

wird als sonst, konnte von Grotenfelt an rund 2000 Fällen von Ovarialtumoren nicht bestätigt werden.

Die Vertretung des operativen Standpunktes wird erleichtert durch die häufigen Beschwerden der Patientinnen, ferner durch die Verwachsungs-, Vereiterungs-, Peritonitis- und die Abortgefahr, die nach Martius in etwa 20% der Fälle auftritt.

Wir konnten bei sorgfältiger Technik und postoperativer Hormontherapie bei unseren Fällen nur einmal 8 Wochen nach der Operation einen Abort beobachten, der wahrscheinlich nicht einmal auf das Operationstrauma zurückzuführen sein dürfte.

Als weitere Komplikation wurde in einem Fall erst unter der Geburt ein zystischer Ovarialtumor diagnostiziert, der bei Armvorfall Ursache eines hohen Geradstandes wurde (Schrumpf).

Abschließend kann gesagt werden, daß, wenn auch etwa die Hälfte der Ovarialtumorfälle ohne Störung von Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett verläuft, bei unserem Material die ersten Komplikationen (38%) den richtigen Standpunkt der von v. Száthmáry, Dado und auch von uns seit langem vertretenen operativen Therapie ohne Rücksicht auf den Schwangerschaftsmonat (H. H. Schmid, Hacke) im Gegensatz zu anderen erneut bewiesen haben.

Zusammenfassung

Es wird über 21 Fälle von Ovarialtumoren in der Schwangerschaft berichtet, wovon 2 maligne waren. Ausschließlich operative Therapie. Komplikationen in 8 Fällen. Ausführlichere Schilderung eines seltenen Falles von Teratoblastom mit Metastasenbildung und Exitus der Patientin post partum.

Schrifttum

Dado, Carey und Zummo, Amer. J. Obstetr. Gynec. **57**, 1011 (1949). — Fehling, zit. nach John Miller, Henke-Lubarsch VII, 138, 233. — Grotenfelt, Mitt. Gynaek. Klin. Engström, Helsingfors, Berlin **1911**, 9, 133. — Hacke, W., Geburtsh. u. Frauenhk. **1952**, 5. — Martin, zit. nach John Miller, Henke-Lubarsch VII, 3, 233. — Martius, Die gynäkologischen Operationen, 4. u. 5. Aufl. Leipzig 1949. — Mayer, A., Halban-Seitz 5/2, 892, 1927. — Niesert, Beiträge zur Klinik und Pathologie der Ovarialtumoren. Halle (Saale) 1951. — Schmid, H. H., Seitz-Amreich, 2. Aufl. 5/2, 753, 1952. — Schrumpf, Zbl. Gynäk. **1943**, 1086. — v. Száthmáry, Z. Geburtsh. **106**, 238 (1933).

Aus der Frauenklinik (Chefarzt: Prof. Dr. H. O. K l e i n e)
und dem Pathologischen Institut (Leitender Arzt: Prof. Dr. C. H. V e l t e n)
des Städtischen Krankenhauses Ludwigshafen a. Rh.

Über die Leistungsfähigkeit des Froschtestes nach Houssay-Galli-Mainini

Von Dr. Erwin Fr. Herkert

Im Frühjahr 1950, als nach dem Winterschlaf neue Tiere verfügbar wurden, begannen wir am hiesigen Pathologischen Institut mit der routinemäßigen Durchführung des Anurentests, nachdem im Sommer und Herbst 1949 die ersten tastenden Versuche mit sehr günstigen Ergebnissen verlaufen waren. Parallelversuche mit dem Wasserfrosch (*Rana esculenta* L.) und der Erdkröte (*Bufo bufo* L.) entschieden zugunsten des ersteren, da Bufo wesentlich schwieriger zu halten und zu handhaben ist und auch wegen ihrer relativen Seltenheit unter Naturschutz steht. Die Wechselkröte (*Bufo viridis* Laur.) wurde aus den gleichen Gründen ausgeschieden. Wir besitzen also eine fast 4jährige Erfahrung mit dem Froschtest.

Zur Injektion verwenden wir jede nur erreichbare Menge Blutserum: die in der Literatur angegebene Einspritzung von optimal 2 ccm kann nach unseren Erfahrungen um mehr als das Doppelte überschritten werden.

Eine eindrucksvolle Beobachtung: 48jährige Frau, Periode in den letzten Jahren unregelmäßig, seit einigen Monaten Amenorrhoe, Präklimax, Einweisung zur Operation wegen Uterus myomatosus. Ein mit 2 ccm Serum angestellter Froschtest ergab ein negatives Ergebnis. — Die Kontrolle des Operationspräparates ließ neben einem intramuralen Myom eine Gravidität mens. III erkennen. — 4 Stunden nach der Uterusexstirpation wurden 20 ccm Blut entnommen und mit 2 Tieren, die je 4 ccm Serum erhielten, wurde die Reaktion wiederholt. Beide Kontrollfrösche waren nach 2 Stunden positiv!

Unsere Technik ist die allgemein übliche: Subkutanen Eingehen auf der Dorsalseite des Oberschenkels und Injektion des Serums in den Rückenlymphsack; nach 2, 4, 6 und 8 Stunden Untersuchung des Kloakeninhaltes auf Spermien. Bei negativem Ausfall wird nach 24 Stunden zum letztenmal abgelesen.

Die Tiere selbst werden in großen, gemauerten, etwa 60 cm breiten, 70 cm langen und 60 cm hohen Zementbottichen gehalten, von denen jeder ungefähr 40 Frösche aufnehmen kann. Die Bodenfläche ist durch ein 10 cm hohes Mäuerchen in zwei Hälften geteilt, von denen eine mit reinem Flußsand, die andere mit Wasser gefüllt ist. Die ganze Anlage ist so gebaut, daß das Wasser über einen Riegel abgelassen werden kann. Als Futter werden Mehlwürmer verwendet, die in großen Kästen auf Mehl und Kleie selbst gezogen werden. — Um ein Entweichen der sehr kräftigen und agilen Tiere zu verhindern und um Schadtiere (Ratten, Katzen) abzuhalten, sind die einzelnen Becken mit engmaschigen Drahtgittern verschlossen.

Da wir trotz gut ausgebildeten technischen Personals und exakter Durchführung der Testreaktion bei unseren negativen Ergebnissen (positiver Ausfall bedeutet ja mit 100%iger Sicherheit Vorhandensein lebenden chorialen Gewebes) mit 8 bis 10% Fehlresultaten rechnen müssen, hielten wir es für notwendig, die Reaktionsbreite der männlichen *Rana esculenta* nach den verschiedensten Gesichtspunkten zu untersuchen. Die Ergebnisse unserer Versuche sollen im folgenden mitgeteilt werden. — Als Hormonlieferer wurden Verdünnungen des Handelspräparates »Chorioman« (Mack) gebraucht, das aus Plazenten gewonnen wird.

Der Anurentest nach Houssay-Galli-Mainini ist eine Probe auf das Vorhandensein von Choriogonadotropin. Die zuerst zu klärende Frage war: Mit welcher Mindestmenge von Choriohormon läßt sich bei *Rana esc.* gerade noch eine Spermatorrhoe auslösen?

Es wurde eine umfangreiche Versuchsserie mit 170 Fröschen durchgeführt; je 10 Tiere erhielten fallende Konzentrationen (200, 150, 100, 50, 40, 30, 20, 15, 13, 11, 9, 7, 5, 4, 3, 2, 1 IE.) Chorioman. 1 IE. wurde nach Abderhalden gleich 3 Ratten- oder 0,7 Mäuseeinheiten gesetzt.

Das erste frappierende Ergebnis dieser Reihe war ein auffallender Unterschied in der individuellen Empfindlichkeit der einzelnen Tiere. Während bei der Zehnerserie, die 2 IE. erhalten hatten, nur ein Tier ganz vereinzelte Spermien in seiner Kloake aufwies, zeigten sich bei der nächsthöheren Konzentration schon vier zum Teil stark positive Ergebnisse.

Bei 8 IE. waren 8 Frösche positiv. Aber erst bei 30 IE. war bei allen Tieren eine konstante und mit Sicherheit auftretende Spermatorrhoe festzustellen. Bei höheren Konzentrationen fiel die Probe immer positiv aus (siehe Abb. 1). Auch die Reaktionszeit läßt sich durch entsprechend hohe Konzentration stark senken. Nach 10 Minuten konnten bei 50 IE. und darüber bereits positive Ergebnisse erzielt werden. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die große individuelle Schwankungsbreite der Tiere.

Das wertvollste Resultat dieser Reihe aber ist die exakte Fixierung der optimalen Grenze nach Zeit und Reaktion auch bei den reaktionsträgen Fröschen (Kurve C in Abb. 1). Alle Tiere reagierten erst bei 30 IE. und darüber zwischen 2 bis 4 Stunden (vgl. auch Bick enbach).

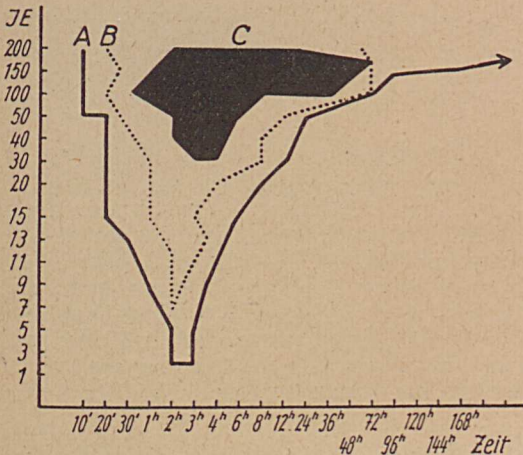


Abb. 1. Graphische Darstellung der Reaktionsweise von *Rana esc.* auf Chorioman (Mack). A. Optimale Reaktion der empfindlichsten Tiere. B. Die Hälfte der Tiere ist positiv. C. Alle Tiere zeigen positive Reaktion

Die Dauer der Spermienabgabe ist ebenfalls deutlich von der zugeführten Hormonmenge abhängig. 200 IE. ließen einzelne Frösche über 6 Tage positiv bleiben.

Ein Parallelversuch (25 Tiere) mit dem follikulotropen Handelspräparat »Equoman« (Mack), das aus dem Serum trächtiger Stuten hergestellt wird, ergab eine deutliche Erhöhung der unteren Reaktionsgrenze sowie eine Verzögerung des Reaktionseintritts; einzelne Tiere zeigten gar kein positives Resultat.

Bei der technischen Schwierigkeit der Trennung der follikulo- und luteotropen Hormone ist es begreiflich, daß diese Wirkstoffe nicht rein in den Handel kommen. Deshalb muß angenommen werden, daß positive Ausfälle nicht auf das follikulotrope Equoman selbst, sondern auf Beimengung eines luteotropen Faktors zurückzuführen sind. Wie ja überhaupt industriellen Hormonpräparaten gegenüber insofern Vorsicht am Platze ist, als die angegebenen Werte zwar den Mindestgehalt anzeigen, aber oft nicht den tatsächlichen Wirkstoffgehalt darstellen.

In zahlreichen weiteren Versuchen sollte die Einwirkung der Temperatur auf die Luteotropinempfindlichkeit der *Rana esc.* festgestellt werden. Wochenlange Kühlstellung bei etwa 4° C verzögerte die Reaktionszeit um 1 bis 2 Stunden. (10 Tiere gingen bei ständiger Abkühlung auf 0° C zugrunde!) Die minimale Hormongabe, die gerade ausreichte, um bei allen Tieren eine positive Reaktion zu erzwingen, lag um 15 IE. höher als im Grundversuch.

Auch Wärme kann auf die Dauer sehr schädlich sein: Der Versuch, einige Tiere bei etwa 25 bis 30° C zu halten, kostete etwa einem Drittel das Leben. Es erscheint jedoch ratsam, die Frösche 2 bis 3 Tage vor dem Versuch bei Zimmertemperatur unterzubringen, da entsprechende Versuchs-

anordnungen eine erhöhte Reaktionsbreite der warm gehaltenen Tiere ergab: Positive Reaktion aller Tiere bei 20 IE., früheres Eintreten der Spermienabgabe.

Ein deutlicher Einfluß der Ernährung konnte übrigens nicht festgestellt werden. Die Tiere können monatelang hungern, ohne daß sie ihre Reaktionslage wesentlich verändern.

Eine weitere sehr interessante Aufgabe war es, die zumutbare Häufigkeit der Luteotropingaben zu klären. Eine protrahierte Belastungsprobe, bei der 5 Tieren 100 IE. injiziert und sofort nach Negativwerden nochmals 100 IE. appliziert wurden usw., hatte folgendes Ergebnis: Nach 10 Minuten 1 Tier positiv, nach 2 Stunden alle positiv, nach 96 Stunden Ende der Spermatorrhoe beim letzten Frosch — erneute Applikation von 100 IE.: Die zweite Reaktion nahm fast den gleichen Verlauf wie die erste. Nach 4 Tagen wurden wieder 100 IE. gespritzt: Erstaunlicherweise war der Reaktionsablauf jetzt eher beschleunigt; nach bereits 45 Minuten waren alle Tiere positiv. Als Zeichen der beginnenden Erschöpfung hörte die Spermienabgabe schon nach 36 Stunden auf. Eine wiederholte Gabe von 100 IE. ließ die Probe nach 2 Stunden bei allen Tieren schwach positiv werden; ein Frosch war nach 24 Stunden tot, die anderen 4 waren negativ. Jetzt wurde der Versuch abgebrochen.

Die gleiche Probe wurde mit je 30 IE. durchgeführt; nach 2 Stunden alle Tiere positiv, nach 24 Stunden alle negativ. Die Zweitinjektion von 30 IE. hatte nur noch eine sehr schwache Wirkung: Nach 2 Stunden waren zwar alle Tiere noch positiv, zeigten aber deutliche Oligospermie. Schon nach 11 Stunden war die Spermienabgabe beendet. Eine erneute Gabe der gleichen Hormonmenge veranlaßte nur noch bei zwei Tieren nach 4 Stunden eine schnell vorübergehende Spermienproduktion. Auf eine vierte Einspritzung reagierte keines der Tiere.

Der scheinbare Widerspruch im Verlauf der beiden Parallelversuche läßt sich nur so erklären, daß die unphysiologisch hohe Dosis von 100 IE. die Froschhoden zu immer neuer Produktion anpeitschte und sie völlig erschöpfte. Die geringere Dosis von 30 IE. ermüdete die Testes, und der neue Impuls reichte nicht mehr zu einer gleichstarken Reaktion. Zudem war das zeitliche Intervall zwischen zwei Hormongaben wesentlich kürzer als bei der heroischen Dosierung.

Ein dritter Versuch dieser Reihe wurde folgendermaßen durchgeführt: 5 Tiere erhielten 100 IE. Nach Beendigung der Reaktion wurden 30 IE. appliziert: Ganz schwache Oligospermie nach 4 bis 6 Stunden!

Nachdem nun die akute Leistungsfähigkeit gut gehaltener Tiere genügend geklärt war, wurde das Verhalten bei verschiedenen langen Intervallen geprüft: 5 Tiere bekamen alle 8 Tage 30 IE. Die ersten zwei Reaktionen wiesen keine Besonderheiten auf. Bei der dritten versagten zwei Tiere völlig, die anderen zeigten Oligospermie und verlängerte Reaktionszeit. In der vierten Woche ließ nur noch ein Frosch nach 4 Stunden einige Spermien in der Kloake erkennen.

Ein Zeitabstand von 3 Wochen bei 30 IE. und 5 Tieren ergab bei 4 Tieren über eine Zeit von $\frac{1}{4}$ Jahr keine Abschwächung der Reaktion. Der 5. Frosch war ein völliger Versager; eine Ursache für das Ausbleiben der Spermaabgabe konnte nicht gefunden werden: Das Tier wog 40 g, äußerlich waren alle männlichen Geschlechtsmerkmale vorhanden. Auch die Obduktion des mit Äther getöteten Tieres zeigte wenigstens makroskopisch einwandfrei Hoden.

Eine interessante Beobachtung deckte eine weitere Möglichkeit des Versagens des Froschtestes auf: Eine auf 30 IE. verdünnte Lösung von Chorioman hatte nach 37 Stunden ihre Wirkung fast völlig verloren. Von 5 Tieren reagierten nur noch 3 ganz schwach innerhalb von 4 Stunden, und nach 6 Stunden waren keine Spermien mehr nachzuweisen.

Die bisher erwähnten Versuche wurden alle mit »Chorioman« (Mack) durchgeführt und sollten im Rahmen des biologisch Möglichen eine feste Unterlage für weitere Untersuchungen geben. — Die physiologischen Erzeuger des luteotropen Hormons sind Hypophysenvorderrappen und Plazenta (Die funktionelle Übereinstimmung der von Hirnanhang und Mutterkuchen gelieferten Wirkstoffe wird in vorliegender Arbeit als gegeben angenommen).

Es mußte nun ein Weg zu einer einigermaßen richtigen, wenn auch groben, quantitativen Testung der Hormonproduzenten selbst gefunden werden. Hinsichtlich der Hypophyse wurde folgendermaßen vorgegangen: Das aus der Leiche vorsichtig entnommene Organ wurde gewogen (450 bis 600 mg) und in einer Reibschale mit gleicher Menge eines feingesiebten, durch intensives Waschen von allen tonigen Beimengungen befreiten (Ton adsorbiert Hormone!) und ausgeglühten Sandes unter Zugabe von 5 ccm einer 0,6%igen Kochsalzlösung zerrieben. Der dünnflüssige Organbrei wurde scharf zentrifugiert, die klare Flüssigkeit abpipettiert und mit 0,6%iger Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt. Die so gewonnene Stammlösung wurde in verschiedenen Verdünnungen am Frosch ausgetestet.

Hier zeichnete sich in groben Umrissen ein neues Verwendungsgebiet des Anurentestes ab. Die fallende Verdünnungsreihe (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 usw.) war bei 8 Erwachsenenhypophysen mit ziemlicher Regelmäßigkeit bis 1:64 nach 2 Stunden positiv. Bei der Hypophyse einer 79jährigen Frau ergab sogar 1:126 noch eine positive Reaktion. Mit Kinderhypophysen (bis zum 10. Lebensjahr) war nie eine Spermatorrhoe zu erreichen. Eine Schwangerenhypophyse, deren Reaktion in diesem Zusammenhang besonders interessiert hätte, war während der Versuchsperiode nicht zu erhalten. (Über weitere Versuche in dieser Richtung soll in einer späteren Arbeit berichtet werden.)

Ähnlich wurden auch Plazentagewebe aufbereitet. 5 g einer gewogenen reifen Plazenta aus dem Kreißsaal wurden mit 5 g präparierten Sandes und 10 ccm 0,6%iger NaCl-Lösung verrieben, der Detritus zentrifugiert und die von korpuskulären Bestandteilen freie Flüssigkeit wieder auf 10 ccm aufgefüllt und als Stammlösung benützt.

Auch bei dieser Versuchsserie war eine gewisse Gesetzmäßigkeit festzustellen: Die Grenze lag bei reifen Plazenten zwischen 1:32 und 1:64. Chorales Gewebe aus frischen Aborten im 2. bis 3. Monat zeigten wesentlich höhere Werte: Fraktionierte Verdünnungen zwischen 1:128 und 1:512 waren bis knapp über 1:300 positiv erschienen!

Diese Hypophysen- und Plazentaversuche lassen den Frosch auch zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes der Erzeugerorgane an luteotropem Hormon geeigneter erscheinen. Wir haben es bewußt vermieden, den an sich naheliegenden Schluß von den Organsäften auf die eingangs beschriebene Versuchsreihe mit »Chorioman« zu ziehen.

Zum Abschluß seien noch einige klinische Beobachtungen erwähnt, bei denen ein scheinbares Versagen des Froschtestes durch den Nachweis

geklärt werden konnte, daß die ursprünglich angewandten Hormonmengen unterschwellig waren.

1. Breussche Mole: Seit 6 Monaten Amenorrhoe. Vor 3 Monaten Schwangerschaft mens. III festgestellt. Uterus seither nicht größer geworden. Mehrere mit Serum (erst 2-, später 2mal 4 ccm) angestellte Froschteste waren negativ. Mit Wehen in die Frauenklinik eingewiesen: Ausstoßung einer 45 g schweren Plazenta mit einem 12 mm langen, völlig mazerierten Embryo. Histologische Diagnose: Breussche Mole. 40 g der Plazenta wurden auf die beschriebene Weise aufbereitet und mit Absicht wesentlich weniger Verdünnungsflüssigkeit verwandt, so daß 20 ccm »Stammlösung« entstand. Je 10 ccm wurden zwei besonders großen Fröschen injiziert. Nach 6 Stunden zeigte nur eines der Tiere eine geringe Spermaausscheidung, das andere blieb dauernd negativ. Wenn schon der (fakultative) Hormonproduzent kaum in der Lage war, eine positive Reaktion zu provozieren, so kann von der um ein Vielfaches geringeren Serumkonzentration nichts anderes erwartet werden.

2. Tubenaborte (5 Fälle): Regel ausgeblieben, starke Schmerzen im Unterleib, Uterus o. B., verdächtiger Adnexbefund, Froschteste immer negativ. Operation. Blutung in die Bauchhöhle, eine Tube verdickt. Aufbereitung des Operationspräparates in der geschilderten Weise: Entweder gar keine oder äußerst schwache Reaktion.

3. Froschtest bei einer Patientin im 4. Schwangerschaftsmonat 3mal negativ. Fehlgeburt im 4. Monat. Die Plazenta wird verrieben; die Injektion der »Stammlösung« ergibt im Froschtest nur spärliche Spermatorrhoe. Vielleicht war die Hormonarmut der Plazenta die Ursache des Abortes — und auch des Versagens des Testversuchs. Makroskopisch bot die Plazenta ein normales Bild.

Zusammenfassung

Es wird der Versuch unternommen, dem Anurentest nach Houssay-Galli-Mainini eine experimentelle Grundlage zu geben. Die Grenzen der Leistungsfähigkeit der *Rana esculenta* werden nach verschiedenen Gesichtspunkten zahlenmäßig festgelegt. Auch über den Hormongehalt von Hypophyse und Plazenta läßt sich mittels des Froschtestes — wenigstens im groben — ein quantitatives Bild gewinnen. Die Fehlergebnisse im Routinetest sind weitgehend durch Unterdosierung zu erklären: Zu geringe Serummenge, unterwertige Leistung der Hormonproduzenten oder auch zu hohe Reaktionsschwelle einzelner Versuchstiere.

Schrifttum

Abderhalden, R., Vitamine, Hormone, Fermente. S. 159. 1944. — Bedoya und Plaza, Geburtsh. u. Frauenhk. 1950, 509. — Bedoya und Puras, Geburtsh. u. Frauenhk. 1950, 492. — Bickenbach, Zbl. Gynäk. 1947, 32; Geburtsh. u. Frauenhk. 1948, 229. — Edam, Geburtsh. u. Frauenhk. 1950, 513. — Fickentscher, Med. Klin. 1951, 1070. — Frisch, Münch. med. Wschr. 1952, 1620. — Manstein und Schmidt-Hoensdorf, Ärztl. Forsch. 1949, 3, 53; 1949, 229. — Mighorst, Ned. tsschr. geneesk. 1951, 3755. — Naumann, Zbl. Gynäk. 1949, 865. — Paul, Ärztl. Wschr. 1950, 902; Ärztl. Forsch. 1950, 15. — Sirjean, Concours méd., Paris 1952, 975. — Spurny und Hess, Zbl. Gynäk. 1951, 986. — Wienering und Lakomy, Med. Klin. 1951, 493. — Zander, Geburtsh. u. Frauenhk. 1951, 810.

Neue Bücher

Th. Koller, E. Held und W. Neuweiler: Lehrbuch der Geburtshilfe. 2. Aufl., XIX, 907 S. m. 348 Abb. S. Karger, Basel 1953. Gzlw. sfr. 62,40.

Es ist ein besonderes Vergnügen, ein deutsch geschriebenes Lehrbuch der Geburtshilfe eines anderen Landes zu studieren. Um es vorweg zu nehmen, das vorliegende Werk der Schweizer Autoren, das ein Spiegelbild von Praxis, Forschung und Lehre in deren Heimat gibt, legt beredtes Zeugnis von dem