen Worten ist bei Parabionten, wenn der eine Partner kastriert ist, für die Luteinisation allein die eigene Hypophyse des intakten Partners verantwortlich. Dies mag damit zusammenhängen, daß nach Kastration die Erhöhung des Blutspiegels am Gonadotrophen Hormon vorwiegend auf FSH entfällt, wogegen LH in der Hypophyse gestapelt wird [2, 10]. Zur Auslösung einer Abgabe von LH an den Kreislauf ist ein gewisser Blutspiegel von Oestrogen notwendig [7, 9, 1]. Dies

ist am alleinigen kastrierten Tier wegen Fehlen der Ovarien unmöglich. Bei Parabiose sollte man annehmen, daß der Eierstock des intakten Partners auf die erhöhte FSH Ausschüttung des kastrierten Partners mit erhöhter Oestrogenbildung reagierend, dieses in den Kreislauf des kastrierten zurückgelangt und eine Ausschüttung von LH auslöst. Diese Möglichkeit wird aber schon durch die Versuchsergebnisse von PFEIFFER und MITARBEITERN [4] ausgeschlossen, nach denen unter 612 parabiotischen Paaren, von denen der eine Partner kastriert, der andere hypophysektomiert wurde, in keinem einzigen Falle eine Luteinisation des Ovars des hypophysektomierten Partners beobachtet wurde. Ähnliche Befunde teilen auch andere Autoren mit [2]. Es ist daher anzunehmen, daß Oestrogen schneller aus dem Kreislauf entschwindet, als daß eine genügende Konzentration im kastrierten Partner erreicht werden könnte. — Der zweite Faktor, die Zeitdauer der Parabiose wirkt sich dadurch aus, daß nach einer gewissen Versuchsdauer die »Testtiere« das für die Luteinisation unter parabiotischen Bedingungen nötige kritische Alter erreichen; dieser Faktor ist also lediglich von versuchstechnischer Bedeutung.

Zusammenfassung

1. Bei Parabiose infantiler weiblicher Albinoratten zwischen einem kastrierten und einem intakten Partner hängt die Luteinisation des Ovars lediglich vom Alter (Entwicklungsgrad) des intakten Tieres ab, und für eine Luteinisation kann nur die Hypophyse des intakten Partners verantwortlich gemacht werden.

2. Bei Verwendung 30tägiger Albinoratten als intakte (Test-) Partner ist der Parabioseversuch ohne Gefahr einer Luteinisation nicht über die Dauer von 12 Tagen auszudehnen. Unter Rücksicht auf den allgemeinen Entwicklungsgrad 30tägiger Albinoratten ist eine Versuchsdauer von 10 Tagen als optimal zu betrachten.

LITERATUR

1. BIDDULPH, C.—R. K. MEYER—G. L. GUMBRICK (1940): »The influence of estriol, estradiol and progesteron on the secretion of gonadotropic hormones in parabiotic rats.« *Endocrinology* 26, 280—289.
2. BIDDULPH, C.—R. K. MEYER (1946): »Gonadotrophic Hormone Secretion in Immature Hypophysectomized Parabiotic Rats.« *Proc. Soc. Exper. Biol.* 63, 92—95.
3. BUNSTER, E.—R. K. MEYER (1933): »An improved method of parabiosis.« *Anat. Rec.* 57, 339—344.
4. DU SHANE, G. P.—W. T. LEVINE—C. A. PFEIFFER—E. WITSCHI (1935): »Experimental 'constant-oestrus' and the notion of antigonadotropic hormones.« *Proc. Soc. Exper. Biol.* 33, 339—345.
5. FLERKÓ, B. (1953): »Einfluss experimenteller Hypothalamuslaesionen auf die Funktion des Sekretionsapparates im weiblichen Genitaltrakt.« *Acta Morph. Hung.* 3, 65—86.
6. FLERKÓ, B. (1954): »Zur hypothalamischen Steuerung der gonadotropen Funktion der Hypophyse.« *Acta Morph. Hung.* 4, 475—492.
7. HELLBAUM, A. A.—R. O. GREEP (1934): »Qualitative Changes induced in Gonadotrophic Complex of Pituitary by Testosterone Propionate.« *Endocrinology*, 32, 33—40.
8. SAUERBRUCK, F.—HEYDE, M. (1908): »Über Parabiose künstlich vereinigter Warmblüter.« *Münch. Med. Wschr.* 1, 153—158.
9. SMITH, O. W. (1945): »Further studies on pituitary responses to an oxidative inactivation product of estrone.« *Proc. Soc. Exper. Biol.* 32, 101—107.
10. WITSCHI, E.—LEVINE, W. T. (1934): »Oestrus in hypophysectomized rats parabiotically connected with castrates.« *Proc. Soc. Exper. Biol.* 32, 101—107.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ЛЮТЕЙНИЗАЦИИ У ИНФАНТИЛЬНЫХ БЕЛЫХ КРЫС (АЛЬБИНОСОВ) ПОСРЕДСТВОМ ПАРАБИОЗА

ДЬ. ИЛЛЕИ

1. При парабиозе инфантильных самок белых крыс, между кастрированным и неповрежденным партнерами, лютеинизация яичника зависит исключительно от возраста (степень развития) неповрежденного животного, и ответственным за лютеинизацию является только гипофиз неповрежденного партнера.

2. Применением 30 дневных крыс в качестве неповрежденных партнеров, нельзя без опасности лютеинизации распространить опыт парабиоза больше чем на 12 дней. Принимая во внимание общую степень развития 30 дневных белых крыс, следует 10 дневную длительность опыта рассматривать как оптимальный срок.

LUTEINIZATION IN THE INFANTILE RAT IN PARABIOSIS

GY. ILLEI

1. Luteinization of the intact infantile partners ovary depends partly on its own age and partly on the duration of the parabiotic union and is induced by the LH secretion of its own hypophysis.

2. Spontaneous luteinization in the non-parabiotic rat does not occur before the 70th day, but it can be elicited by the 40-42nd day by a spayed parabiotic partner.

Dr. György ILLEI, Pécs, Dischka Gy. u. 5. Ungarn.