

(Aus dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Kolle; Abteilung für Krebsforschung, Leiter:
Professor Dr. Caspari.)

Studien zur Geschwulstimmunität.

XIV. Mitteilung.

Weitere Versuche zur Frage der Bedeutung der Geschlechtsdrüsenfunktion für das Geschwulstwachstum bei der weißen Maus.

Von

Prof. Dr. Egon Pribram.

(Eingegangen am 9. Juni 1933.)

Versuche über die Beziehungen der Ovarialfunktion zum Tumorstadium der weißen Maus hatten ergeben, daß doppelseitige Kastration bei einem Intervall von 30—45 Tagen zwischen Operation und Transplantation zu einer *beträchtlichen*, außerhalb der Fehlergrenze liegenden *Erhöhung der absoluten Immunität und Verlängerung der Lebensdauer der Versuchstiere* führte. Nach einseitiger Kastration blieb der Effekt aus. Dagegen zeigte sich weder nach einseitiger noch bei doppelseitiger Kastration eine Beeinflussung des *Tumorstadiums*, die außerhalb des doppelten mittleren Fehlers gegenüber den Kontrollen lag. Die sog. Tumorstadium setzt sich ja bekanntlich aus zwei Komponenten zusammen, der Angangsfähigkeit und der Wachstumsenergie. Nur die erstere und die Lebensdauer der Geschwulsttiere werden durch die Kastration beim weiblichen Geschlecht beeinflusst. Die Größe des Intervalls zwischen Kastration und Transplantation ist für die Ergebnisse der Versuche von ausschlaggebender Bedeutung. Den deutlichsten Effekt in bezug auf die Steigerung der absoluten Immunität sahen wir bei einem Intervall von 30—45 Tagen zwischen Kastration und Impfung, während er bei höheren Intervallen wieder abzuklingen scheint. Nach doppelseitiger, weniger ausgesprochen nach einseitiger Kastration trat eine die Fehlergrenze weit übersteigende Verlängerung der Lebensdauer in Erscheinung. Diese zeigte sich auch noch bei einem Intervall von 100 Tagen. Nachdem so die Wirkung einseitiger und doppelseitiger Kastration beim weiblichen Geschlecht auf das Wachstum verschiedener Tumoren, die in verschiedenen Intervallen nach der Operation überimpft wurden, festgestellt war, wurde ein Versuch abgeschlossen, in dem statt

der *Extirpation* der Ovarien eine doppelseitige *Unterbindung* dieser Organe vorgenommen wurde. Die Unterbindung ist nicht gleichbedeutend mit Kastration. Das Organ ist nicht entfernt, aber es wird allmählich abgebaut, und die Abbauprodukte (Nekrohormone) treten in die Blutbahn. Wären die Keimdrüsen oncogene Organe, so müßte man erwarten, daß bei Unterbindung eine Anregung des Geschwulstwachstums eintreten würde. Andererseits könnte man auch vermuten, daß durch die Nekrohormone der abgebauten Organe eine Reizung des retikuloendothelialen Systems erfolgt, die das Geschwulstwachstum herabsetzt. Es wurde daher ein Intervall von 3 Wochen gewählt, in der Annahme, daß vor allem die evtl. Wirkung der Operation selbst auf das r.e. S. schon abgeklungen sei. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 wiedergegeben.

Des weiteren haben wir dann unsere Versuche auch auf männliche Tiere ausgedehnt und zunächst bei ihnen doppelseitige Kastration sowie ein- und doppelseitige Hodenunterbindung in verschiedenen Intervallen *vor* der Carcinomtransplantation ausgeführt.

Sodann wurde in anderen Versuchsserien die Wirkung der ein- und doppelseitigen Kastration bei weiblichen und männlichen Mäusen in verschiedenen Intervallen *nach* der Carcinomtransplantation studiert. Schließlich wurde gleichzeitig mit dem Carcinombrei bei männlichen Tieren Hodenbrei verimpft; ferner in weiteren Versuchen bei Männchen 8—9 Tage nach der Carcinomtransplantation 1—2 Hoden von Normaltieren oder $\frac{1}{2}$ —1 Normalmilz implantiert, also die Wirkung der Hypertestikulation und Hypersplenisation studiert. Unsere Versuche gliedern sich somit in Vorbehandlung vor der Carcinomtransplantation und in Nachbehandlung.

Die Abkürzungen in den folgenden Tabellen bedeuten wie in früheren Mitteilungen: I.V. = Intervall in Tagen zwischen Operation und Tumorimpfung. a.i. = absolut immune Tiere. r.i. = relativ immune Tiere. R. = Reiztumoren. W.G. = mittlere Wachstumsgeschwindigkeit in Milligramm pro Tag. Die eingeklammerten Werte der W.G. bedeuten die mittleren Wachstumsgeschwindigkeiten bei Einbeziehung der a.i.-Tiere. L. = mittlere Lebensdauer.

Die Zahlen in Fettdruck zeigen Differenzen an, die den doppelten mittleren Fehler übertreffen.

Vorbehandlungen.

Tabelle 1.

Operation	Zahl d. Tiere	I.V. Tage	a.i.	r.i.	R.	W.G. mg	L. Tage
Doppelseitige Ovarunterbindung . . .	22	21	6	4	—	188 (130)	38
Einseitige Ovarunterbindung	21	27	7	1	—	209 (139)	56
Kontrollen	20	—	4	4	—	157 (126)	39

Eine doppelseitige Unterbindung der Ovarien ergab somit in dem gewählten Zeitintervall keine Beeinflussung des Tumorstwachstums und

der Lebensdauer, während eine einseitige Unterbindung zu einer Verlängerung der Lebensdauer führte, die den doppelten mittleren Fehler übertraf, also als reell angesehen werden darf. Die Differenzen der Wachstumsgeschwindigkeiten bleiben dagegen innerhalb des doppelten mittleren Fehlers.

Die Ergebnisse der Versuche mit einseitiger und doppelseitiger Kastration bei Männchen finden sich in Tab. 2.

Tabelle 2.

Operation	Zahl d. Tiere	I. V. Tage	a. i.	r. i.	R.	W. G. mg	L. Tage
Doppelseitige Hodenkastration . . .	25	29	16	7	—	64 (23)	94
Einseitige Hodenkastration	19	24	3	3	—	134 (113)	64
Kontrollen	19	—	1	3	4	195 (184)	29
Doppelseitige Hodenkastration . . .	19	4	1	4	5	222 (210)	26
Kontrollen	20	—	1	2	9	274 (260)	26

Auch in diesen Versuchsserien sehen wir zunächst eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitintervall in Übereinstimmung mit den Versuchen von *Murphy* und *Sturm*. Bei einem Intervall von 4 Tagen zwischen doppelseitiger Hodenkastration und Tumorimplantation zeigte sich kein sicherer Effekt. Auch die Differenzen der W. G. liegen innerhalb des doppelten mittleren Fehlers. Bei einem Intervall von 29 Tagen ergaben die Versuche dagegen einen ganz auffallenden Einfluß auf die Angangsfähigkeit, die Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren und auf die Lebensdauer der Tiere. Wir fanden eine weit außerhalb der Fehlergrenze liegende Erhöhung der Tumorresistenz, eine beträchtliche Verminderung der Wachstumsgeschwindigkeit der Geschwülste und Verlängerung der Lebensdauer. Auch nach einseitiger Hodenkastration ergibt sich bei ähnlichem Zeitintervall noch eine deutliche Verminderung des Tumorwachstums und eine beträchtliche Verlängerung der Lebensdauer, die allerdings nicht die Höhe erreicht wie bei doppelseitiger Kastration und annähernd gleichem Zeitintervall. Die Angangsfähigkeit der Tumoren blieb dagegen bei einseitiger Hodenkastration im Gegensatz zu der doppelseitigen unbeeinflusst.

Es besteht somit in der Wirkung der vorhergehenden Kastration bei *männlichen* und *weiblichen* Mäusen insofern ein Unterschied, als bei letzteren nur die Angangsfähigkeit der Tumoren und die Lebensdauer, bei ersteren auch die zweite Komponente der Tumorigenität, die Wachstumsgeschwindigkeit beträchtlich beeinflusst wird.

Wie bei den Ovarien wurde deshalb auch bei Hoden die Wirksamkeit der Abbindung auf das Geschwulstwachstum geprüft. Auch hier erwies sich der Einfluß der männlichen Keimdrüsen als wirksamer als der der weiblichen. Wie bei den entsprechenden Versuchen an Ovarien wurde auch zwischen Hodenunterbindung und Geschwulsttransplantation ein

größerer Zeitraum gewählt. Wir benutzten ein Zeitintervall von 30 Tagen, das sich bei den Effekten der Hodenkastration als besonders günstig erwiesen hatte. Die Ergebnisse finden wir in Tab. 3.

Tabelle 3.

Operation	Zahl d. Tiere	I. V. Tage	a. i.	r. i.	R.	W. G. mg	L. Tage
Doppelseitige Hodenunterbindung	20	30	1	1	8	291 (277)	33
Einseitige Hodenunterbindung	18	30	3	2	1	196 (164)	37
Kontrollen	20	—	1	4	3	192 (183)	31

Doppelseitige Hodenunterbindung ließ bei dem gewählten Zeitraum zwischen Operation und Transplantation die Angangsfähigkeit der Tumoren und die Lebensdauer der Tiere unbeeinflusst. Dagegen bewirkte sie durch Übertritt der spezifischen Nekrohormone des Hodens in der Tat eine beträchtliche *Beschleunigung* des Tumorwachstums. Die Unterbindung nur eines Hodens erwies sich dagegen bei gleichem Zeitintervall als wirkungslos. Die Erhöhung der Lebensdauer (37 Tage zu 31 Tage) übersteigt nicht den doppelten mittleren Fehler.

Nachbehandlungen.

Waren die bisherigen Versuche als Immunitätsexperimente aufzufassen, die geeignet sind den Zustand des Fortfalls einer oder beider Keimdrüsen beider Geschlechter auf das Geschwulstwachstum zu prüfen, so haben die folgenden Versuche die Wirkung ein- und doppelseitiger Kastration auf *schon im Wachstum begriffene* Geschwülste zum Gegenstand. Sie beantworten also auch die Frage, ob der Kastration eine hemmende oder heilende Wirksamkeit bei bestehenden bösartigen Geschwülsten zukommen kann. Bei solchen Versuchen habe ich geglaubt, möglichst frühzeitig nach dem Angehen der Transplantationstumoren die Operation ausführen zu müssen, damit das günstige Zeitintervall, das sich aus den Versuchen mit vorhergehender Transplantation ergeben hatte, noch zur Geltung gelangen kann. Die Versuche an weiblichen Tieren finden sich in Tab. 4.

Tabelle 4.

Operatton	Zahl d. Tiere	I. V. Tage	a. i.	r. i.	R.	W. G. mg	L. Tage
Weibl. Mäuse m. Ca. geimpft, dann doppelseitig kastriert	18	4, 5, 7,	1	7	1	140 (132)	30
Weibl. Mäuse m. Ca. geimpft, dann einseitig kastriert	14	5, 7	1	4	4	219 (204)	34
Kontrollen	14	—	1	8	2	125 (116)	35
Weibl. Mäuse m. Ca. geimpft, dann doppelseitig kastriert	20	3	—	1	4	229	31
Kontrollen	30	—	—	4	6	203	29

Die Wirkung der Kastration bei schon bestehendem Tumor weiblicher Tiere erwies sich bei dem gewählten Zeitintervall ohne sicheren Einfluß auf Tumorigenität und Lebensdauer der Tiere. Das Zeitintervall ist in den einzelnen Serien etwas schwankend, weil es nicht immer möglich war, alle Tiere einer Reihe am gleichen Tage zu operieren. Zahlenmäßig ist nach einseitiger Kastration die Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren nicht unbedeutend erhöht gegenüber der bei doppelseitiger Kastration und bei den Kontrollen. Aber die Berechnung der Versuche ergibt, daß die Differenz doch nicht den doppelten mittleren Fehler übersteigt, was auf starke Wachstumsdifferenzen der Tumoren innerhalb der einzelnen Reihen zurückzuführen ist. Wir haben hier einen weiteren Beweis dafür, wie notwendig die Auswertung der Versuche nach den Prinzipien der statistischen Mathematik ist, und wie unzureichend es ist, Schlüsse zu ziehen, rein aus der Differenz der Größe der Tumoren in Versuchs- und Kontrollreihen. Daß die Differenzen bei weiblichen Tieren innerhalb der Fehlergrenze lagen, findet auch darin eine gewisse Stütze, daß, in gleicher Weise wie Tab. 5 zeigt, bei Männchen bei einem Intervall von 5 und 12 Tagen nach der Transplantation die Kastration ohne Effekt auf Tumorigenität und Lebensdauer war, obgleich in den vorhergehenden Versuchen sich eine höhere Wirkung bei den männlichen Sexualdrüsen im Verhältnis zu den weiblichen ergeben hatte.

Tabelle 5.

Versuchsordnung	Zahl d. Tiere	I. V. Tage	a. l.	r. i.	R.	W. G. mg	L. Tage
Ca.-Impfg., dann doppels. Hod. kastr.	20	5	3	2	4	230 (196)	35
Desgl.	16	12	1	5	4	190 (178)	37
Kontrollen	19	—	1	3	4	204 (193)	41

In den vorhergehenden Versuchen wurde der Effekt des Ausfalles einer oder beider Geschlechtsdrüsen in verschiedenen Intervallen bei weiblichen und männlichen Mäusen vor und nach der Tumortransplantation geprüft. Die Unterbindungsversuche nahmen eine Mittelstellung ein, insofern als zu dem funktionellen Ausfall einer oder beider Geschlechtsdrüsen das Auftreten der Abbauprodukte der unterbundenen Geschlechtsdrüsen hinzukommt. Außerdem atrophieren bei männlichen Tieren auch die Prostata und Samenblasen. Im Gegensatz zu diesen Versuchen, bei denen es sich in verschiedenen Varianten um einen Ausfall handelt, stehen die nun zu besprechenden, in denen bei *ungeschädigten* Tieren die Wirkung eines Zerfalls von Abbauprodukten der Geschlechtsdrüsen auf das Tumorigenitätstudium studiert werden sollte. Da sich in den vorhergehenden Versuchen eine Überlegenheit der Wirkung der Hoden über die Ovarien ergeben hatte, wurden die folgenden Versuche mit

Hodensubstanz ausgeführt. Zunächst wurde männlichen Tieren gleichzeitig mit dem Geschwulstbrei auf der anderen Körperseite ein Depot von Brei arteigener Hodensubstanz gesetzt. Das Ergebnis der Versuche ist aus Tab. 6 ersichtlich.

Tabelle 6.

Versuchsanordnung	Zahl d. Tiere	I.V. Tage	a.i.	r.i.	R.	W.G. mg	L. Tage
Ca-Impfung, gleichzeitig Hodenbrei	16	—	2	2	3	194 (170)	31
Kontrollen	19	—	3	—	6	279 (235)	38

Es ergab sich also aus diesem Versuch eine Herabsetzung der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren, die den doppelten mittleren Fehler übertraf. Dies stimmt mit den Resultaten von *Duran-Reynals* ungefähr überein. Dieser Autor injizierte eine Suspension von fast eiweißfreiem Hodenextrakt intracutan und an verschiedenen Körperstellen auf Kaninchen und fand eine deutliche Hemmung des Brown-Pearceschen Kaninchenepithelioms. Auch nach intratestikulärer Einspritzung von Tumorgewebe mit Rattenhodenextrakt zeigte sich ein vermindertes Tumorstadium und wesentlich geringere Neigung zu Metastasenbildung als bei den Kontrolltieren, bei denen statt des Hodenextraktes Ringerlösung benutzt wurde. *Tanzer* hat ähnliche Ergebnisse bei Mäusetumoren erhalten. Auffallend ist, daß die Lebensdauer der Versuchstiere trotz der Herabsetzung der Wachstumsgeschwindigkeit eher verkürzt ist. Doch fragt es sich, ob die Differenz reell ist. Sie ist etwa gleich groß wie der doppelte mittlere Fehler. Auf jeden Fall ist aber in dieser Versuchsreihe die Herabsetzung der W.G. nicht mit einer Lebensverlängerung verbunden.

In weiteren Versuchen wurde bei männlichen Mäusen mit erhaltenen Geschlechtsdrüsen vor und nach der Carcinomtransplantation Hoden artgleicher Tiere transplantiert. Zum Vergleich fanden Milzimplantationen statt. Die Resultate der Versuche finden sich in Tab. 7.

Wie aus Tab. 7 ersichtlich, hatte die Implantation von einem Hoden oder einer halben Milz bei einem Zeitintervall von 9 Tagen nach der Tumortransplantation keinen Einfluß auf die Tumorstadium und Lebensdauer. Wurde dagegen die Menge des Implantats vergrößert und zwei Hoden oder eine Milz verwendet, so zeigte sich ein recht interessantes Resultat. Es ergab sich nämlich eine *Herabsetzung* der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren nach *Hodenimplantation*, eine *Erhöhung* nach *Milzimplantation*. Dabei übertraf die Differenz der Wachstumswerte bei Hoden- und Milzimplantation den dreifachen mittleren Fehler, war also sicher nicht zufallsbedingt. Nach Transplantation von zwei Hoden oder 1 Milz *vor* der Carcinomimpfung (Intervall 5 Tage) ergab

Tabelle 7.

Versuchsanordnung	Zahl d. Tiere	I. V. Tage	a. i.	r. i.	R.	W. G. mg	L. Tage
Norm. Männchen, 2 Hod. impl. und 5 Tage später Ca. transpl.	14	5	3	4	—	136 (107)	29
Norm. Männchen, 1 Milz impl., 5 Tg. später Ca. transplantiert.	16	5	3	5	1	124 (100)	24
Kontrollen ♂	20	—	1	—	5	237 (225)	26
Männl. Tier, Ca. transpl., später 1 Hoden implantiert.	16	9	—	4	4	200	25
Männl. Tier, Ca. impl., später $\frac{1}{2}$ Milz implantiert	18	9	—	5	3	168	33
Kontrollen ♂	19	—	—	7	2	163	28
Ca. transpl., später 2 Hoden implant.	14	8	—	3	1	161	29
Ca. transpl., später 1 Milz implant. .	19	8—9	—	1	6	261	27
Kontrollen ♂	16	—	1	4	5	233 (215)	29

sich eine beträchtliche Herabsetzung der Wachstumsgeschwindigkeit, die außerhalb der Fehlergrenze lag, und zwar ungefähr in der gleichen Größenordnung bei Hoden und Milz.

Histologische Befunde.

Bei Ovarunterbindungen erwiesen sich die nicht unterbundenen Ovarien fast durchweg hochgradig degeneriert. Beim Tode der doppel-seitig unterbundenen Tiere waren die beiden unterbundenen Ovarien meistens vollständig resorbiert, nur in einzelnen Fällen war noch ein kleiner degenerierter Rest vorhanden. Bei den Kontrolltieren zu diesen Versuchen ergaben die histologischen Befunde eine Bestätigung unserer früheren Versuche, auf die später noch einmal näher eingegangen werden soll. Nach Hodenunterbindungen war die unterbundene Keimdrüse bei den frühzeitig verstorbenen Tieren bereits nach 14 Tagen resorbiert. Allerdings handelt es sich nur um 4 Tiere, die so früh zugrunde gegangen sind, so daß sich daraus noch keine allgemeinen Schlüsse auf die Dauer der Resorption der unterbundenen Keimdrüsen ziehen lassen. Der restierende Hoden zeigte fast in allen Fällen mangelhafte Spermatogenese und Degeneration. Auch bei den Kontrolltieren kann man vielfach, aber nicht in allen Fällen, eine Degeneration der Hoden beobachten. Bei den männlichen Tieren, die 24 Tage vor der Carcinomimpfung einseitig kastriert worden waren, erwies sich der zurückgebliebene Hoden beim Tode der Tiere als durchwegs hochgradig degeneriert, außerdem fehlte jede Spermatogenese. Die Tiere waren durchschnittlich 5—6 Wochen nach der Carcinomimpfung zugrunde gegangen.

Ähnliche histologische Bilder wie in unseren früheren Versuchen einseitiger Ovarerextirpation vor der Carcinomimpfung sahen wir auch in den Fällen, wo die Ovarien einseitig 5—7 Tage nach der Carcinom-

impfung entfernt worden waren. Das zurückgebliebene Ovarium zeigte Neigung zur Entwicklung zahlreicher großer sprungreifer und vieler atretischer Follikel nebst Schädigung des Ovarialstromas, und öfters Blutungen, geringe Corpus luteum-Bildung.

In den Versuchen, in denen Hodenbrei gleichzeitig mit Carcinom injiziert worden war, ergaben die histologischen Befunde der Hoden nach dem Tode der Tiere in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle normale oder gesteigerte Funktion der Keimdrüsen; nur bei einer Maus wurde eine starke Degeneration gefunden. Das Tier war refraktär gegen die Tumortransplantation gewesen. Es kann dies natürlich auf einem Zufall beruhen. Bei den weiblichen Tieren, die mit Hodenbrei geimpft worden waren, konnten wir eine gesteigerte Funktion der Keimdrüsen nicht nachweisen, eher eine Degeneration. Auch bei den Kontrollen fanden sich Degenerationserscheinungen der männlichen und weiblichen Keimdrüsen.

In jenen Versuchsserien, in denen wir nach der Carcinomimpfung 1 oder 2 Hoden transplantiert hatten, ergab die Untersuchung der Keimdrüsen wechselnde Bilder, doch überwog die Reizung. Es war aber auch in manchen Fällen der eine Hoden degeneriert, während sich der andere in einem Reizzustand befand. Funktionelle Reizung fand sich auch im histologischen Bilde in den Fällen, wo das Geschwulstwachstum stark vermindert war. Bei den Tieren, denen Hoden 5 Tage vor der Carcinomimpfung transplantiert worden war, waren die Befunde ebenfalls nicht gleichartig, doch überwogen Degenerationserscheinungen.

Kritische Besprechung der Ergebnisse.

Betrachten wir zunächst auf Grund des hier mitgeteilten Versuchsmaterials die Bedeutung des Ausfalls der Geschlechtsfunktion auf das Geschwulstwachstum bei männlichen und weiblichen Tieren, so zeigt sich, daß die Wirkung bei Männchen viel energischer war als bei Weibchen. Während beim Weibchen durch Kastration im wirksamen Zeitintervall nur die Zahl der Nuller anstieg und die Lebensdauer der Tiere verlängert war, wurde bei männlichen Tieren außerdem noch die zweite Komponente der Tumorigenität, die Wachstumsgeschwindigkeit, beeinflußt.

Die Wirkungen traten aber niemals unmittelbar oder in kurzem Intervall nach der Kastration auf; sie zeigten sich vielmehr erst nach einem Zeitraum von etwa einem Monat. Ein Intervall von einem Monat bedeutet natürlich im Leben der Maus eine ganz andere Zeitspanne als im Leben des Menschen. Verließen solche biologischen Vorgänge der Lebensdauer einigermaßen entsprechend, so würden beim Menschen Jahre nach dem Ausfall der Geschlechtsfunktion vergehen, ehe der Zustand erreicht ist, der bei der Maus sich etwa in einem Monate aus-

bildet. Jedenfalls scheint es, daß erst, wenn sich in dem biologischen Ablauf, der durch die Kastration hervorgerufen ist, ein neuer stabiler Zustand hergestellt hat, die erwähnten Wirkungen eintreten.

Vielleicht spielt bei der intensiveren Wirkung der Kastration beim Männchen auch die Atrophie der Nebenorgane, Prostata und Samenblase, die fast stets bei Entfernung sowohl als auch bei Unterbindung der Hoden beobachtet wird, eine gewisse Rolle. Kastration *nach* der Überimpfung von Carcinom zeigte weder bei männlichen noch bei weiblichen Tieren einen sicheren Effekt. Eine Wachstumsverschlechterung der Tumoren als Folge der Exstirpation von Ovarien, wie sie *Himeno* (Trans. jap. path. Soc. 20, 666) bei einem überimpfbaren Kaninchensarkom beobachtet hat, konnte ich jedenfalls nicht feststellen.

Zur weiteren Klärung der Bedeutung der Geschlechtsdrüsen für das Tumorstadium wurden nun Unterbindungen derselben bei Männchen wie bei Weibchen unternommen. Die Unterbindung ist keineswegs gleichbedeutend mit Kastration. Hier handelt es sich ja nicht um einen sofortigen vollständigen Ausfall der Organfunktion, sondern um einen allmählichen Zerfall und Wirkung der spezifischen Nekrohormone.

Auch bei diesen Versuchen zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen. Bei den Weibchen erwies sich die doppelseitige Ovarunterbindung als bedeutungslos, während nach einseitiger Unterbindung lediglich eine Lebensverlängerung der Tiere zu konstatieren war. Als Erklärung dieser Resultate muß man wohl annehmen, daß quantitative Verhältnisse eine Rolle spielen. Vielleicht führen die Zerfallsprodukte bei geringer Konzentration durch Unterbindung nur eines Ovars zu einer Abschwächung der Toxwirkung des Carcinoms auf den Organismus, während bei doppelseitiger Kastration, also beim stärkeren Nekrohormonschub, ein solcher Erfolg ausbleibt. Der Krebstot ist ja beim Menschen wie bei Mäusen, wenn nicht der Sitz der Geschwulst selbst einen Ausfall bedingt, der mit der Fortsetzung des Lebens unvereinbar ist, als Toxtot aufzufassen, der unter dem klinischen Bild einer fortschreitenden Kachexie verläuft. Es wird zweifellos auch in der menschlichen Praxis Fälle geben, in denen das Aufhalten der Kachexie auch dann von Bedeutung ist, wenn man das Tumorstadium selbst nicht beeinflussen kann. In solchen Fällen ist zu erwägen, ob nicht der an und für sich geringfügige Eingriff einseitiger Ovarunterbindung gelegentlich versucht werden könnte.

Beim Männchen erwies sich einseitige Hodenunterbindung ebenfalls als unwirksam auf Wachstum und Immunitätsvorgänge. Die Lebensdauer war auch in diesem Fall etwas verlängert. Allerdings liegt die Differenz innerhalb des doppelten mittleren Fehlers. Man könnte aber vielleicht im Hinblick auf den Ausfall des entsprechenden Vorganges

beim Weibchen annehmen, daß die Differenz auch beim Männchen nicht auf einem Zufall beruht.

Bei doppelseitiger Hodenunterbindung, 30 Tage vor der Geschwulst-überpflanzung, sehen wir einen sehr starken *Anstieg* der Wachstumsgeschwindigkeit der Geschwülste. Die Differenz übertrifft den dreifachen mittleren Fehler gegenüber den Kontrollen. Auffallend ist dabei, daß trotzdem auch hier die Lebensdauer gegenüber den Kontrollen zum mindesten nicht herabgesetzt ist. Die Tatsache energischer Wachstumsförderung der Tumoren nach Unterbindung beider Hoden läßt beim Menschen gewisse Bedenken auftauchen gegenüber der Steinachschen Operation, die ja ein Äquivalent der Hodenunterbindung darstellt. Denn wenn auch die betreffenden Personen klinisch sonst gesund sind, sind es doch durchwegs Personen in hohem Alter. In hohem Alter aber finden wir nicht selten latent verlaufende Carcinome von relativer Gutartigkeit, die durch einen derartigen operativen Eingriff zu erhöhtem Wachstum angeregt werden können.

Die starke Steigerung der Wachstumsgeschwindigkeit nach doppelseitiger Hodenunterbindung könnte im Sinne von *Fichera* dahin gedeutet werden, daß die Keimdrüsen onkogene Organe sind, deren spezifische Nekrohormone das Geschwulstwachstum begünstigen. Gegen diese Auffassung spricht aber die deutliche *Hemmung* des Geschwulstwachstums, die wir bei *gleichzeitiger* Injektion von Hoden- und Carcinombrei, ebenso wie nach Transplantation von 2 Hoden 5 Tage *vor* der Tumorimpfung und 8—9 Tage *nach* der Impfung beobachten konnten. Es wäre nicht zu verstehen, daß eine Vermehrung an onkogenem Material im Organismus Geschwulsthemmung herbeiführen sollte. Es ergibt sich vielmehr aus diesen Versuchen wie aus vielen anderen, daß wir es bei der Nekrohormonwirkung, wie bereits wiederholt betont, mit einem quantitativen Vorgang zu tun haben.

Brüda hat bei Verwendung von Testishormon und Menformon eine Hemmung des Geschwulstwachstums bei den entgegengesetzt geschlechtlichen Tieren gefunden. Wir haben bei unseren Versuchen stets, auch bei den Kontrollen, nur Tiere gleichen Geschlechtes verwandt. Lediglich in dem Versuch mit gleichzeitiger Injektion von Tumor- und Hodenbreni sind Tiere beiderlei Geschlechtes zur Verwendung gekommen. Wir haben hier eine Geschlechtsabhängigkeit in dem Effekt nicht wahrnehmen können. Zufälligerweise war sogar die Übereinstimmung der Wachstumsgeschwindigkeit bei beiden Geschlechtern völlig die gleiche, nämlich in beiden Fällen 195 mg.

Das zunächst nicht erwartete Ergebnis, daß die Transplantation der Hoden eine Herabsetzung der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren, die der Milz eine Beschleunigung zur Folge hatte, könnte vielleicht dadurch erklärt werden, daß die Tiere zunächst noch unter

Einfluß der Nekrohormonüberschwemmung des Organismus durch die Tumortransplantation standen. Durch die Milzimplantation kam es dann zu einem übermäßigen Reiz und damit zu einer Lähmung des r.e. S., wodurch die Abwehrkräfte vermindert wurden. Über die Bedeutung der Hypersplenisation für das Tumorwachstum liegt ein großes Versuchsmaterial vor, besonders von *Brüda* und von *Tinozzi*, aus dem hervorgeht, daß derselbe Eingriff unter anderen Versuchsbedingungen eine stark *hemmende* Wirkung auf das Geschwulstwachstum haben kann. Es ist ja aus den Heilversuchen von *Theilhaber* und implicite auch aus denen von *Fichera* die Bedeutung dieses Vorganges für die Bekämpfung des Geschwulstwachstums beim Menschen bereits dargelegt. Ähnliche Ergebnisse wie wir hatten die Versuche von *Bertolotto*. Dieser Autor fand nach intraperitonealer Einpflanzung homologer Organe, wie Stückchen von Leber, Milz, Hoden, in die Bauchhöhle bei Mäusen eine Verlangsamung des Tumorwachstums. Die Milz hatte dabei den geringsten Effekt, Hoden den stärksten. *Bertolotto* führt dies auf eine Aktivierung des r.e. S. zurück und sieht das ausschlaggebende Moment in der Raschheit der Resorption des implantierten Organstückchens. Der Hoden werde sehr rasch resorbiert und führe zu einer starken Aktivierung des r.e. S. und dadurch zur Tumorchemmung. Diese Resultate entsprechen einer unspezifischen Proteinkörpertherapie. *Bertolotto* deutet also diese Vorgänge in erfreulicher Harmonie mit der von *Caspari* und seinen Mitarbeitern seit langem vertretenen Anschauung.

Wie bereits erwähnt, erwiesen sich in den Versuchsserien, wo wir Ovarunterbindungen vorgenommen hatten, die *nicht* unterbundenen Eierstöcke beim Tode der Tiere als durchweg hochgradig degeneriert und geschrumpft. Die Degeneration ist nun keineswegs allein auf die Wirkung der Carcinomnekrohormone zurückzuführen. Dies ergibt sich aus dem Vergleich der histologischen Befunde in den vorliegenden Versuchsserien mit denjenigen, die wir in der Arbeit: „Über den Einfluß transplantierten Gewebes auf die Ovarialfunktion der weißen Maus“ mitgeteilt haben. Hier fanden wir bei den nichtoperierten tumortragenden Tieren, ebenso wie bei den Kontrollen der hier mitgeteilten Versuche, allerdings auch Degenerationserscheinungen des Ovarialgewebes und hochgradige Atrophie sowie kleine atretische Follikel, während reife vollkommen fehlten. Das Bild unterscheidet sich aber von dem nach Ovarunterbindung dadurch, daß in den Ovarien der Kontrolltiere vielfach große Corpora lutea vorhanden sind, die das übrige Ovarialstroma verdrängen. Dies fehlt bei den Tieren mit halbseitiger Ovarunterbindung.

Der Fortfall eines Ovars durch Exstirpation, also Kombination von Ovarexstirpation und Tumorpflanzung, gab ein ganz anderes Bild. Wir fanden hier Neigung zur Entwicklung zahlreicher großer sprungreifer

Follikel, ebenso vieler atretischer nebst Schädigung des Ovarialstromas mit häufigen Blutungen. Auffallend war auch das Fehlen der Corpora lutea oder ihre mangelhafte Bildung.

Der Unterschied des histologischen Bildes der Ovarien nach *Unterbindung* eines Ovariums und nach *Exstirpation* dieses Organs dürfte dadurch zu erklären sein, daß in ersterem Falle zu den Geschwulstnekrohormonen noch die spezifischen Nekrohormone des unterbundenen Eierstocks hinzukommen. Durch diesen starken Nekrohormonschub wird die Reizgrenze überschritten, und statt der hyperkompensatorischen Reizung des restierenden Ovars tritt eine Degeneration dieses Organs ein, was ja auch im Einklang steht mit Feststellungen *Miyagawas* und seiner Schule.

Ebenso wie bei Ovarien- überwogen auch bei *Hodenunterbindungen* hochgradige Degenerationserscheinungen der nicht unterbundenen Keimdrüsen beim Carcinomtode der Tiere. Eine reizende Wirkung, wie wir sie, bedingt durch Fortfall des Organs der einen Seite, bei halbseitiger Hoden*exstirpation* erwartungsgemäß konstatiert haben, trat bei *Unterbindung* desselben ebensowenig wie bei Ovarunterbindung in Erscheinung. Dagegen beobachtet man eine Reizwirkung, wenigstens in der Mehrzahl der Fälle, bei der histologischen Untersuchung der Hoden. Wurde dagegen weiblichen Tieren Carcinom- und Hodenbrei gleichzeitig eingespritzt, so überwog histologisch die Degeneration. Da das Geschwulstwachstum der so behandelten Tiere in einem, den doppelten mittleren Fehler übersteigenden Ausmaße gegenüber den Kontrollen herabgesetzt war, folgt daraus, daß eine gut funktionierende männliche Keimdrüse an sich nicht als Reiz zum Geschwulstwachstum wirkt. Die Funktionssteigerung der Geschlechtsdrüsen männlicher Tiere, denen bei der Impfung gleichzeitig Hodenbrei injiziert worden war, ist um so eindrucksvoller, als bei den Kontrolltieren derselben Serie eine derartige Reizwirkung nicht festgestellt werden konnte, sondern die Degenerationserscheinungen durch das Geschwulstwachstum überwogen. Auch nach der Transplantation von Hoden nach der Impfung konnte histologisch in der Mehrzahl der Fälle eine Reizung der Hodenfunktion festgestellt werden. Wir sahen dies auch in jenen Fällen, wo das Geschwulstwachstum stark vermindert war. Aus diesem Befunde ergibt sich wieder, daß Geschlechtsfunktion und Tumorstadium nicht in direkter Abhängigkeit stehen.

Nach Transplantation von Hoden 5 Tage vor der Carcinomimpfung überwogen beim Tode der Tiere die Degenerationserscheinungen. Auch hier ergab sich kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Stärke der Geschlechtsfunktion, beurteilt nach dem histologischen Bilde der Hoden und dem Tumorstadium. Es fanden sich bei gut funktionierendem Hoden, wie bei degenerierten, lebhaftes Tumorstadium wie abso-

lute Immunität. Es besteht also ein Unterschied bei der Einwirkung von Tumor- und Hodennekrohormonen auf das Geschwulstwachstum je nach Anordnung der Versuche. Während in unseren Versuchsserien Hypertestikulation *vor* der Tumorimpfung vorwiegend zu Degeneration der Hoden führte, ergab sich, daß Hypersplenisation wie Hypertestikulation *nach* der Tumorimpfung ebenso wie gleichzeitige Applikation von Carcinom- und Hodenbrei die durch die Carcinomimpfung hervorgerufene Degeneration zum mindesten kompensieren kann. Wir müssen uns aber hüten, aus solchen Befunden allgemeine Gesetzmäßigkeiten abzulesen zu wollen. All diese Befunde sind, wie sich auch aus den Versuchen von *Myagawa* ergibt, quantitativer Natur. Es sei nochmals daran erinnert, daß ich z. B. die schädigende Wirkung der Tumorerfallsprodukte auf die Ovarfunktion bereits geringer fand, wenn ich statt Breiimpfung Stückchenimpfung anwandte, bei der das gesamte Implantationsmaterial geringer ist und der Abbau des Gewebes und dann der Übertritt der Nekrohormone in den Kreislauf weit allmählicher vor sich geht.

Wir sind uns natürlich durchaus bewußt, daß Differenzen in den Ergebnissen solcher Versuche auch darin ihren natürlichen Grund haben können, daß die Inkrete der Geschlechtsdrüsen aus verschiedenen Komponenten zusammengesetzt sind, die in ihrer Wirkung sich gegenseitig beeinflussen können. Wir sind darüber bisher genauer orientiert bei den weiblichen Keimdrüsen. Wir wissen ferner auch, daß diese Inkrete, wie ja auch nicht anders zu erwarten, auf die harmonische Abstimmung mit den Produkten anderer innersekretorischer Drüsen von Bedeutung sind. Es braucht ja nur auf die Beziehungen zu den Inkreten der Hypophyse verwiesen zu werden. Es liegt auch bereits eine ganz erhebliche Literatur vor über die Wirksamkeit der einzelnen innersekretorischen Produkte, speziell des weiblichen Geschlechtsapparates auf das Wachstum von Geschwülsten. Ohne auf diese Literatur vorläufig näher eingehen zu wollen, darf doch so viel gesagt werden, daß auch hier keine befriedigende Übereinstimmung der verschiedenen Autoren besteht. Auch wir verkennen die Wichtigkeit solcher Untersuchungen nicht, möchten aber meinen, daß, bevor man in das einzelne geht, die Beziehungen sichergestellt sein müssen, die zwischen dem Geschwulstwachstum und dem Gesamtorgan bestehen. Hierzu weitere Beiträge zu liefern, war der Zweck meiner bisherigen Untersuchungen.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung der doppelseitigen *Kastration vor der Tumortransplantation* bei *männlichen Mäusen* war in unseren Versuchen *viel energischer als bei Weibchen*. Sie beeinflusste nicht nur, wie beim Weibchen, die Angangsfähigkeit der Tumoren und Lebensdauer der Tumortiere,

sondern hemmte auch die *Wachstumsgeschwindigkeit* der Geschwülste außerhalb der Fehlergrenzen. Auch *einseitige* Kastration bewirkte beim Männchen Herabsetzung des Geschwulstwachstums und Lebensverlängerung, während beim Weibchen nur eine gewisse Verlängerung der Lebensdauer festzustellen war.

2. Die Wirkung der Kastration ist abhängig vom *Intervall* zwischen Operation und Tumortransplantation. Ein Intervall von etwa einem Monat ergab uns die besten Resultate.

3. Vielleicht spielt bei der intensiveren Wirkung der Kastration beim Männchen die fast stets beobachtete Atrophie der Nebenorgane, Prostata und Samenblase, eine gewisse Rolle.

4. Halbseitige wie doppelseitige Kastration bei weiblichen Mäusen *nach* der Geschwulsttransplantation war bei den gewählten Intervallen in jeder Beziehung wirkungslos, ebenso wie doppelseitige Kastration bei männlichen Tieren *nach* der Geschwulstimpfung.

5. *Doppelseitige Ovarunterbindungen* erwiesen sich als bedeutungslos, einseitige Unterbindung führte lediglich zu einer Verlängerung der Lebensdauer der Geschwulsttiere.

6. *Doppelseitige Hodenunterbindung* ergab eine *den 3fachen mittleren Fehler übersteigende Erhöhung der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren* gegenüber den Kontrollen. Dabei wurde die Lebensdauer nicht herabgesetzt.

7. *Gleichzeitige Einspritzung von Hoden- und Tumorbrei, ebenso wie Transplantation von 2 Hoden 5 Tage vor oder 8 Tage nach der Carcinomimpfung* führte zu einer *Hemmung des Geschwulstwachstums*.

8. *Transplantation einer Milz 5 Tage vor der Tumortransplantation bewirkte eine Wachstumshemmung der Tumoren, 8 Tage nach der Tumorumpfung dagegen eine deutliche Beschleunigung des Tumorwachstums. Implantation einer halben Milz 9 Tage vor der Tumortransplantation war ohne Effekt.*

9. *Hypertestikulation kann also zu einer Hemmung, Hypersplenisation zu einer Beschleunigung des Tumorwachstums führen. Wie stets von Caspari und Mitarbeitern betont worden ist, handelt es sich um quantitative, dosisabhängige Vorgänge.*

10. *Nach Unterbindung von Ovarien und Hoden zeigten die nicht-unterbundenen Geschlechtsdrüsen beim Carcinomtod der Tiere histologisch, hochgradige Degeneration bzw. fehlende Spermatogenese.*

11. Dasselbe Bild ergaben die zurückgebliebenen Hoden *nach* halbseitiger *Kastration*, wenn diese *vor* der Carcinomimpfung erfolgte.

12. In den Ovarien von *nach* der Carcinomimpfung einseitig kastrierten Tieren findet man histologisch dieselben Bilder wie bei einseitiger Ovarexstirpation *vor* der Impfung, nämlich Neigung zur Entwicklung

zahlreicher großer und vieler atretischer Follikel nebst Schädigung des Ovarialstromas und öfters Blutungen, geringe Corpus luteum-Bildung.

13. Nach gleichzeitiger Injektion von Hoden- und Carcinombrei ergab die histologische Untersuchung der Hoden nach dem Tode der Tiere in der Mehrzahl der Fälle gesteigerte oder normale Funktion. Bei weiblichen Tieren, die mit Hodenbrei geimpft worden waren, überwog die Degeneration ebenso wie bei den Kontrolltieren zu diesen Versuchen. Nach Transplantation von Hoden *nach* der Carcinomimpfung überwog histologisch die *Reizung* der Hoden. In manchen Fällen aber erwies sich der eine Hoden als degeneriert, während sich der andere in einem Reizzustand befand. Funktionelle Reizung der Geschlechtsdrüsen fand sich auch in Verbindung mit starker Retardierung des Geschwulstwachstums. Bei Transplantation von Hoden *vor* der Carcinomimpfung überwog beim Tode der Tiere die Degenerationserscheinungen.

Literaturverzeichnis.

- Bertolotto*, Sperimentale **85**, 331 (1931). — *Brüda*, Z. Krebsforsch. **27**, 380 (1928) — Klin. Wschr. **10**, 1543 (1931). — *Brüda* u. *Pfeiffer*, Zbl. exper. Med. **68**, 116 (1929). — *Caspari*, Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **1933**, H. 27 — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen **1** (1929). — *Duran-Reynals*, Science (N. Y.) **72**, Nr 1876, 608 (1930). — *Fichera*, Arch. exper. Med. **1909**, Nr 5 — Z. Krebsforsch. **14**, 46 (1914) — Tumori **9**, 377 (1923). — *Himeno*, Trans. jap. path. Soc. **20**, 666 (1930). — *Miyagawa* u. Mitarbeiter, Zahlreiche Publikationen in der Scient. reports from the govern. inst. for infect. dis. Tokio u. Jap. J. of exper. Med. — *Murphy* u. *Sturm*, J. of exper. Med. **42**, 155 (1925). — *Pribram*, Z. Krebsforsch. **34**, H. 6 (1931); **35**, H. 4 (1932). — *Tancer*, J. of exper. Med. **55**, 455 (1932). — *Theilhaber*, Münch. med. Wschr. **1926**, 2071 u. **1927**, 1087 — Arch. Gynäk. **118**, 237 (1923). — *Tinozzi*, Z. Krebsforsch. **34**, 148 (1931); **36**, 372 (1932).
-