Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 8 (1952)

Heft: 1-2: Symposium über die Beeinflussung des reaktiven Geschehens durch Hypophyse und Nebennierenrinde = Symposium on the influence of the hypophysis and the adrenal cortex on biological reactions = Symposium sur l'influence de l'hypophyse et de la corticsurrénale dans les réactions biologiques

Artikel: Vergleich der cellulären Wirkung verschiedener Steroide in vitro und in vivo

Autor: Meier, R. / Gross, F. / Desaulles, P.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307053

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 01.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D. K. 615.361:611.018.2:616.091

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft Basel

Vergleich der cellulären Wirkung verschiedener Steroide in vitro und in vivo

Von **R. Meier, F. Gross, P. Desaulles** und **B. Schär**

Nach verschiedenen Angaben der Literatur und auf Grund eigener Arbeiten kann kein Zweifel darüber bestehen, daß verschiedene Steroide direkte Wirkungen auf Bestandteile des mesenchymalen Systems ausüben. Bereits die früheren Arbeiten von *v. Möllendorff* u. a. (18, 19, 12) haben gezeigt, daß bestimmte Steroide das Wachstum und die Vermehrung von Fibroblasten in der Gewebekultur beeinflussen und zum Teil auch charakteristische Störungen der Mitose hervorrufen. Eine wachstumshemmende Wirkung ist dabei sowohl für einzelne Nebennierenrindenhormone als auch für androgene und östrogene Wirkstoffe nachweisbar. Daß auch am Tier gewisse Steroide eine Wirkung auf das Bindegewebswachstum besitzen, wurde ebenfalls schon vor längerer Zeit beobachtet. Es sei nur an die eigenartigen Befunde von *Lipschütz* (13) erinnert, der die Bildung von mesenchymalen Tumoren nach Anwendung hoher Östrogendosen am Meerschweinchen beschrieben hat. Weiterhin besitzen die Östrogene Wirkungen auf das Knochenwachstum, wie aus Untersuchungen von *Simpson*, *Silberberg*, *Follis* u. a. (29, 30, 28, 4, 9) bekannt geworden ist. Ferner sind hier die Beobachtungen von *Selye* (24, 25) zu erwähnen, der gezeigt hat, daß Desoxycorticosteron in hohen Dosen unter bestimmten Bedingungen eine Förderung bindegewebiger Reaktionen hervorrufen kann.

Einen neuen Aspekt haben diese Befunde dadurch erhalten, daß durch Untersuchungen von *Ragan*, *Blunt*, *Baker*, *Taubenhaus* (21, 22, 2, 1, 31, 6) sowie in eigenen Versuchen (16, 17) festgestellt werden konnte, daß dem Cortison typische Hemmwirkungen auf das Bindegewebe und wahrscheinlich auch auf andere celluläre Elemente zukommen. Von *Meier* u. Mitarb. (17) wurde besonders darauf hingewiesen, daß für die Beeinflussung des Bindegewebswachstums bei lokaler und allgemeiner Anwendung ähnliche Konzentrationen notwendig sind, so daß zwischen

den bei verschiedener Applikation auftretenden Effekten eine weitgehende Analogie des Wirkungsmechanismus zu bestehen scheint. Diese Schlußfolgerung ist nur auf Grund quantitativer Vergleiche möglich, da nur dann eine Analogie zwischen den Wirkungen bei allgemeiner und lokaler Applikation angenommen werden kann, wenn dafür etwa gleiche Konzentrationen am Wirkungsort erforderlich sind. Solange in früheren, mehr qualitativen Untersuchungen dieser Nachweis nicht geführt war, ließ sich nicht ausschließen, daß bei lokaler oder allgemeiner Anwendung die Wirkung durch verschiedene, teils indirekte Mechanismen ausgelöst wird. Es wird auf diese Frage im einzelnen noch zurückzukommen sein.

Auf Grund der vorliegenden Literatur ergeben sich einige bemerkenswerte Unterschiede zwischen den Befunden in vitro und in vivo. Zwar wirken einige der untersuchten Steroide, z. B. das Cortison, in der Gewebekultur und am Tier «gleichsinnig» auf gewisse Bindegewebselemente, jedoch finden sich in den bisher vorliegenden Resultaten mit anderen Stoffen merkwürdige Widersprüche. So besitzt z. B. das Desoxycorticosteron nach Untersuchungen von *v. Möllendorff*, *Cornman* u. a. (19, 3) in vitro eine deutlich hemmende Wirkung auf das Zellwachstum, die stärker sein kann als diejenige von Cortison, während es am Ganztier nach den Befunden von *Selye* und anderen Autoren (24, 25, 20, 31) die Bindegewebsbildung anregt. Auch bei einzelnen Steroiden der Sexualhormonreihe liegen die Verhältnisse ähnlich, wenn auch die Abweichungen vielleicht nicht so eindeutig sind wie beim Desoxycorticosteron (31, 32).

Diese Beobachtungen veranlaßten die Untersuchung verschiedenartiger Steroide der Nebennierenrinde und der Keimdrüsen hinsichtlich ihrer Wirkungen auf verschiedene Gewebe in vitro und am Tier, und zwar sowohl bei lokaler als auch bei allgemeiner Applikation. Das Ziel der Versuche war es, festzustellen, welche Wirkungen dieser Steroide als direkte und welche als indirekte bzw. nur unter bestimmten experimentellen Bedingungen auftretende anzusehen sind.

Diese Überlegung erscheint besonders deswegen von Bedeutung, weil es bei den verschiedenen Reaktionen des Bindegewebes wie etwa der Abszeßbildung oder der Bildung eines Granuloms durchaus möglich ist, daß bestimmte Komponenten für die Reaktion von besonderer Wichtigkeit sind, ohne daß ihre ausschlaggebende Bedeutung aus dem komplexen Material hervorgeht, welches im allgemeinen für die histologische Untersuchung zur Verfügung steht.

Aus diesem Grund wurden verschiedene Zellen des mesenchymalen Systems in vitro und in vivo untersucht, und zwar Leukocyten, Chondro-

blasten und Gefäßfibroblasten. Für die in-vitro-Versuche wurden im allgemeinen Zellen vom Huhn, vereinzelt auch solche von anderen Tierarten herangezogen. Gegenüber einer verallgemeinernden Beurteilung der an Zellen verschiedener Tierarten erhobenen Befunde können zunächst gewisse prinzipielle Bedenken geäußert werden, doch lassen die Befunde früherer Arbeiten erkennen, daß zumindest in den meisten Fällen eine Übereinstimmung zwischen den an Vogel- und Säugetierzellen erhobenen Resultaten vorhanden ist. Gewisse allgemeine Schlußfolgerungen können somit wohl gezogen werden.

Von den verschiedenen bekannten Steroidhormonen wurden in erster Linie Cortison, Desoxycorticosteron, Substanz S, Testosteron, Östradiol und Progesteron vergleichend in den einzelnen Testen untersucht.

In vitro wurde die Wirkung der verschiedenen Steroide auf folgende Zellfunktionen untersucht:

1. auf die Auswanderung der Leukocyten;

2. auf qualitative und quantitative Änderungen der Zellteilung, geprüft an Veränderungen und Zahl der Mitosen im 8-Stunden-Test;

3. auf Fibroblasten- und Chondroblastenwachstum im 7 Tage dauernden Wachstumstest, wobei Größe und histologisches Verhalten der Kulturen bestimmt wurden.

Bei den in-vitro-Versuchen wurde im allgemeinen an Deckglaskulturen oder an Kulturen in Carrel-Flaschen gearbeitet. Die Steroide wurden als Mikrokristallsuspensionen dem Nährmedium zugesetzt. Nur diejenigen Konzentrationen, die unterhalb der Löslichkeitsgrenze liegen, d. h. etwa um 10^{-4}, sind somit als echte Konzentrationsangaben zu werten, während es sich bei den höheren um gesättigte Lösungen handelt, deren Endkonzentration zwischen 10^{-4} und 10^{-3} liegen dürfte.

Die Tierversuche wurden an Ratten durchgeführt, wobei sowohl die Allgemein- als auch die Lokalwirkung der Steroide in verschiedenen Testen geprüft wurde. Folgende Versuchsanordnungen schienen geeignet, Auskunft über die Wirkung einzelner Steroide auf verschiedene Gewebsfaktoren zu geben:

1. das durch Fremdkörperimplantation hervorgerufene Granulom, entsprechend der bereits früher von uns beschriebenen Methode (16),

2. der durch Crotonöl ausgelöste Abszeß,

3. die Beeinflussung des Knorpel- und Knochenwachstums.

Die Fremdkörpergranulome wurden jeweils sieben Tage nach Implantation exstirpiert, Feucht- und Trockengewicht bestimmt und vereinzelt auch histologisch untersucht. Für die Beurteilung der Abszeßveränderungen hat sich die histologische Untersuchung vier Tage nach

Injektion des auslösenden Agens bewährt. Zur Erzielung einer deutlichen Wirkung auf das Knorpel- bzw. Knochenwachstum ist üblicherweise eine längere Zeitspanne, etwa 3 Wochen, erforderlich, doch wurden im Hinblick auf einheitliche Verhältnisse bezüglich der Wirkungsdauer auch einige Versuche nur während sieben Tagen durchgeführt. Bei allgemeiner Behandlung wurden die Präparate subcutan in Form öliger Lösungen oder als Mikrokristallsuspensionen täglich während sechs (Granulom, Knochenwachstum) bzw. vier Tagen (Abszeß) injiziert.

Die Lokalbehandlung erfolgte in der Weise, daß die implantierten Wattepreßlinge vor der Implantation mit einer bestimmten Menge der zu untersuchenden Substanz imprägniert wurden, während bei den Abszeßversuchen die Injektion der Steroide gleichzeitig mit dem Crotonöl erfolgte. Für die Beeinflussung des Knorpelwachstums wurden die betreffenden Steroide direkt in ein Kniegelenk injiziert, und zwar dreimal in Abständen von zwei Tagen. Trotz der lokalen Applikation am Ort der Implantation oder der Entzündung ist es nicht möglich, die Wirkung der Substanzen auf den Injektionsort bzw. dessen nähere Umgebung zu beschränken, da stets gewisse Mengen resorbiert und allgemein wirksam werden. Trotzdem weichen die Verhältnisse von denjenigen bei allgemeiner Applikation ab, da die Konzentration am Injektionsort, d. h. bei lokaler Anwendung an der Stelle der experimentell erzeugten Veränderungen am größten ist und wesentlich über der durch Resorption erreichten liegt.

Außer an normalen Tieren wurden die gleichen Versuche auch an nebennierenlosen Tieren durchgeführt, um zu zeigen, inwieweit die Nebennierenrindenhormone oder andere von der Nebenniere abhängige Faktoren für gewisse Wirkungen verantwortlich sind. Die Exstirpation der Nebennieren erfolgte durchschnittlich sechs Tage vor dem eigentlichen Versuchsbeginn. Die Tiere wurden mit der Erhaltungsdosis von Desoxycorticosteron (0,1 mg/100 g Tier) behandelt. (Versuche über den Einfluß verschiedener Hormonbehandlung am nebennierenlosen Tier sind zur Zeit noch im Gange. Es wird, falls sich dabei abweichende Ergebnisse finden sollten, später darüber berichtet werden.)

Einige ergänzende Untersuchungen wurden auch an hypophysenlosen Tieren vorgenommen. Obwohl diese Versuche nicht in gleich systematischer Weise wie am nebennierenlosen Tier erfolgten, erlauben sie doch gewissen Schlußfolgerungen hinsichtlich der Bedeutung der Hypophyse für die untersuchten Funktionen. Um den Erfolg der Hypophysektomie sicher beurteilen zu können, wurde nach Entfernung der Drüse mindestens 14 Tage gewartet und als Kriterien für die vollständige Entfernung die Atrophie der Testes und Gewichtsstillstand herangezogen.

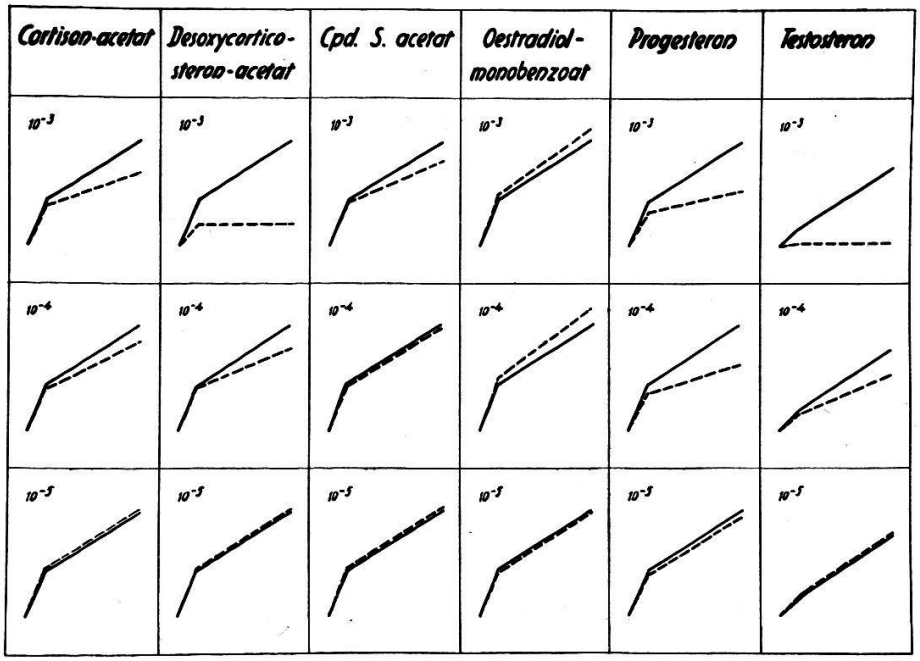

Abb. 1. Wirkung verschiedener Steroide auf die Auswanderung von Leukocyten in vitro. In den einzelnen Kurven jeweils Ordinate: Planimeterwert der Kultur, Abszisse: Zeit in Stunden (Gesamtdauer 24 Stunden). Ausgezogene Kurven: Kontrollen; gestrichelte Kurven: Verhalten nach Zusatz der verschiedenen Steroide. Von oben nach unten: jeweils fallende Konzentrationen (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}).

Die Versuche wurden jeweils an Gruppen von 6–8 Tieren vorgenommen; die mitgeteilten Resultate geben die Durchschnittswerte einer Gruppe an.

Untersuchungen in vitro: Untersuchungen über die Wirkung von Steroiden auf die Auswanderung von Leukocyten in vitro sind unseres Wissens bisher in der Literatur noch nicht beschrieben. Unsere Versuche zeigen eindeutig, daß verschiedene Steroide die Auswanderung der Leukocyten im allgemeinen in Konzentrationen über 10^{-4} hemmen (Abb. 1). Ihrer Wirkungsintensität nach ordnen sich die untersuchten Substanzen folgendermaßen: Desoxycorticosteron, Testosteron, Progesteron, Cortison. Substanz S besitzt nur eine ganz geringe Wirkung, Östradiol praktisch keinen Effekt. Beim letzteren ist vielleicht sogar eher eine geringgradige fördernde Wirkung vorhanden.

Diese Befunde stimmen weitgehend mit den Ergebnissen unserer Untersuchungen an Fibroblastenkulturen überein, die, soweit es sich um die Feststellung der Wirkung auf die Mitose und das qualitative Verhalten der Zellen handelt, den Befunden von *v. Möllendorff* (18, 19) sowie denen von *Cornman* und *Heilmann* (3, 10) entsprechen. Bei der Beeinflussung des Fibroblastenwachstums sind grundsätzlich zwei verschiedene Wirkungstypen zu beobachten. Eine Gruppe von Steroiden, zu denen das Desoxycorticosteron und das Testosteron gehören, führt

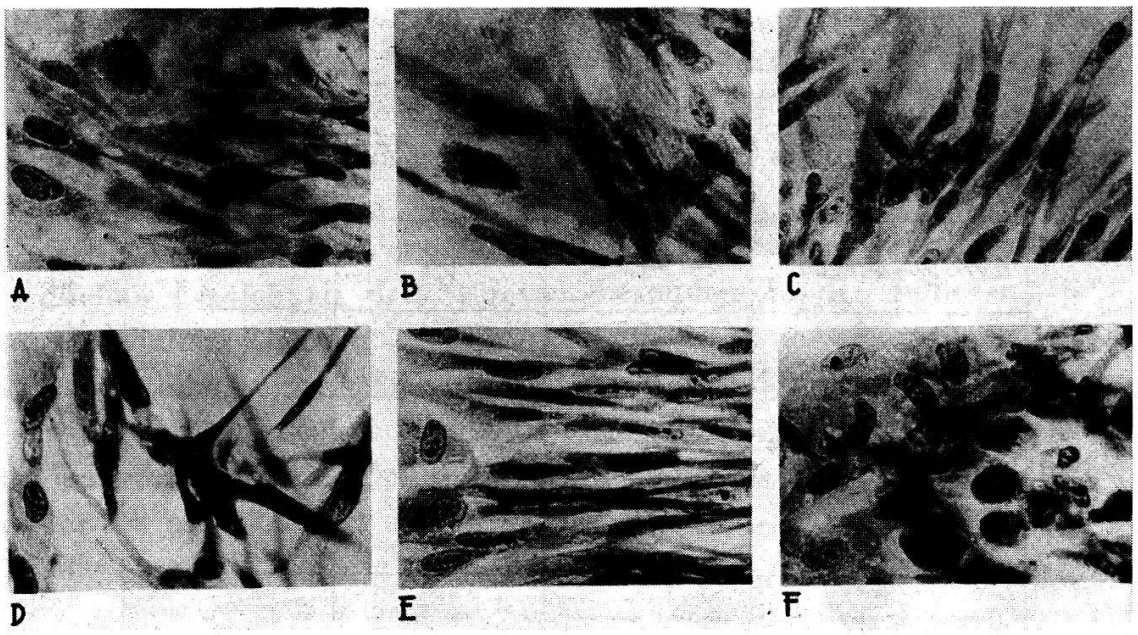

Abb. 2. Einfluß der untersuchten Steroide auf Gefäßfibroblasten vom Huhn (8 Std.). Konzentration aller Substanzen ca. 10^{-3}.

A: Kontrolle: B: Cortison C: Desoxycorticosteron
D: Testosteron E: Progesteron F: Oestradiol

zu Wachstumshemmung, die im wesentlichen auf eine Hemmung der Mitosen zurückzuführen sein dürfte. Diese Zellkulturen sind durch eine ausgesprochene Verminderung der Mitosezahl charakterisiert. Andere Substanzen, vor allen Dingen das Östradiol, bewirken starke Mitosestörungen (Chromosomenabsprengungen), besonders in der Metaphase, ohne daß die Zahl der Mitosen wesentlich vermindert ist. Die stärkste Mitosehemmung ist beim Testosteron vorhanden, dann folgen Desoxycorticosteron und Progesteron, während Cortison und besonders Substanz S nur eine geringe Wirkung haben (Abb. 2). Hinsichtlich der Wirkungsintensität stimmen unsere Ergebnisse besonders für Desoxycorticosteron und Testosteron mit den in der Literatur beschriebenen Befunden überein und auch die schon von *v. Möllendorff* (18) angegebenen Mitosestörungen unter Östradiol konnten bestätigt werden (Abb. 2 F).

Bei längerer Einwirkung der Steroide im sieben Tage dauernden Versuch ergeben sich etwas andere Befunde als auf Grund der Beeinflussung der Mitose im 8-Stunden-Versuch anzunehmen wäre (Tab. 1). Die Hemmung des Wachstums, gemessen an der Größe der Kultur ist in dieser Versuchsanordnung beim Progesteron und beim Desoxycorticosteron am stärksten, während Cortison auch in diesem Test einen deutlich schwächeren Effekt zeigt. Merkwürdigerweise wird trotz der erheblichen Störungen des Mitosetypus das Wachstum durch Östradiol kaum ge-

Tabelle 1

Wirkung der untersuchten Steroide im Wachstumstest.
Fibroblasten-Wachstums-Versuch (7 Tage-Test)

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Cortison-acetat	— — —	∅	
Desoxycorticosteron-acetat	— — — —	— —	∅
Compound S-acetat	— — —	∅	
Oestradiol-monobenzoat	∅	∅	
Progesteron	— — — —	— —	∅
Testosteron	—		

– bis – – – – zunehmende Grade der Hemmung ∅ keine Wirkung

Tabelle 2

Wirkung der untersuchten Steroide auf Kulturen verschiedener Zellen.
Alle Effekte beziehen sich auf Konzentration von 10^{-3}.

	Fibroblasten Mitose 8 Std. Test	Leucocyten-Auswanderung 18 Std. Test	Chondroblasten 4-Tage-Test
Cortison-acetat	—	—	—
Desoxycorticosteron-acetat	— —	— — —	— —
Cpd. S-acetat	∅	∅	∅
Oestradiol-monobenzoat	∅ Mitose-Störungen	∅	∅
Progesteron	— —	—	— —
Testosteron (propionat)*	— — —	— — — —	∅*

hemmt. Es scheint somit, daß trotz der morphologisch faßbaren Veränderungen der Chromosomen ein Weiterwachsen der betreffenden Zellen mit annähernd ungestörter Wachstumsgeschwindigkeit erfolgen kann.

Im «Prinzip wirken somit die verschiedenen Steroide analog auf die Leukocytenwanderung und das Fibroblastenwachstum, wobei besonders auffallend ist, daß das Cortison in beiden Versuchsanordnungen eine geringere Wirkung als andere Steroide, vor allem auch Desoxycorticosteron zeigt (Tab. 2).

Man kann gegen diese Versuche allerdings einwenden, daß der unterschiedlichen Löslichkeit der Steroide, besonders in den höheren, für einen deutlichen Effekt notwendigen Konzentrationen eine wesentliche Bedeutung für diese verschiedenartige Wirkung zukommt. Dies ist zwar nicht gänzlich auszuschließen, kann aber die abweichenden Resultate nicht erklären, besonders wenn die Versuche bei lokaler und allgemeiner Applikation am Tier mit den in vitro erhobenen Befunden verglichen werden.

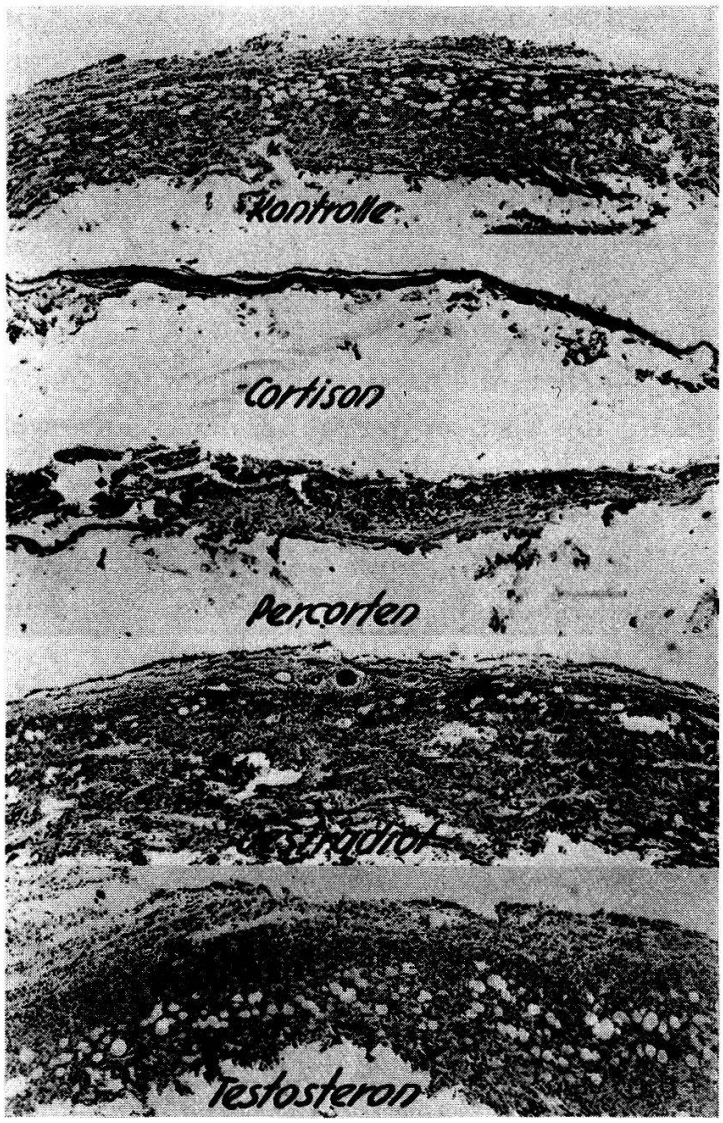

Abb. 3. Wirkung verschiedener Steroide auf das Fremdkörpergranulom bei lokaler Applikation. Die Hemmwirkung von Cortison (1 mg) und Desoxycorticosteron (1 mg) ist besonders deutlich. Die Dosen für Oestradiol-monobenzoat und Testosteronpropionat betragen 0,1 bzw. 2,5 mg.

Ein weiterer Einwand gegen die Beweiskraft der in-vitro-Versuche könnte noch darin gesucht werden, daß im Tier andere fibrocytäre Elemente von der Wirkung betroffen werden. Es schien deshalb richtig, auch Chondroblasten oder Osteoblasten mit für diese Untersuchungen heranzuziehen. Dabei lassen sich tatsächlich gewisse Verschiebungen der Wirkung nachweisen. So beeinflußt Testosteron das Wachstum der Chondroblasten weniger, während Progesteron, Desoxycorticosteron und Cortison eine gleiche Wirksamkeit wie gegenüber Fibroblasten zeigen. Östradiol und Substanz S sind auch gegenüber Chondroblasten praktisch unwirksam (Tab. 2).

Es kann somit nicht vollständig ausgeschlossen werden, daß für Cortison, wenn es auch in vitro in den geschilderten Versuchen im allgemeinen eine schwächere Wirksamkeit als andere Steroide besitzt, doch gewisse Bedingungen gefunden werden könnten, unter denen sich dieses Verhältnis ändert. Da jedoch in den meisten Versuchen ein umgekehrtes Wirksamkeitsverhältnis zu beobachten ist, kann dieses zunächst als Basis einer weiteren Beurteilung genommen werden. Auf Grund der bisher erhobenen Befunde bleibt die bereits in der Literatur angedeutete Diskrepanz bestehen, daß Desoxycorticosteron bzw. dessen Acetat und auch andere Steroide in vitro eine stärker hemmende Wirkung auf das Wachstum bestimmter bindegewebiger Elemente besitzen als Cortison. Es ist somit nicht möglich, die In-vitro-Versuche für eine Erklärung der besonderen Wirkung des Cortison gegenüber der Bindegewebsneubildung am Tier ohne weiteres heranzuziehen.

Tierversuche: Von den Ergebnissen der Tierversuche sollen zunächst diejenigen bei lokaler Applikation besprochen werden, weil die hierbei vorliegenden Versuchsbedingungen eine gewisse Ähnlichkeit mit den Verhältnissen in vitro besitzen. Erfolgt die lokale Anwendung der Steroide jeweils unter gleichen Versuchsbedingungen, so lassen sich die verschiedenen Substanzen hinsichtlich ihrer Wirksamkeit in den einzelnen Testen in bestimmter Reihenfolge anordnen. Im Gegensatz zu den in-vitro-Versuchen ist die hemmende Wirkung des Cortison deutlich nachweisbar und überraschenderweise zeigt, wie bereits früher von uns beschrieben, auch das Desoxycorticosteron eine ausgesprochen hemmende Wirkung auf Wachstum und Entwicklung der Fibroblasten, und zwar sowohl auf den durch Crotonöl ausgelösten Abszeß als auch besonders auf das Fremdkörpergranulom. Hingegen, und das stimmt wiederum nicht vollständig mit den in-vitro-Versuchen überein, hemmen Östradiol und Testosteron die Bildung von Granulationsgewebe bei lokaler Applikation nicht, sondern scheinen sie sogar leicht zu verstärken (Abb. 3). Am nebennierenlosen Tier findet sich für Cortison und

Desoxycorticosteron die gleiche Hemmwirkung wie beim Normaltier, während der leicht stimulierende Effekt von Testosteron und Östradiol nicht mehr in gleicher Weise nachweisbar ist (Tab. 3). Diese unterschiedliche Wirkung der Sexualhormone kann nicht dadurch erklärt werden, daß die Granulombildung am nebennierenlosen Tier ganz allgemein verändert ist, sondern ist wohl eher darauf zurückzuführen, daß beim nebennierenlosen Tier ein oder mehrere zusätzliche Faktoren, die möglicherweise für die Wirkung der Sexualhormone von Bedeutung wären, nicht mehr vorhanden sind. Dabei ist vorläufig nicht zu entscheiden, ob es sich hierbei um Faktoren handelt, die dem Nebennieren- oder dem hypophysären System angehören.

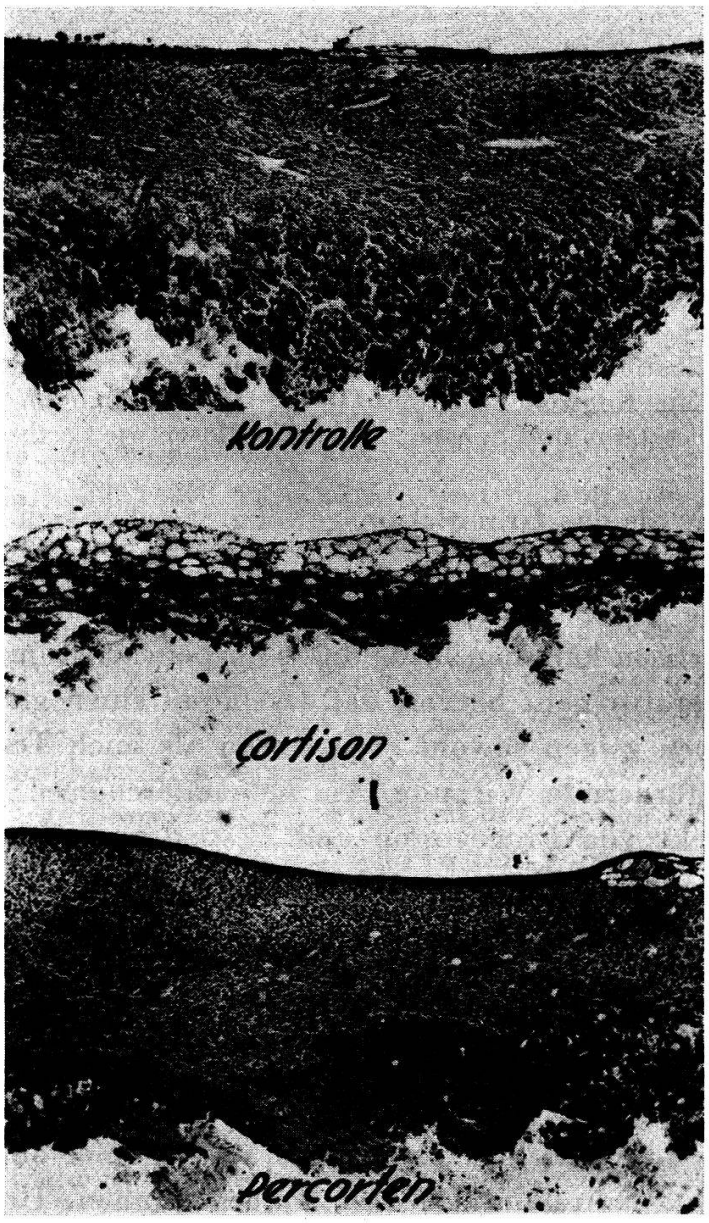

Abb. 4. Gegensinnige Wirkung von Cortison (10 mg/kg) und Desoxycorticosteron (10 mg/kg) auf das Fremdkörpergranulom bei allgemeiner Applikation.

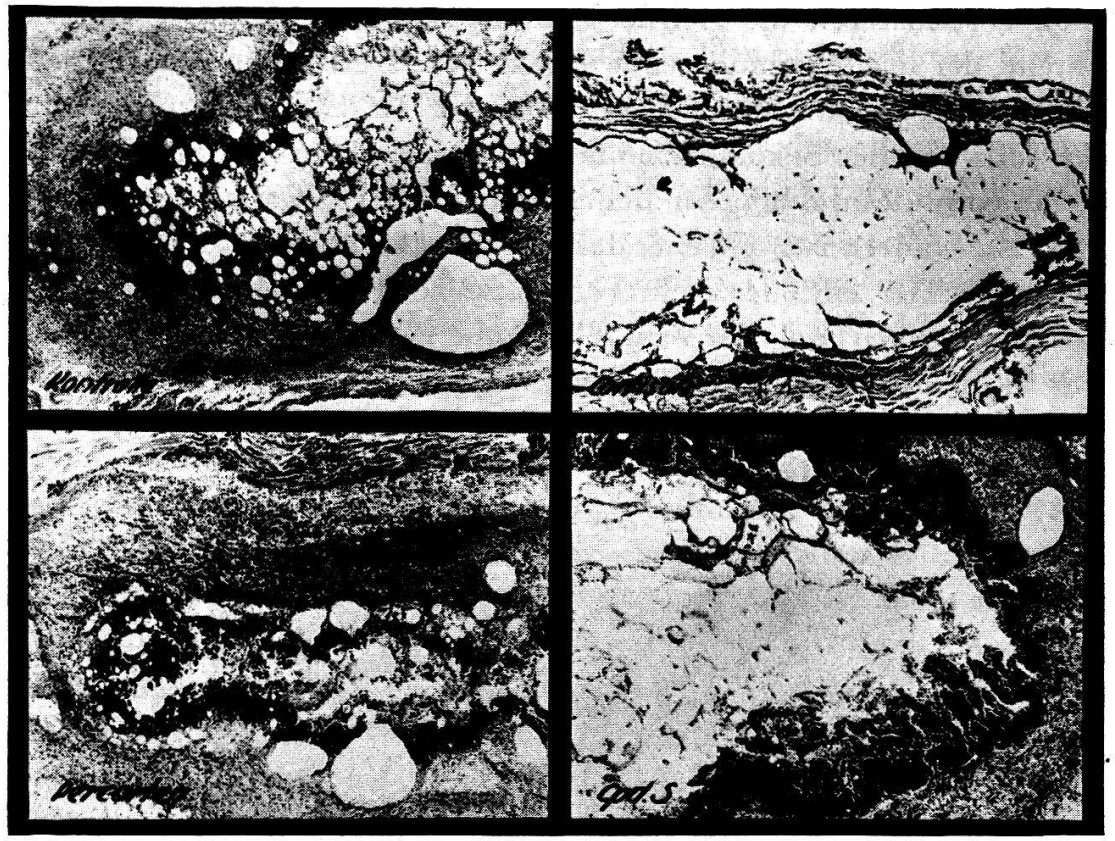

Abb. 5. Wirkung verschiedener Nebennierenrindensteroide auf Crotonöl-Abszesse bei allgemeiner Applikation. Untersuchung 96 Stunden nach Injektion von Crotonöl. Oben: unbehandelte Kontrolle; Cortison (10 mg/kg 2mal täglich). Unten: Desoxycorticosteron und Substanz S (gleiche Dosen wie Cortison).

Etwas anders als das Granulationsgewebe, welches sich nach Abszeßauslösung oder Fremdkörperimplantation entwickelt, verhält sich das Knorpelgewebe unter analogen Versuchsbedingungen. Desoxycorticosteron und Cortison hemmen beide das Knorpelwachstum, und aus Angaben der Literatur geht hervor, daß Östradiol einen gleichen Einfluß ausübt. Dagegen zeigen sowohl Progesteron als auch Testosteron eine geringggradige fördernde Wirkung. Am nebennierenlosen Tier ist dieser fördernde Effekt von Progesteron und Testosteron nicht mehr nachweisbar, während die Hemmung durch Cortison, Desoxycorticosteron und Östradiol noch deutlich ist (Tab. 3). Auch bei dieser Versuchsanordnung ergeben sich somit wiederum Unterschiede beim normalen und nebennierenlosen Tier, die zeigen, daß für gewisse Wirkungen noch zusätzliche indirekte Faktoren eine Rolle spielen dürften. Dabei ist allerdings zu bemerken, daß sich diese je nach der Art des Gewebes einmal in einer synergistischen, das andere Mal in einer antagonistischen Beeinflussung des direkten Effektes äußern können. Um abzuklären, welche Bedingungen für die Auslösung derartiger Wirkungen durch verschiedene Steroide verantwortlich sind, ist es notwendig, noch eine

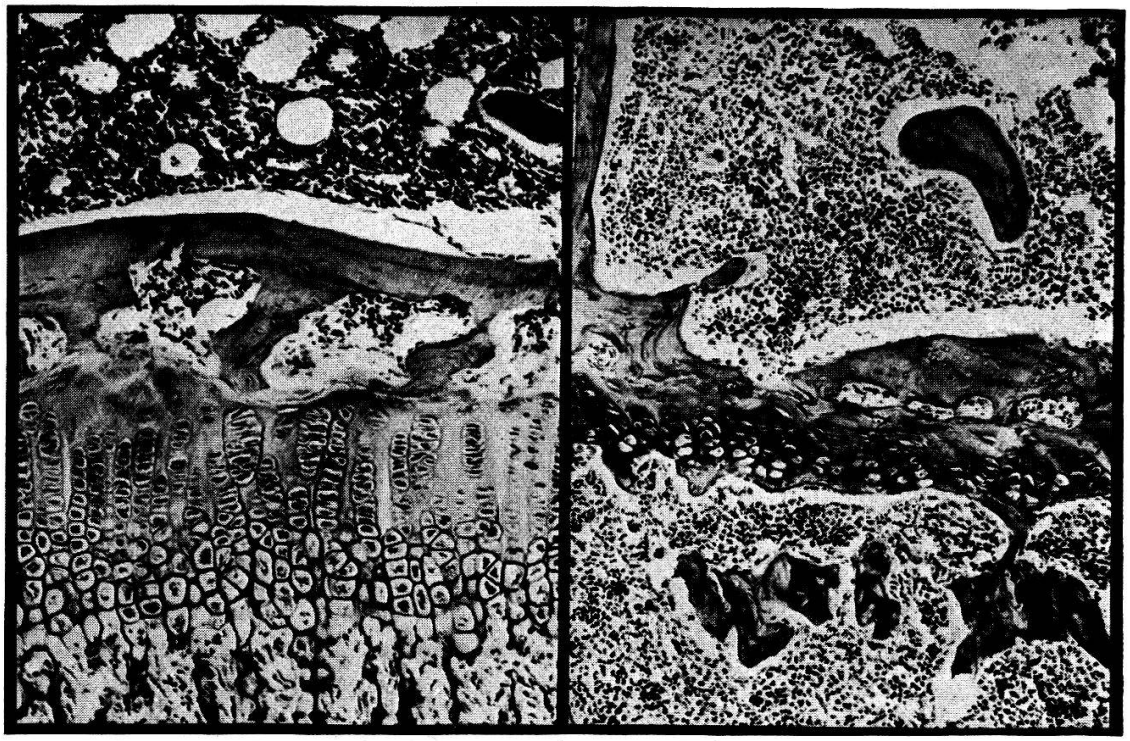

Abb. 6. Hemmung des Knorpelwachstums (Tibiakopf) durch Cortison bei allgemeiner Applikation. Links: unbehandelte Kontrolle. Rechts: nach dreiwöchiger Behandlung, 25 mg/kg Cortison täglich.

Reihe zusätzlicher Versuchsanordnungen mit lokaler Applikation heranzuziehen.

Bei allgemeiner Anwendung zeigt Cortison den gleichen Wirkungscharakter wie bei lokaler Applikation und hemmt sowohl die Abszeß- (Abb. 5) als auch die Granulombildung (Abb. 4) und das Knorpelwachstum (Abb. 6, Tab. 3). Diese Befunde stimmen mit den zahlreichen in der Literatur mitgeteilten Beobachtungen, u. a. von *Ragan*, *Baker*, *Taubenhaus*, *Follis* usw. (22, 1, 31, 8, 7, 23) überein. Das Desoxycorticosteron fördert am normalen und am nebennierenlosen Tier das Bindegewebswachstum, und zwar sowohl in der Abszeßwand (Abb. 5) als auch im Granulom (Abb. 4). Zwischen der lokalen und der allgemeinen Wirkung von Desoxycorticosteron besteht somit ein grundsätzlicher Unterschied, worauf bereits in früheren Arbeiten von uns hingewiesen wurde (16, 17). Die diesem unterschiedlichen Verhalten zugrunde liegenden Mechanismen können zwar noch nicht endgültig angegeben werden, jedoch sind vor allem zwei Möglichkeiten in Betracht zu ziehen, nämlich daß erstens ein hypophysärer Faktor im Ganztier eine zusätzliche Rolle spielt (26) oder daß zweitens erst aus Desoxycorticosteron entstehende Umwandlungsprodukte die eigentlichen Stoffe sind, welche das Bindegewebswachstum fördern, während dem Desoxycorticosteron selbst diese Wirkung nicht zukommt. Das Knorpelwachstum scheint

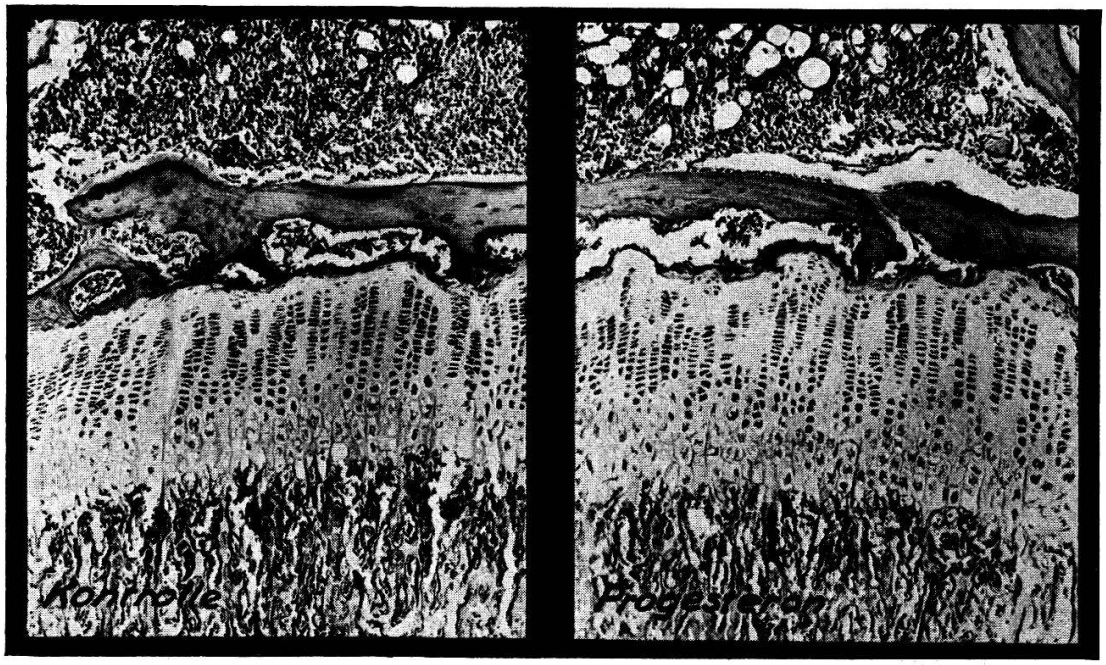

Abb. 7. Wirkung von Progesteron auf das Knorpelwachstum (Tibiakopf) bei allgemeiner Applikation. Links: unbehandelte Kontrolle. Rechts: nach einer Woche Behandlung mit 25 mg/kg Progesteron täglich.

nach unseren Versuchen durch Desoxycorticosteron auch bei allgemeiner Behandlung nicht angeregt zu werden, sondern wird sogar gehemmt, was wiederum auf die differenzierte Wirkung gegenüber zwei verschiedenartigen Bindegewebselementen hinweist. Die Bedingungen für die Wirkung von Desoxycorticosteron sind somit wohl komplizierter als diejenigen für Cortison und von bestimmten Modifikationen der Versuchsanordnung sowie direkt vom Substrat abhängig.

Auch für die anderen Steroide liegen die Verhältnisse bei allgemeiner Anwendung weniger eindeutig als beim Cortison. Zur Erleichterung des Verständnisses mag vielleicht beitragen, daß am nebennierenlosen Tier eine ganze Reihe dieser Effekte nicht mehr nachweisbar sind und daß bei allgemeiner Anwendung nur eine hemmende Wirkung von Desoxycorticosteron und Östradiol auf das Knorpelwachstum zu beobachten ist (Abb. 8, Tab. 3). Beim normalen Tier haben wir mit Testosteron keine sicheren Veränderungen der Abszeß- oder Granulombildung oder des Knorpelwachstums feststellen können. Hingegen führt das Östradiol zu einer geringgradigen Hemmung des Knorpelwachstums. Progesteron scheint bei allgemeiner Behandlung das Knorpelwachstum deutlich zu fördern (Abb. 7), während es die Abszeßbildung oder das Fremdkörpergranulom nicht beeinflußt. Es geht aus diesen Versuchen über die allgemeine Applikation der Steroide hervor, daß wohl in erster Linie die Wirkung des Östradiols auf das Knorpelwachstum als ein direkter Effekt angesehen werden kann, während die

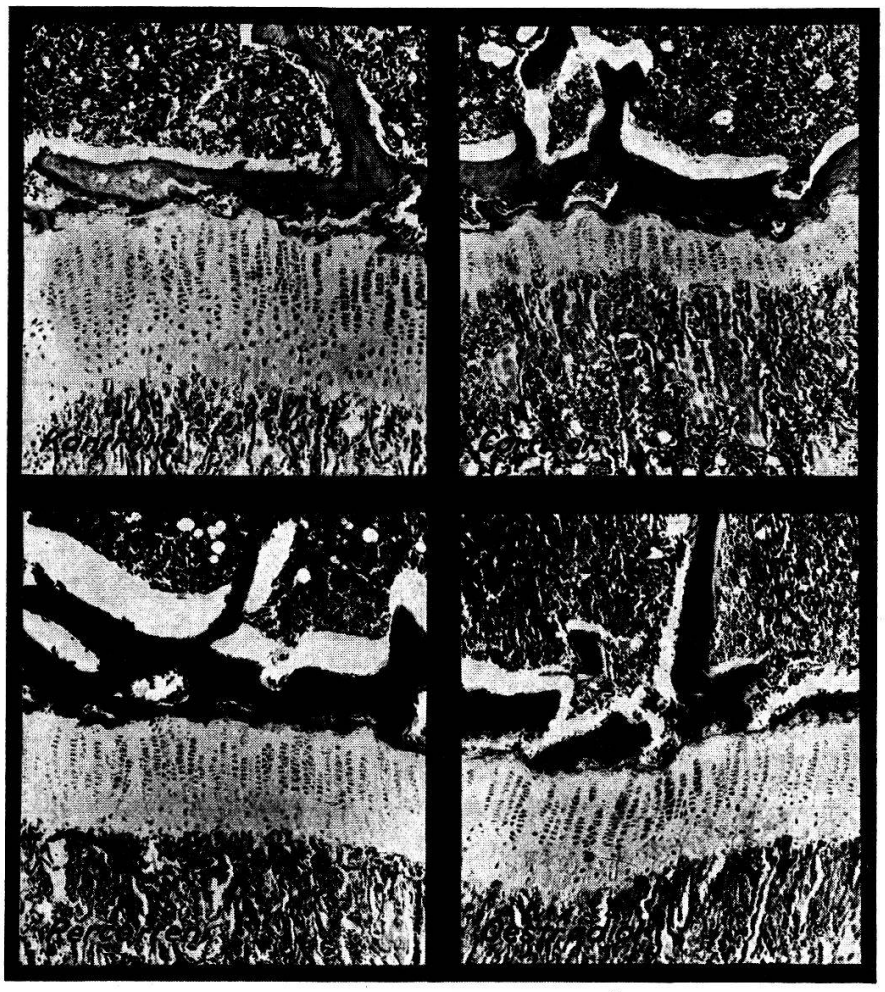

Abb. 8. Beeinflussung des Knorpelwachstums (Tibiakopf) durch verschiedene Steroide am nebennierenlosen Tier bei allgemeiner Applikation während einer Woche. Oben: unbehandelte Kontrolle, Cortison (25 mg/kg). Unten: Desoxycorticosteron (25 mg/kg), Oestradiol (1 mg/kg).

fördernden oder hemmenden Einflüsse der anderen Substanzen bei allgemeiner Applikation zum Teil von sekundären Faktoren, die unter anderem an das Vorhandensein der Nebennieren geknüpft sind, abhängig zu sein scheinen. Auch dabei bleibt jedoch die Frage offen, ob die betreffenden Nebennierenfaktoren direkt oder in Abhängigkeit von der Hypophyse einwirken.

Vergleicht man diese Ergebnisse am Ganztier mit den Befunden anderer Autoren, so besteht volle Übereinstimmung in bezug auf die hemmenden Effekte des Cortison unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Die lokal hemmende und allgemein fördernde Wirkung des Desoxycorticosteron, die sich besonders typisch am Bindegewebe nachweisen läßt, wurde von uns erstmalig beschrieben (16, 17), steht aber mit den meisten Befunden der Literatur wenigstens insofern in Einklang, als fördernde Wirkungen von Desoxycorticosteron bei lokaler Anwendung in der Literatur bisher nicht beschrieben worden sind. Von einzelnen Autoren,

Tabelle 3

Wirkung der untersuchten Steroide auf Fremdkörpergranulom, Abszeßbildung und Knorpelwachstum bei allgemeiner und lokaler Applikation am normalen und nebennierenlosen Tier.

+ = fördernde Wirkung — = hemmende Wirkung ∅ = keine Wirkung

	Normaltier						Nebennierenloses Tier					
	Fremdkörper Granulom		Crotonöl-Abscess		Knorpelwachstum		Fremdkörper Granulom		Crotonöl-Abscess		Knorpelwachstum	
Applikation	Allg.	Lok.	Allg.	Lok.	Allg.	Lok.	Allg.	Lok.	Allg.	Lok.	Allg.	Lok.
Cortisonacetat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Desoxycorticosteron-acetat	+	—	+	—	∅	—	+	—	(+)	—	—	—
Cpd. S-acetat	∅	∅	∅	∅	∅	(—)	∅	∅	∅	∅	∅	(—)
Oestradiol-monobenzoat	∅	+	∅	∅	(—)	∅	∅	∅	∅	∅	—	—
Progesteron	∅	∅	∅	∅	+	(+)	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Testosteron-propionat	∅	+	∅	∅	∅	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅

so z. B. von *Taubenhaus* (31) wird angedeutet, daß das Desoxycorticosteron bei lokaler Anwendung eher eine leichte Hemmung verursacht, doch wurde offenbar die ausgesprochene lokal hemmende Wirkung bisher nicht beobachtet. Über die Wirkung der Sexualhormone besteht hinsichtlich der Beeinflussung des Knochen- bzw. Knorpelwachstums durch Östradiol ebenfalls Übereinstimmung zwischen unseren Versuchen und den älteren Befunden von *Silberberg*, *Simpson* usw. (28, 29, 4). Die fördernde Wirkung von Progesteron am Normaltier wurde auch bereits von anderen Autoren beobachtet (27). Dagegen stimmen unsere Befunde über die Wirkung von Östradiol und Testosteron auf die Neubildung von Granulationsgewebe bei allgemeiner Anwendung am Normaltier nicht vollständig mit den von *Taubenhaus* (31) erhobenen überein. *Taubenhaus* findet beim Abszeß eine Hemmung der Bindegewebsreaktionen durch Sexualhormone, während mit den von uns angewandten Konzentrationen und Versuchsanordnungen keine sichere Wirkung zu beobachten war. Es ist nicht auszuschließen, daß diese unterschiedlichen Befunde auf die nicht vollständig übereinstimmende Versuchsanordnung zurückzuführen sind. Die nur am normalen Tier nachweisbare geringgradige Förderung der Bindegewebsneubildung durch Testosteron und Östradiol bei lokaler Applikation wurde unseres Wissens bisher nicht beschrieben. Es wurde besonders von *Taubenhaus* darauf hingewiesen (32), daß die Testosteron- und Östradiolwirkung wenigstens teilweise von der An-

Tabelle 4

Wirkung verschiedener Steroide auf die durch Aethinyloestradiol (0,03 mg täglich) hervorgerufenen Uterusfibrome am Meerschweinchen. Folgende Dosen wurden gleichzeitig mit Aethinyloestradiol während 100 Tagen appliziert: Cortison 1 mg, Desoxycorticosteron 0,1 mg, Substanz S 0,5 mg, Progesteron 0,02 mg, Testosteron 0,5 mg.

Wirkung von Steroiden auf oestrogen-induzierte Uterusfibrome (Lipschütz-Tumor)

Cortison-acetat	Desoxy-corticosteron acetat	Cpd. S-acetat	Progesteron	Testosteron propionat
Keine Wirkung	Hemmung	leichte Hemmung	Hemmung	Hemmung

wesenheit von somatotropem Hormon abhängig sind. Da wir selbst nicht über genügende Mengen dieses Hormons verfügen, können wir zu dieser Frage nicht abschließend Stellung nehmen, möchten aber die Vermutung aussprechen, daß nicht nur das somatotrope Hormon, sondern möglicherweise auch andere Faktoren für die Wirkungsqualitäten dieser Steroide eine Rolle spielen könnten. Wir kommen besonders deswegen zu dieser Auffassung, weil wir in früher publizierten Versuchen nicht bestätigen konnten, daß die Granulombildung am hypophysenlosen Tier gegenüber derjenigen am Normaltier wesentlich abgeschwächt ist (5). Die Frage, welche zusätzlichen Faktoren eine wesentliche Rolle für die Wirkung der Sexualhormone spielen, muß somit noch weiter bearbeitet werden, wobei durchaus damit gerechnet werden kann, daß möglicherweise für die einzelnen Gewebe verschiedene Faktoren, zum Teil aus der Nebenniere, zum Teil aus der Hypophyse, sowie auch lokale Bedingungen eine Rolle spielen.

Daß besondere Faktoren Vorbedingung für den Ausfall gewisser Versuche sind, geht auch aus Untersuchungen über die Hemmwirkung von Cortison gegenüber den nach *Lipschütz* durch hohe Östrogendosen am Meerschweinchen zu erzeugenden Uterusfibromen hervor. In eigenen Versuchen wurde festgestellt, daß Cortison die Entwicklung dieser Tumoren nicht beeinflußt (Tab. 4), während nach den Angaben von *Lipschütz* (14, 15), das Desoxycorticosteron neben Progesteron dasjenige Steroid ist, welches die stärkste Hemmwirkung besitzt. Das beweist somit, daß sich bei dieser Versuchsanordnung die untersuchten Steroide

hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegenüber einer proliferativ bindegewebigen Reaktion anders anordnen als bei Beeinflussung des entzündlichen Granuloms.

Daß sekundäre Faktoren wie Abbau oder Umbau von Steroiden für ein bestimmtes Reaktionsverhalten von Bedeutung sein können, geht weiterhin aus Versuchen von *Knake* (11) hervor, die zeigen konnte, daß die eigenartigen Mitosestörungen, die in der Gewebekultur durch Östradiol hervorgerufen werden, am Tier auch nach höchsten Dosen und bei verschiedentlich variierter Versuchsanordnung nicht nachweisbar sind. Auf Grund ihrer Befunde nimmt *Knake* an, daß Östradiol im Organismus umgewandelt wird und daß erst dieses Umwandlungsprodukt den eigentlich «physiologisch östrogenen Wirkstoff» darstellt. Wir möchten in der Schlußfolgerung nicht so weit gehen, sondern die Meinung vertreten, daß wohl auch bestimmte Bedingungen im tierischen Organismus vorliegen können, die den Wirkungscharakter des Östradiols zu modifizieren vermögen, ohne daß die Substanz selbst verändert wird.

Auf Grund unserer eigenen Untersuchungen und der in der Literatur mitgeteilten Befunde erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß der hemmende Einfluß, den Cortison auf verschiedenartige mesenchymale Faktoren im Organismus ausübt, zum Teil als direkte Wirkung auf verschiedene Elemente anzusehen ist. Beim Desoxycorticosteron sind dagegen entweder Umwandlungsvorgänge oder besondere Verhältnisse anzunehmen, um die durch dieses Steroid bedingten fördernden Einflüsse auf das Bindegewebswachstum bei allgemeiner Anwendung erklären zu können. Dieser Effekt bleibt jedoch auf das eigentliche Bindegewebe beschränkt und erstreckt sich nicht auf den Knochen, woraus geschlossen werden kann, daß die hier in Frage kommenden Umwandlungsvorgänge oder zusätzlichen Faktoren sich nur an bestimmten Geweben manifestieren. Östradiol und Testosteron zeigen bei allgemeiner Anwendung wohl direkte Wirkungen auf das Bindegewebe, doch beruht ein wesentlicher Teil der teils fördernden, teils hemmenden Effekte auf dem gleichzeitigen Vorhandensein von Faktoren, die von der «Nebenniere» abhängig sind. Auch hierbei besteht jedoch wiederum ein unterschiedliches Verhalten zwischen Bindegewebs- und Knorpelwachstum. Ähnlich liegen die Verhältnisse für das Progesteron und möglicherweise auch für Substanz S.

Es ergibt sich somit aus den bisherigen Untersuchungen, daß neben den eindeutigen Wirkungen des Cortison die durch andere Steroide ausgelösten Effekte auf das Bindegewebswachstum in Abhängigkeit von bestimmten zusätzlichen Faktoren in verschiedener Weise modifiziert werden können. Diese Schlußfolgerung scheint besonders im Hinblick

auf die Verhältnisse bei klinischer Anwendung von Bedeutung, bei der für bestimmte gezielte Wirkungen, Kombinationen von verschiedenen Faktoren im Zusammenhang mit Cortison oder anderen Steroiden in Frage kommen. Dies kann möglicherweise von gleicher oder vielleicht größerer praktischer Bedeutung sein als die einsinnige und sich auf das ganze Bindegewebe erstreckende Wirkung von Cortison. Es bleibt weiteren analytischen Untersuchungen vorbehalten, die speziellen Bedingungen derartiger Steroidkombinationen untereinander oder zusammen mit anderen Faktoren abzuklären und sie für bestimmte klinische Verhältnisse hinsichtlich ihrer therapeutischen Bedeutung zu charakterisieren. Dabei darf vielleicht vermutet werden, daß, je höher die Spezifität der Wirkung oder der Wirkungsrichtung, desto größer die Beteiligung verschiedener modifizierender Einflüsse ist und daß es für eine gezielte Wirkung notwendig ist, viele Faktoren, die für derartige Wirkungen in Frage kommen, in ein «Koordinatensystem» einzuordnen, um dadurch die besonderen Bedingungen der spezifischen Wirkungen möglichst eindeutig festzulegen. Diese «pharmakologische» Analyse der spezifischen Effekte endokriner Wirkstoffe auf allgemeine Funktionen des Organismus ist unseres Erachtens die Grundlage und Voraussetzung ihrer therapeutischen Anwendung.

Zusammenfassung

Die Wirkung verschiedener Steroide (Cortison, Desoxycorticosteron, Substanz S, Testosteron, Östradiol und Progesteron) wurde vergleichend in vitro und in vivo auf verschiedene Zellfunktionen (Auswanderung der Leukocyten, Zellteilung, Fibroblastenwachstum) und Gewebsfaktoren (Neubildung von Bindegewebe nach Fremdkörperimplantation, Abszeßbildung nach Injektion von Crotonöl, Knorpelwachstum) am normalen und nebennierenlosen Tier untersucht. Bei den Tierversuchen wurden die geprüften Substanzen allgemein (s.c.) und lokal appliziert.

Cortison hemmt sowohl die untersuchten Zellfunktionen in vitro als auch die Bildung von Granulationsgewebe, die Abszeßentwicklung und das Knorpelwachstum, und zwar unabhängig von der Applikationsart in etwa gleicher Weise am normalen und nebennierenlosen Tier.

Desoxycorticosteron zeigt in vitro eine stärkere Hemmwirkung als Cortison. Während es jedoch die Granulom- und Abszeßbildung am normalen und nebennierenlosen Tier bei allgemeiner Applikation fördert, wird bei lokaler Anwendung sowohl die Granulom- als auch die Abszeßbildung gehemmt.

Im Gegensatz zu diesen beiden Nebennierenrindenhormonen besitzt

Substanz S in den gewählten Versuchsanordnungen keine typischen Wirkungen.

Von den Sexualhormonen führt *Östradiol* in vitro zu den bekannten Mitosestörungen ohne das Wachstum der Fibroblasten wesentlich zu beeinflussen. Am Ganztier ist die Wirkung auf das Granulom sehr gering, die bekannte Hemmwirkung auf das Knorpel- und Knochenwachstum aber trotzdem deutlich vorhanden. Progesteron und Testosteron hemmen die Auswanderung der Leukocyten und auch das Fibroblastenwachstum (besonders Progesteron). Am Normaltier ist eine Förderung des Knorpelwachstums durch Progesteron nachweisbar sowie eine Anregung der Granulombildung durch Testosteron bei lokaler Applikation.

Die Wirkungsanalyse der geprüften Steroide im Hinblick auf die Beeinflussung bestimmter Zellfunktionen und Wachstums- bzw. Abwehrvorgänge weist auf die Verschiedenartigkeit der direkten oder indirekten Angriffspunkte der Steroidhormone hin und bildet eine Grundlage für die Differenzierung von Wirkungen, wie sie für physiologische und pathologische Zustände bedeutungsvoll sind.

Summary

Various steroids (cortisone, desoxycorticosterone, substance S, testosterone, œstradiol, and progesterone) were compared in vitro and in vivo for their effect on various cellular functions (leucocyte migration, cell division, growth of fibroblasts) and tissue reactions (formation of connective tissue after implantation of foreign bodies, abscess formation after injection of Croton oil, cartilage growth) in both normal and adrenalectomized animals. The substances tested were applied both systematically (s.c.) and locally.

Cortisone inhibits in vitro the cellular functions studied, also the formation of granulation tissue, abscesses, and cartilage growth; this inhibitory effect is much the same in normal and adrenalectomized animals, and is independent of the mode of application.

Desoxycorticosterone has a more powerful inhibitory action in vitro than cortisone. Whereas, however, in systemic application it assists granuloma and abscess formation in the normal and adrenalectomized animal, it inhibits such formation when applied locally.

In contrast to those two adrenocortical hormones, *Substance S* showed no typical effects in these series of experiments.

Of the sex hormones, *Oestradiol* in vitro produces well-known disturbances in mitosis without essentially affecting the growth of fibroblasts. In the intact animal, its effect on the granuloma is very slight, but its inhibitory action on cartilage and bone growth is marked.

Progesterone and *Testosterone* inhibit the migration of leucocytes and the growth of fibroblasts, especially progesterone. In the normal animal, progesterone assists cartilage growth, while testosterone applied locally stimulates granuloma formation.

Analysis of the action of the steroids tested on various cellular functions and on growth or defensive processes shows the variety of the direct or indirect sites of attack of the steroid hormones, and forms a basis for the differentiation of their various effects, and the importance of these for certain physiological and pathological conditions.

1. *Baker, B. L.*, und *Whitaker, W. L.:* Endocrinol. **46,** 544 (1950). – 2. *Blunt, J. W., Plotz, C. M., Lattes, R., Howes, E., Meyer, K.*, und *Ragan, C.:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **73,** 678 (1950). – 3. *Cornman, J.:* Science **113,** 37 (1951). – 4. *Day, H. G.*, und *Follis jr., R. H.:* Endocrinol. **28,** 83 (1941). – 5. *Desaulles, P., Schuler, W.*, und *Meier, R.:* Experientia **7,** 188 (1951). – 6. *Ducommun, P.*, und *Mach, R. S.:* Sem. Hôp. Par. **26,** 3170 (1950). – 7. *Ducommun, P.:* Acta endocrinol. **4,** 343 (1950). – 8. *Follis, R. H.:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **76,** 722 (1951). – 9. *Gardner, W. U.*, und *Pfeiffer, C. A.:* Physiol. Rev. (Am.) **23,** 139 (1943). – 10. *Heilmann, D. H.:* Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., Rochester **20,** 318 (1945). – 11. *Knake, E.:* Virchows Arch. **319,** 547 (1951). – 12. *Lettré, H.:* Naturw. **33,** 75 (1946). – 13. *Lipschütz, A.*, und *Vargas jr., L.:* Lancet **1940**/I, 541. – 14. *Lipschütz, A.*, und *Vargas jr., L.:* Endocrinol. **28,** 669 (1941). – 15. *Lipschütz, A.*, und *Vargas jr., L.:* Lancet **1941**/I, 568. – 16. *Meier, R., Schuler, W.*, und *Desaulles, P.:* Experientia **1950**/VI, 469. – 17. *Meier, R., Gross, F.*, und *Desaulles, P.:* Klin. Wschr. **29,** 653 (1951). – 18. *Möllendorff v., W.:* Zschr. Zellforsch. A **32,** 35 (1941). – 19. *Möllendorff v., W.:* Zschr. Zellforsch. **32,** 35 (1942). – 20. *Pirani, C. L., Stepto, R. C.*, und *Sutherland, K.:* J. exper. Med. **93,** 217 (1951). – 21. *Plotz, C. M., Howes, E. L., Blunt, J. W., Meyer, K.*, und *Ragan, C.:* Arch. Derm. a. Syph. **61,** 919 (1950). – 22. *Ragan, C. M., Howes, E. L., Plotz, C. M., Meyer, K.*, und *Blunt, J. W.:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **72,** 718 (1949). – 23. *Schneebeli, G. L.:* Anat. Rec. **106,** 244 (1950). – 24. *Selye, H., Sylvester, O., Hall, C. E.*, und *Lebland, C. P.:* J. amer. med. Assoc. **124,** 201 (1944). – 25. *Selye, H.:* J. clin. Endocrinol. **6,** 117 (1946). – 26. *Selye, H.:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **76,** 510 (1951). – 27. *Silberberg, M.*, und *Silberberg, R.:* Arch. Path. (Am.) **31,** 85 (1941). – 28. *Silberberg, M.*, und *Silberberg, R.:* Endocrinol. **29,** 475 (1941). – 29. *Simpson, M. E., Kibrick, E. A., Becks, H.*, und *Evans, H. M.:* Endocrinol. **30,** 286 (1942). – 30. *Simpson, M. E., Asling, W.*, und *Evans, H. M.:* Yale J. Biol. **23,** 2 (1950). – 31. *Taubenhaus, M.*, und *Amromin, G. D.:* Endocrinol. **44,** 359 (1949). – 32. *Taubenhaus, M.*, und *Amromin, G. D.:* J. Labor a. clin. Med. (Am.) **36,** 7 (1950).