

ÜBERSICHTEN

Zum biochemischen Wirkungsmechanismus des adrenocorticotropen Hormons: Einfluß auf die Synthese von Eiweiß in der Nebenniere*

Von
PETER C. SCRIBA

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL)

Der biochemische Wirkungsmechanismus der Hormone ist in den letzten Jahren Gegenstand sehr zahlreicher Untersuchungen gewesen. Dieses Kapitel der Biochemie ist noch keineswegs aufgeklärt. Es sei hier nur an die zusammenfassende Diskussion des Problems durch KARLSON¹ erinnert.

Unter den im Prinzip denkbaren Möglichkeiten, wie Hormone auf den Stoffwechsel der Zellen ihrer Erfolgsorgane bzw. -gewebe wirken können, ist dem Einfluß der Hormone auf die Proteinsynthese in der letzten Zeit vielerorts Beachtung zuteil geworden. So wurde die Wirkung von Testosteron auf die Proteinsynthese in der Bläschendrüse, bzw. in der Prostata untersucht^{2, 3}, weiter studierte man den Einfluß der Oestrogene auf die Proteinsynthese im Uterus⁴⁻⁶ und im Eileiter⁷, und schließlich sei an den Einfluß des Insulins auf die Proteinsynthese im Fett- und Muskelgewebe erinnert^{8, 9, 16}.

In der Abb. 1 ist die heutige Anschauung von der *Biochemie der Proteinsynthese* skizziert. Nach Arbeiten vor allem von HOAGLAND und ZAMECNIK^{10, 11} werden Aminosäuren zuerst aktiviert und dann der Aminoacylrest auf eine Acceptor-Ribonucleinsäure (s-RNS, transfer-RNS) übertragen. Diese beiden Schritte werden von den „pH 5-Enzymen“ katalysiert. Der Aminoacylrest wird sodann auf eine der an Ribosomen gebundenen, in der Synthese befindlichen Peptidketten übertragen und diese so um eine Aminosäure verlängert. Dieser Vorgang ist guanositriphosphat-abhängig¹² und wird von einer oder mehreren¹³ Aminoacyltransferasen katalysiert. Dieser Schritt ist auch der Angriffspunkt der „Messenger-Ribonucleinsäure“, die nach neueren Vorstellungen die Proteinsynthese regulieren soll^{14, 15}. Auf eine Diskussion der Problematik der Steuerung der Proteinsynthese kann im Rahmen dieser Übersicht nicht weiter eingegangen werden.

Wenn man den Einfluß eines Hormons auf die Proteinsynthese für den biochemischen Wirkungsmechanismus hält, muß man nach dem Einfluß auf die Regulation der Proteinsynthese fragen. Dementsprechend haben eine Reihe von Untersuchern sich mit der Frage beschäftigt, ob ein Effekt auf die Ribonucleinsäuresynthese als Ursache für die beobachteten Stimulationen der Proteinsynthese anzusehen sei. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei der Möglichkeit geschenkt, daß durch ein Hormon eine der Messenger-RNS ähnliche Ribonucleinsäure in der Zelle (Zellkern) gebildet oder aktiviert würde und diese für die Beschleunigung und Steuerung der Proteinsynthese verantwortlich sei. Einige Beobachtungen sind mit dieser Hypothese vereinbar^{3, 6, 16, 17}.

Der biochemische Wirkungsmechanismus des adrenocorticotropen Hormons ist schon die Fragestellung einer sehr großen Zahl von Experimenten gewesen. Es existieren zu diesem Thema und über die verschiedenen biochemischen Effekte des ACTH eine Reihe von erschöpfenden Übersichten¹⁸⁻²². Hier sollen zwei der für den biochemischen Wirkungsmechanismus des ACTH aufgestellten Hypothesen wegen ihrer Aktualität eingehender diskutiert werden.

1. Aktivierung der Phosphorylase in der Nebenniere durch ACTH

In den Jahren 1957 und 1958 wurde von HAYNES^{23, 24} mitgeteilt, daß Nebennierenschnitte von Rindern nach Inkubation mit 0,2 E pro ml ACTH einen um das 3-5fache erhöhten Gehalt an cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat auf-

* Herrn Prof. Dr. Dr. GUSTAV BODECHTEL zum 65. Geburtstag gewidmet.

wiesen (Tabelle 1). Zusatz von cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat oder von ACTH zu inkubierten Nebennierenschnitten führte zu einem Anstieg der Phosphorylaseaktivität auf das etwa 2^{1/2}fache. Diese wichtigen Befunde stehen in Analogie zu der von SUTHERLAND und RALL²⁵ beobachteten Aktivierung der Leberphosphorylase durch Adrenalin bzw. Glukagon. Auf Grund dieser Beobachtungen nahmen die Autoren folgenden biochemischen Wirkungsmechanismus für die Beschleunigung der Corticoidsynthese durch ACTH an^{25a}: Das durch die Aktivierung der Phosphorylase vermehrt an-

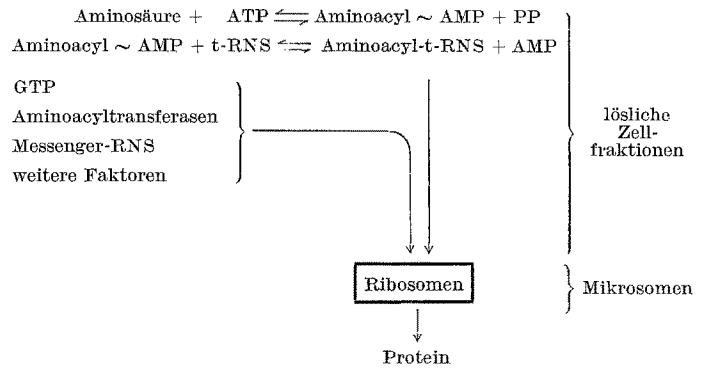


Abb. 1. Biochemie der Proteinsynthese, Erklärung s. Text. Abkürzungen: ATP = Adenosintri-phosphat, AMP = Adenosinmonophosphat, PP = Pyrophosphat, t-RNS = Transfer-Ribonucleinsäure, GTP = Guanositriphosphat

fallende Glucose-6-phosphat wird mit Glucose-6-phosphat-dehydrogenase und Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP)** oxydiert. Dadurch kommt es zu einem Anstieg des Gehaltes an reduziertem Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADPH). NADPH und molekularer Sauerstoff werden von den spezifischen Hydroxylasen der Nebennierenrinde benötigt. Daß man die Synthese von Steroidhormonen in Homogenaten von Rinder-Nebennieren durch Zusatz von NADPH oder einem NADPH-regenerierenden System beschleunigen kann, ist experimentell bewiesen^{24, 26}. — Dies sind die wesentlichen Befunde, die für den von HAYNES vorgeschlagenen Wirkungsmechanismus des ACTH sprechen.

Tabelle 1. Konzentration an cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat in Nebennierenschnitten. (Aus HAYNES²³)

Zusatz	KCl	ACTH
3',5'-AMP	$2,5 \times 10^{-6} \text{ M}$	$10,7 \times 10^{-6} \text{ M}$

Eine Reihe von Beobachtungen sind jedoch mit dieser Hypothese nicht zu vereinen: Die Untersuchungen von GLOCK und McLEAN²⁷ hatten gezeigt, daß das Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat in der Nebenniere, wie in anderen Organen, ganz überwiegend in der reduzierten Form (NADPH) vorliegt. Man müßte also zu der Hilfs-hypothese einer ungleichmäßigen Verteilung des NADPH in den einzelnen Zellbestandteilen greifen, um die Stimulation der Steroidsynthese durch ein erhöhtes Angebot an NADPH zu vertreten. Ferner ergab die direkte Messung der Fluoreszenz der Nebennierenrinde nach in vivo-Verabfolgung von ACTH²⁸ Anhaltspunkte für

** In der alten Nomenklatur = Triphosphopyridinnucleotid (TPN).

eine Oxydation der Gesamt-Nicotinamid-Adenin-Nucleotide, also keinen Hinweis für einen vermehrten Anfall von NADPH. Weiter spricht die Beobachtung, daß nach Hypophysektomie die Synthese von Corticoiden rasch absinkt, während der NADPH-Gehalt der Nebenniere über etwa 24 Std normal bleibt²⁹, gegen die Hypothese von HAYNES. Auch fand man

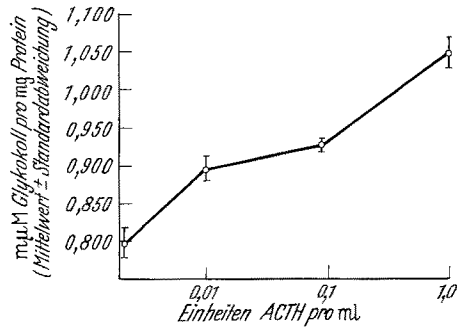


Abb. 2. Stimulation der in vitro-Proteinsynthese der Nebenniere durch ACTH. (Aus BRANSOME und REDDY³⁶)

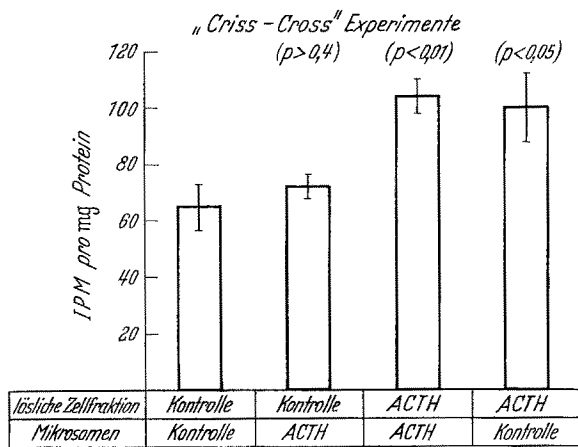


Abb. 3. Beschleunigung der Proteinsynthese im zellfreien Nebennierensystem durch die lösliche Zellfraktion der Nebennieren ACTH-behandelter Ratten. (Nach FARESE und REDDY³⁶)

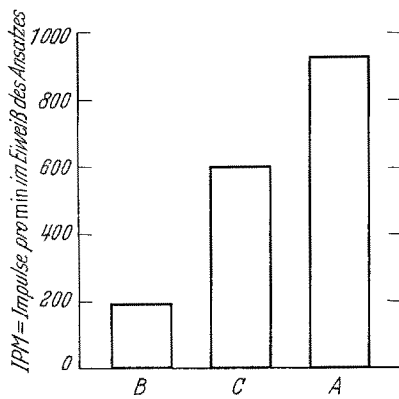


Abb. 4. Einbau von C¹⁴-markiertem Glykokoll in Eiweiß durch einen 15000 × g-Überstand von Schweinebrennierenhomogenaten bei Zusatz von Puffer (B), bzw. 105000 × g-Überständen von Homogenaten gleicher Gewichtsmengen Nebennieren unbehauelter (C) und ACTH-behandelter Ratten (A). (Nach SCRIBA und REDDY^{41, 42})

nach ACTH keinen Abfall des Glykogen-Gehaltes der Nebenniere³⁰. Ein weiterer Gesichtspunkt ist die Beobachtung, daß ACTH eine erhöhte Oxydation von C¹⁴-Glucose zu C¹⁴O₂ bewirkt, also das Gegenteil von dem, was man bei einer erhöhten Anlieferung von Glucose-6-phosphat infolge der vermehrten Glykogenolyse erwarten sollte^{30, 31}. Es fand sich ferner eine normale Phosphorylase-Aktivierung durch ACTH in Schnitten von Nebennieren, in denen durch das Antibioticum Puromycin der stimulierende ACTH-Effekt auf die Synthese von Corticoiden blockiert war^{33, 34}. Und schließlich führt Zusatz von cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat zu einem weiteren, additiven Anstieg der Synthese von Corticoiden, die zuvor bereits durch Zusatz von einem NADPH-regenerierenden System

stimuliert worden war³⁵. — Angesichts dieser Befunde ist die Annahme, daß ACTH durch eine Beschleunigung der Glykogenolyse und eine dadurch bewirkte Erhöhung der Anlieferung von reduziertem Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat die Synthese von Steroidhormonen in der Nebenniere fördert, als wahrscheinlich nicht berechtigt zu bezeichnen. Trotzdem ist die Beobachtung, daß ACTH den Gehalt der Nebenniere an cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat erhöht, ein wichtiger Befund, dessen Bedeutung für den Wirkungsmechanismus des ACTH nur noch nicht geklärt ist.

2. Einfluß des ACTH auf die Proteinsynthese in der Nebenniere

In den Jahren 1959/60 haben BRANSOME und REDDY³⁶ mit in vitro-Experimenten gezeigt, daß ACTH den Einbau von C¹⁴-markiertem Glykokoll (Abb. 2), bzw. Lysin in das Eiweiß von vierteilten Rattenbrennieren beschleunigt. Damit waren ältere, vorläufige Befunde³⁷ bestätigt worden. Die widersprüchlichen Ergebnisse von KORITZ et al.³⁸ sind insofern verständlich, als daß diese Autoren mit einer recht hohen Glucosekonzentration im Inkubationsmedium (10⁻³ molar) arbeiteten. Diese Glucosekonzentration (180 mg-%) verhindert die Stimulation der Proteinsynthese durch ACTH³⁶. — Um den biochemischen Mechanismus der Stimulation der Proteinsynthese durch ACTH aufzuklären, mußte man dazu übergehen, die Proteinsynthese im zellfreien System, also im Homogenat, zu studieren. FARESE und REDDY konnten zu nächst zeigen, daß im 15000 × g-Überstand (= lösliche Zellfraktion und Mikrosomen enthaltende Präparation, s. Abb. 1) von Homogenaten der Nebennieren von ACTH-behandelten Ratten und von Kontrolltieren der Einbau von C¹⁴-markiertem Glykokoll in Protein durch die vorherige intramuskuläre ACTH-Behandlung beschleunigt wird³⁹. Die Stimulation der Proteinsynthese ist durch einen Faktor im 105000 × g-Überstand (= lösliche Zellfraktion, s. Abb. 1) von Nebennierenhomogenaten bedingt, wie durch Criss-Cross-Experimente nach HOAGLAND⁴⁰ gezeigt wurde (Abb. 3), und also nicht auf eine Alteration der Mikrosomen durch die ACTH-Behandlung zurückzuführen. Da Guanosintriphosphat und Adenosintriphosphat bei den Inkubationen im Überschuß zugesetzt wurden, kamen sie als Ursache der Beschleunigung der Proteinsynthese nicht in Betracht. Es gelang den Autoren³⁹ zu zeigen, daß die ersten beiden Schritte der Proteinsynthese (vgl. Abb. 1), die Aktivierung der Aminosäuren und die Bildung der Aminoacyl-transfer-Ribonucleinsäure in der löslichen Zellfraktion der Nebennieren ACTH-behandelter und nichtbehandelter Tiere mit gleicher Geschwindigkeit abläuft. Daher galt es zu klären, ob der die Proteinsynthese beschleunigende, nicht dialysierbare Faktor aus dem 105000 × g-Überstand von Nebennieren ACTH-behandelter Ratten eine Aminoacyl-Transferase, eine Messenger-Ribonucleinsäure oder ein andersartiger Faktor sei. Diese Frage erschien im Hinblick auf die eingangs erwähnten neueren Anschauungen zur Regulation der Proteinsynthese wichtig.

Die Untersuchungen* von REDDY und SCRIBA^{41, 42} ergaben folgende Eigenschaften des für die in vitro-Proteinsynthese geschwindigkeitsbestimmenden und durch ACTH-Behandlung der Ratten in der Nebenniere in erhöhter Gesamtaktivität vorliegenden Faktors: Der Faktor beschleunigte die in vitro-Proteinsynthese durch 15000 × g-Überstände (lösliche Zellfraktion und Mikrosomen enthaltende Präparationen) von Schweine- (Abb. 4), Hunde- und Rattenbrennieren. Somit zeigte er keine Artspezifität. Er wurde durch Präinkubation bei 55° C inaktiviert. Mit der Technik der vergleichenden Dichtegradienten-Zentrifugation⁴³ wurde für den Faktor ein approximatives Molekulargewicht von 100000—140000 und eine S-Wert von 6—7 ermittelt; als Bezugsproteine wurden Pyruvatkinase⁴⁴ (s. Abb. 5), bzw. Lactat-Dehydrogenase⁴⁵ gewählt. Die Präinkubation des Faktors mit Trypsin führte zu Inaktivierung, dagegen war der Faktor gegen Ribonuklease aus Pankreas beständig. Mit der von GIEBER und SCHRAMM⁴⁶ für die Präparation von Nucleinsäuren angegebenen Phenol-extraktion gelang es nicht, das aktive Prinzip zu isolieren. All diese Eigenschaften zeigten deutliche Unterschiede gegenüber

* Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines einjährigen Aufenthaltes als Postdoctoral Research Fellow (FF-428) des U.S. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., an der Harvard Medical School im Laboratorium von Dr. G. W. THORN und Dr. W. J. REDDY, Peter Bent Brigham Hospital, Boston, Mass., durchgeführt. Wir möchten auch an dieser Stelle für das Stipendium danken.

denen aus phageninfizierten Colibakterien isolierter Messenger-Ribonucleinsäure¹⁴. — Schließlich gelang es mit Hilfe der Anionen-Austauschchromatographie auf DEAE-Cellulose-säulen⁴⁷ unter Benützung eines von TAKANAMI⁴⁸ für die Isolierung von Aminoacyl-Transferase aus Rattenleber angegebenen Systems, den die in vitro-Proteinsynthese stimulierenden Faktor zu isolieren. Der Elutionstyp (Abb. 6) war dabei identisch mit dem für Rattenleber-Aminoacyl-Transferase beschriebenen⁴⁸. Die chemische Untersuchung des aktiven Materials (Probe 5 und 6, Abb. 6) ergab, daß es sich um ein Protein (Bestimmung nach LOWRY⁴⁹) handelte. Der Ribonucleinsäuregehalt wurde nach^{50, 51} bestimmt. Es fanden sich Null-Werte, so daß sich aus der Empfindlichkeit der Methode errechnen ließ, daß der Faktor weniger als 1% seines Proteingehaltes an Ribonucleinsäure enthielt. — Aus diesen Befunden wurde geschlossen, daß ACTH die Proteinsynthese in der Nebenniere durch Neubildung oder Aktivierung der im Homogenat geschwindigkeitsbestimmenden Aminoacyl-Transferase beschleunigt. Es wird angenommen, daß es sich dabei um die stabile Aminoacyl-Transferase¹² handelt. — Die nach Behandlung der Ratten mit einem kommerziellen, Verunreinigungen enthaltenden ACTH-Präparat erhobenen Befunde wurden in Kontrollversuchen nach Infusion von zwei Einheiten eines synthetischen ACTH-Peptides (HORMANN³²) bestätigt. Das erscheint wichtig im Zusammenhang mit der Frage, ob es verschiedenartige adrenocorticotrope Hormone gibt, die einerseits die Synthese von Steroidhormonen und andererseits das Wachstum der Nebennierenrinde beschleunigen, wie sie erst kürzlich wieder postuliert wurden⁵². Ein sicherer Beweis für eine Dissoziation des steroidogenen und des Wachstumseffektes der bisher untersuchten synthetischen Peptide mit ACTH-Funktion liegt bisher nicht vor.

Was bedeuten diese Ergebnisse der Untersuchungen zum biochemischen Mechanismus der Beschleunigung der Proteinsynthese für die Frage nach dem biochemischen Wirkungsmechanismus des ACTH?

Adrenocortico-,trophes“ Hormon verdankt seine ersten Beschreibungen (z. B. ⁵³) seiner Eigenschaft, das Gewicht der Nebenniere nach Hypophysektomie zu erhalten. Die Beschleunigung der Biosynthese der Steroidhormone in der Nebenniere durch das Hormon wurde erst viel später bekannt. Es ist klar, daß die von ^{41, 42} beobachtete Erhöhung der Aminoacyl-Transferase-Aktivität nach ACTH-Gaben ausschließlich mit der das Nebennierenwachstum fördernden Wirkung des Hormons zusammenhängen kann. Aus Untersuchungen von LIPSCOMB und NELSON⁵⁴ ist bekannt, daß 2–4 min nach ACTH-Gabe im Nebennierenvenenblut der Ratte die Ausscheidung von Ascorbinsäure und nach etwa 4 min die Corticosteron-Ausscheidung ansteigt (Abb. 7). Die beobachtete Aktivierung oder Neubildung der Aminoacyl-Transferase wurde nach einer 4–5 Std währenden Infusion des synthetischen ACTH-Peptides gesehen. Es ist bis jetzt noch nicht versucht worden, den Einfluß des ACTH auf die Proteinsynthese nach kürzeren Zeitintervallen zu erfassen. In der Literatur wird bekanntlich zwischen Kurzzeit- und Langzeiteffekten¹⁹ des ACTH unterschieden, zu den letzteren wird der Einfluß auf das Gewicht der Nebenniere gerechnet, und es ist gut möglich, daß es sich bei den im Vorangegangenen referierten Befunden von ^{41, 42} um einen solchen Langzeiteffekt handelte.

Es gibt jedoch Hinweise, daß die Wirkung des ACTH auf die Proteinsynthese mit dem fördernden Einfluß des Hormons auf die Biosynthese der Steroidhormone etwas zu tun hat. FERGUSON^{33, 34} konnte beobachten, daß nach Blockierung der Proteinsynthese in viergeteilten Nebennieren mit dem Antibioticum Puromycin der die in vitro-Steroidogenese beschleunigende Effekt des ACTH entfällt (Tabelle 2). Der Effekt ist reversibel. Für die Wirkung des Hormons auf die Synthese der Corticoide scheint also eine intakte Proteinsynthese in der Nebenniere notwendig zu sein.

Die Erhöhung der Aktivität der Aminoacyl-Transferase in der Nebenniere durch das ACTH erscheint als ein relativ unspezifischer Effekt und als eine nicht ganz befriedigende Erklärung der so spezifischen Wirkung des Hormons auf die Produktion von Corticoiden. Man würde eher, wenn die

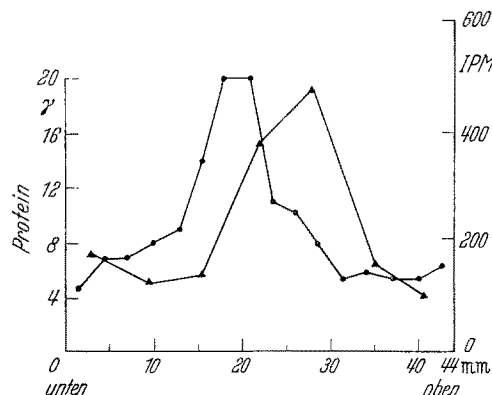


Abb. 5. Vergleichende Zentrifugation von Pyruvatkinase ●●● und dem die Proteinsynthese beschleunigenden Faktor ▲▲▲ auf Rohrzucker-dichtegradienten. Aus den gemessenen Sedimentationswegen wurden Molekulargewicht und S-Wert nach MARTIN und AMES⁴³ berechnet. (Nach SCRIBA und REDDY^{41, 42})

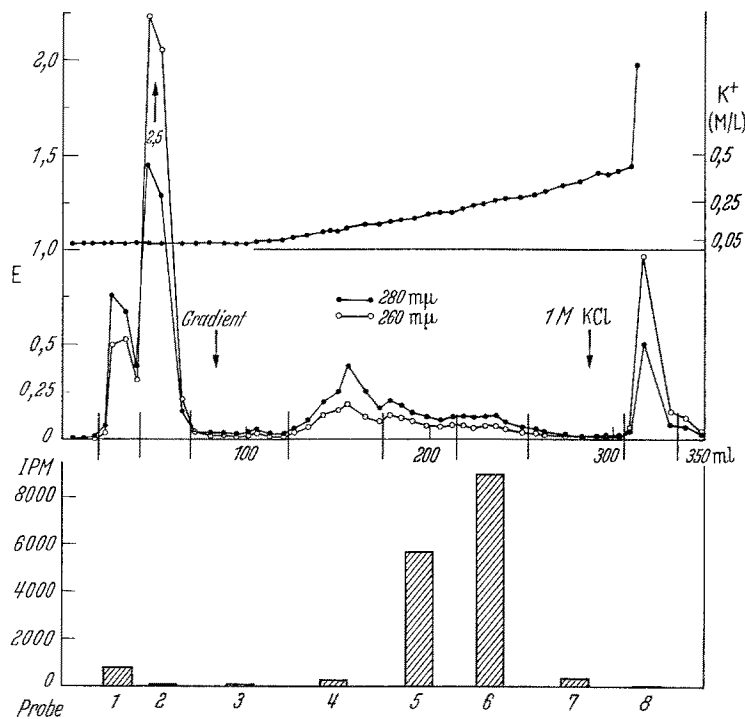


Abb. 6. DEAE-Cellulose-Chromatographie (KCl-Gradientenelution) des die Proteinsynthese stimulierenden Faktors aus dem $105\,000 \times g$ -Überstand von Nebennierenhomogenaten ACTH-behandelter Ratten (oben), Beschleunigung des Einbaus von C^{14} -markiertem Glykoll in Eiweiß im $15\,000 \times g$ -Überstand des Schweineebennierenhomogenats (Gesamtaktivität, unten). (Nach SCRIBA und REDDY^{41, 42})

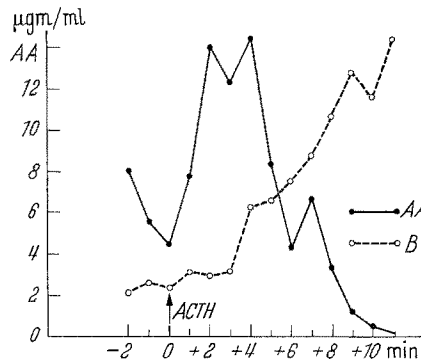


Abb. 7. Sekretion von Ascorbinsäure (AA) und Corticosteron in das Nebennierenvenenblut der hypophysektomierten Ratte nach Gabe von $0,2 \times 10^{-3}$ Einheiten ACTH in die Vena jugularis. (Aus LIPSCOMB und NELSON⁵⁴)

Proteinsynthese überhaupt eine Bedeutung für die Wirkung des Hormons hat, die Neusynthese irgendeines spezifischen Enzymproteins erwarten¹⁹. In diesem Zusammenhang sei an

Tabelle 2

In vitro-Blockierung der durch 0,1 E pro ml ACTH bedingten Beschleunigung der Steroidogenese und der Proteinsynthese in viergeteilten Rattennebenieren durch 10^{-3} M Puromycin

Das Fehlen der Stimulation der Proteinsynthese durch ACTH ist durch die Anwesenheit von Glucose im Inkubationsmedium bedingt (vgl. ³⁶).

Zusätze	Corticosteroid im Medium: $\mu\text{g}/100$ mg Gewebe	Spezifische Aktivität des Eiweiß: IPM/mg
Keine	$2,2 \pm 0,1$	1490 ± 100
ACTH	$8,6 \pm 1,6$	1480 ± 60
ACTH + Puromycin	$2,1 \pm 0,7$	43 ± 9

Aus FERGUSON³⁴.

die Erhöhung der 11- β -Hydroxylase-Aktivität in den Mitochondrien menschlicher Nebennieren nach ACTH-Behandlung, wie sie an Carcinom-Patienten beobachtet wurde, erinnert³⁵. Eine vielleicht annehmbare Deutung der Befunde zum biochemischen Mechanismus der Stimulation der Proteinsynthese in der Nebenniere durch ACTH ist durch die Hypothese gegeben, daß das ACTH aus der Nebennierenrinde einen Inhibitor entfernt, möglicherweise durch Beeinflussung der Permeabilität, nach dessen Wegfall sowohl die Biosynthese der Steroidhormone beschleunigt abläuft, als auch eine Aktivierung oder eventuell auch Neusynthese der Aminoacyl-Transferase eintritt.

Zusammenfassung. Es wird eine Übersicht über zwei Hypothesen und die dazugehörigen Befunde zum Wirkungsmechanismus des adrenocorticotropen Hormons gegeben: 1. Der Gehalt der Nebenniere an cyclischem Adenosinmonophosphat wird durch ACTH erhöht, die stimulierende Wirkung des Hormons auf die Corticoidsynthese wird durch cyclisches Adenosinmonophosphat initiiert. Die Beschleunigung der Corticoidsynthese dürfte allerdings nicht durch eine Aktivierung der Phosphorylase in der Nebenniere erfolgen. 2. Befunde zum biochemischen Mechanismus der Stimulation der Proteinsynthese in der Nebenniere durch ACTH werden referiert. Die Intaktheit der Proteinsynthese der Nebenniere scheint für den steroidogenen Effekt des ACTH Voraussetzung zu sein.

Summary. Two current hypotheses on the mechanism of action of ACTH are reviewed: 1. The content of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate of the adrenals is increased by ACTH, and cyclic AMP or ACTH enhance corticoid synthesis. However, stimulation of corticoid synthesis presumably is not mediated by activation of adrenal phosphorylase. 2. Experiments dealing with the biochemical mechanism of the stimulation of adrenal protein synthesis are reviewed. The integrity of the adrenal protein synthesis appears to be necessary for the enhancement of corticoid synthesis by ACTH.

Literatur. ¹ KARLSON, P.: Biochemische Wirkungsweise der Hormone. Dtsch. med. Wschr. **86**, 668 (1961). — ² BUTENANDT, A., H. GUENTHER u. F. TURBA: Zur primären Stoffwechselwirkung des Testosterons. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **322**, 28 (1960). — ³ LIAO, S., and H. G. WILLIAMS-ASHMAN: An effect of testosterone on amino acid incorporation by prostatic ribonucleoprotein particles. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **48**, 1956 (1962). — ⁴ MUELLER, G. C.: Some biochemical studies on the mechanism of action of estrogen. Cancer (Philad.) **10**, 716 (1957). — ⁵ MUELLER, G. C., J. GORIKI, and Y. AIZAWA: The role of protein synthesis in early estrogen action. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **47**, 164 (1961). — ⁶ HAMILTON, T. H.: Isotopic studies on estrogen-induced accelerations of RNA and protein synthesis. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **49**, 373 (1963). — WILSON, J. D.: Influence of estradiol administration on protein synthesis in homogenates of hen oviduct. Biochem. biophys. Res. Commun. **8**, 175 (1962). — ⁷ KRAHL, M. E.: Incorporation of C^{14} -amino acid precursors into adipose-tissue protein: An insulin stimulation not involving glucose or amino acid transport. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **35**, 556 (1959). — ⁸ MANCHESTER, K. L., and F. YOUNG: Insulin and protein metabolism. In: R. S. HARRIS and D. J. INGLE (Hrsg.), Vitamins and Hormones, vol. 19, p. 95. New York: Academic Press 1961. — ⁹ HOAGLAND, M. B., E. B. KELLER, and P. C. ZAMECNIK: Enzymatic carboxyl activation of amino acids. J. Biol. Chem. **218**, 345 (1956). — ¹⁰ HOAGLAND, M. B., M. L. STEPHENSON, J. F. SCOTT, L. I. HECHT, and P. C. ZAMECNIK: A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis. J. Biol. Chem.

231, 241 (1958). — ¹² KELLER, E. B., and P. C. ZAMECNIK: The effect of GDP and GTP on the incorporation of labeled amino acids into proteins. J. Biol. Chem. **221**, 45 (1956). — ¹³ FESSENDEN, J. M., and K. MOLDAVE: Studies on amino acyl transfer from soluble ribonucleic acid to ribosomes. J. Biol. Chem. **238**, 1479 (1963). — ¹⁴ GROS, F., W. GILBERT, H. H. HIATT, G. ATTAROI, P. I. SPAUR, and J. D. WATSON: Molecular and biological characterization of Messenger-RNA. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **26**, 111 (1961). — ¹⁵ JACOB, F., and J. MONOD: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J. molec. Biol. **3**, 318 (1961). — ¹⁶ WOOL, I. G.: Effect of insulin on nucleic acid synthesis in isolated rat diaphragm. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **68**, 28 (1963). — ¹⁷ GARREN, L. D., and R. R. HOWELL: The role of Messenger-RNA in Mammalian enzyme induction. Fed. Proc. **22**, Abstr. No. 2171 (1963). — ¹⁸ SAYERS, G., E. S. REDGATE, and P. C. ROYCE: Hypothalamus, adenohipophys and adrenal cortex. Ann. Rev. Physiol. **20**, 243 (1958). — ¹⁹ SABA, N.: Mechanism of corticotrophin action. In: F. CLARK, and J. K. GRANT (Hrsg.), The biosynthesis and secretion of adrenocortical steroids, p. 96. Biochem. Soc. Sympos., Cambridge 1960. — ²⁰ FORTIER, C.: Adenohipophys and adrenal cortex. Ann. Rev. Physiol. **24**, 224 (1962). — ²¹ ENGEL, F. L.: Extra-adrenal actions of ACTH. In: R. S. HARRIS, and D. J. INGLE (Hrsg.), Vitamins and Hormones. New York: Academic Press 1961. — ²² LI, C. H.: Synthesis and biological properties of ACTH-peptides. Rec. Progr. Hormone Res. **18**, 1 (1962). — ²³ HAYNES jr., R. C.: The activation of adrenal phosphorylase by ACTH. J. Biol. Chem. **233**, 120 (1958). — ²⁴ HAYNES jr., R. C., and L. BERTHET: Studies on the mechanism of action of ACTH. J. Biol. Chem. **225**, 115 (1957). — ²⁵ SUTHERLAND, E. W., and T. W. RALL: The properties of an adenine ribonucleotide produced with cellular particles. J. Amer. chem. Soc. **79**, 3608 (1957). — ^{25a} HAYNES jr., R. C., E. W. SUTHERLAND, and T. W. RALL: The role of cyclic adenylic acid in hormone action. Rec. Progr. Hormone Res. **16**, 121 (1960). — ²⁶ KORITZ, S. B., and F. G. PÉRON: Studies on the mode of action of ACTH. J. Biol. Chem. **230**, 343 (1958). — ²⁷ GLOCK, G. E., and P. MCLEAN: The determination of oxidized and reduced diphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide in animal tissue. Biochem. J. **61**, 388 (1955). — ²⁸ CHANCE, B., B. SCHOENER, and J. J. FERGUSON jr.: In vivo induced oxydation by ACTH of reduced pyridin nucleotide in the adrenal cortex of hypophysectomized rats. Nature (Lond.) **195**, 776 (1962). — ²⁹ HARDING, B. W., and D. H. NELSON: Maintenance of TPNH concentration in rat adrenals following hypophysectomy. Fed. Proc. **22**, Abstr. 2212 (1963). — ³⁰ VANCE, V. K., F. GIRARD, and G. F. CAHILL: Effect of ACTH on glucose metabolism in rat adrenal in vitro. Endocrinology **71**, 113 (1962). — ³¹ WILLIAMS, H. E., P. L. JOHNSON, and J. B. FIELD: In vitro studies on the effect of ACTH in rat and bovine adrenal glands. Endocrinology **71**, 293 (1962). — ³² HOFMANN, K., and H. YAJMA: Synthetic pituitary hormones. Rec. Progr. Hormone Res. **18**, 41 (1962). — ³³ FERGUSON jr., J. J.: Puromycin and adrenal responsiveness to ACTH. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **57**, 616 (1962). — ³⁴ FERGUSON jr., J. J.: Proteinsynthesis and adrenocorticotropin responsiveness. J. Biol. Chem. **238**, 2754 (1963). — ³⁵ KORITZ, S. B.: Some observations on the stimulation in vitro of corticoid production by adenosine-3',5'-monophosphate in rat adrenals. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **60**, 179 (1962). — ³⁶ BRANSOME jr., E. D., and W. J. REDDY: Hormonal effects in vitro on amino acid incorporation in rat adrenal protein: ACTH and growth hormone. Arch. Biochem. **101**, 21 (1963). — ³⁷ DAVISON, C., and F. G. HOFMANN: Effect of ACTH on uptake of S^{35} -labeled cysteine by rat adrenal glands. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **92**, 151 (1956). — ³⁸ KORITZ, S. B., F. G. PERON, and R. I. DORFMANN: Influence of ACTH on corticoid production and glycine- C^{14} incorporation into protein by rat adrenals. J. Biol. Chem. **226**, 643 (1957). — ³⁹ FARESE, R. V., and W. J. REDDY: Effect of ACTH on adrenal protein synthesis. Endocrinology **73**, 294 (1963). — ⁴⁰ HOAGLAND, M. B.: Some factors influencing protein synthetic activity in a cell free mammalian system. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **26**, 153 (1961). — ⁴¹ SCRIBA, P. C., and W. J. REDDY: ACTH and adrenal protein synthesis. Fed. Proc. **22**, Abstr. 30 (1963). — ⁴² SCRIBA, P. C., and W. J. REDDY: Adrenocorticotrophin and adrenal protein synthesis. Manuskript zur Veröffentlichung in J. Biol. Chem. eingereicht (1963). — ⁴³ MARTIN, R. G., and B. N. AMES: A method for determining the sedimentation behavior of enzymes: Application to protein mixtures. J. Biol. Chem. **236**, 1372 (1961). — ⁴⁴ WARNER, R. C.: Physical properties of crystalline "Fluoro-

kinase". Arch. Biochem. 78, 494 (1958). — ⁴⁵ PESCE, A., F. STOLZENBACH, I. FREEBERG, and N. O. KAPLAN: Comparative enzymology of various lactic dehydrogenases. Fed. Proc. 22, Abstr. 486 (1963). — ⁴⁶ GIERER, A., and G. SCHRAMM: Infectivity of RNA from tobacco mosaic virus. Nature (Lond.) 177, 702 (1956). — ⁴⁷ PETERSON, E. A., and H. A. SOBER: Column chromatography of proteins: Substituted celluloses. In: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN, Methods in enzymology, vol. 5, p. 1 (1962). — ⁴⁸ TAKANAMI, M.: Transfer of amino acids from soluble RNA to ribosomes. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 51, 85 (1961). — ⁴⁹ LOWRY, D. R., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, and R. V. RANDALL: Protein measurement with the FOLIN phenol reagent. J. biol. Chem. 193, 265 (1951). — ⁵⁰ SCHNEIDER, W. C.: Phosphorus compounds in

animal tissues. J. biol. Chem. 161, 293 (1945). — ⁵¹ DISCHE, Z.: Color reactions of nucleic acid components. In: E. CHARGAFF, and J. N. DAVIDSON (Hrsg.), The nucleic acids, p. 301. New York: Academic Press 1955. — ⁵² NIEHOLS, J., and W. GOURLEY: Adrenal weight-maintaining corticotropin in carcinoma of lung. J. Amer. med. Ass. 185, 696 (1963). — ⁵³ EVANS, H. M.: Present position of our knowledge of anterior pituitary function. J. Amer. med. Ass. 101, 425 (1933). — ⁵⁴ LIPSCOMB, H. S., and D. H. NELSON: Dynamic changes in ascorbic acid and corticosteroids in adrenal vein blood after ACTH. Endocrinology 66, 144 (1960). — ⁵⁵ GRANT, J. K., and T. SYMINGTON: Effect of adrenocorticotrophic therapy on the in vitro 11- β -hydroxylation of the deoxycorticosterone by human adrenal homogenates. J. clin. Endocr. 17, 933 (1957).

Das Eindringen des Trophoblasten in das Uterusepithel*

Von
BENT G. BÖVING

Department of Embryology, Carnegie Institution of Washington, 115 W. University Parkway, Baltimore 10, Maryland

Einleitung

Die Gegenwart ist ein unbeständiger Augenblick zwischen unbeeinflussbarer Vergangenheit und noch nicht aufgezeichneter Zukunft. Daher enthält eine Erläuterung des gegenwärtigen Wissensstandes auf einem Forschungsgebiet im allgemeinen eine Aufzählung bereits bekannter Tatsachen, und manchmal eine Wertung dessen, was noch nicht bekannt ist. Solche Übersichtsarbeiten liegen bereits vor für allgemeine Probleme des Eies (AUSTIN 1961, BLANDAU 1961), für die Implantation (BOYD u. HAMILTON 1952, BLADAU 1961, GOTTSCHESKI 1962, BÖVING 1963) und für die Bildung der Placenta (MOSSMAN 1937, AMOROSO 1952). Bei einem eng umgrenzten Spezialgebiet im Rahmen dieser Themen, nämlich der Penetration des Uterusepithels während der Ei-Implantation, ist dem allgemeinen Interesse wohl weniger gut gedient mit einer umständlichen Erörterung der Literatur als mit einer Diskussion darüber, welche Methoden und Gedankengänge verschiedene Arten der Kenntnis geben oder nicht geben. Deshalb stehen in dieser Arbeit die eigenen wissenschaftlichen Ergebnisse und Ansichten des Verfassers im Vordergrund.

Qualitative deskriptive Anatomie

Aus der anatomischen Beschreibung von Untersuchungsmaterial bekannten Alters ergibt sich eine Folge verschiedener Stadien, die für die zeitliche und räumliche Orientierung von Nutzen ist. Zwischen dem 2. und 4. Tag nach der Ovulation teilt sich beim Menschen das befruchtete Ei wiederholt und wandert dann als Morula oder festes Zellknäuel vom Eileiter zum Uterus. Zwischen dem 4. und 7. Tag nach der Ovulation bildet sich darin ein großer werdender Hohlraum. Damit wird aus der Morula die Blastula, ein flüssigkeitsgefüllter Ball. Die Blastula wird jetzt zu ihrer Ansiedlungsstelle im Uterus transportiert**.

Man darf annehmen, daß sich die Blastula ungefähr 6 oder 7 Tage nach der Ovulation an den Uterus anheftet. Nach dieser Ansiedlung folgt vermutlich die Passage der Blastula vom Uteruslumen durch das Uterusepithel in das Stroma. Die äußere der beiden Blastulaschichten, von HUBRECHT (1888, 1889) Trophoblast genannt, wächst und umhüllt die mütterlichen Blutgefäße. Die Wände dieser Blutgefäße werden zerstört, und dann kann mütterliches Blut durch Zwischenräume in den Trophoblasten fließen. Diese Beziehung ist die Grundlage des mütterlichen Placentarkreislaufes. Es muß aber erwähnt werden, daß der Raum, durch den das mütterliche Blut fließt, nicht nur von umhüllten und arrodieren mütterlichen Gefäßen herrührt, sondern auch von Lacunen, die sich innerhalb des Trophoblasten entwickeln und mit den blutgefüllten Räumen verschmelzen. Ungefähr 13 Tage nach der Ovulation heilt das Uterusgewebe über dem nach der Passage der

Blastula in das Stroma zurückgebliebenen Loch. Damit endet das anatomische Stadium, genannt Implantation, obwohl die Anlage des embryonalen Placentarkreislaufs erst einige Tage später durch die Bildung der Zotten und die Entwicklung von Gefäßen in ihnen vollendet wird. Der Blutdurchfluß durch diese Gefäße beginnt ungefähr 3 Wochen nach der Ovulation, wenn das embryonale Herz zu schlagen beginnt.

Die eben besprochenen anatomischen Stadien scheinen einen recht zusammenhängenden Überblick zu ergeben, der jedoch nicht-fälschlicherweise als vollständig oder gar genau angesehen werden sollte. Da ist zunächst einmal das Hauptproblem der beschreibenden menschlichen Embryologie, daß die Schätzungen der für ein bestimmtes Alter typischen Merkmale wahrscheinlich nur auf ± 1 Tag genau sind, da die Zeiten der Ovulation und der Befruchtung nicht genauer bekannt sind, und die einzelne Frucht („conceptus“) und sogar Teile davon sich verschieden entwickeln. (Der Ausdruck „conceptus“ umfaßt alle Stadien der Entwicklung vom befruchteten Ei bis zur Geburt und alle Teile, placentare ebenso wie embryonale). Noch schwerwiegender ist, daß die Folge der frühen Entwicklungsstufen der menschlichen Frucht eine Lücke von 2—3 Tagen aufweist, welche die Zeit umfaßt, in der die Blastula sich anheftet und das Uterusepithel durchdringt. Wir müssen also zugeben, daß — solange nicht das notwendige Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht — wir keine direkte Kenntnis der zentralen Vorgänge bei der menschlichen Implantation haben. Die vermutliche Bedeutung dieser mangelhaften Kenntnisse geht aus der Tatsache hervor, daß etwa die Hälfte der menschlichen Schwangerschaften während der Zweiwochenperiode, in deren Mitte die Implantation liegt, verlorengehen (HERTIG u. a. 1959).

Die Wahrscheinlichkeit, bald das nötige Untersuchungsmaterial zu erhalten, ist nicht sehr groß. Ebenso zweifelhaft ist es, ob die für die zu einem früheren oder späteren Zeitpunkt gewonnenen Gewebestückchen geeigneten Präparations- und Untersuchungsmethoden auch für diesen Zweck die erwünschten Informationen geben können. Spülen ist die gewöhnliche Methode, mit der man noch nicht angeheftete Blastulae gewinnen kann. Nach Beginn der Anheftung muß man jedoch erwarten, daß man durch Spülen entweder die Blastula von dem Epithel abreißt oder aber sie nicht aus dem Uterus herausbekommt. Dies führt zu der Überlegung, ob ein Teil der sog. noch nicht angehefteten Blastulae nicht schon einer vorläufigen Form der Befestigung am Uterus unterworfen wurde, vielleicht durch einen „Griff“ (des aneinandergelagerten, durch die Uterusmuskulatur zusammengepreßten Endometriums), oder durch Adhäsion der Uterusschleimhaut. Die Eröffnung des Uterus, eine andere gebräuchliche Methode, die frühe menschliche Frucht zu erhalten, würde ebenfalls ein muskuläres Ergreifen der Blastula nicht erkennen lassen und unter Umständen eine nur schwach befestigte Blastula vom Epithel, oder leicht anhaftende Überreste der Zona pellucida von der Blastula entfernen. Die Notwendigkeit, weitere Untersuchungsmethoden zu entwickeln, ist ein Grund, um diese Frage an Laboratoriumstieren zu studieren.

Man kann hoffen, daß das Fehlen unmittelbarer Kenntnis der Vorgänge beim Menschen mittelbar durch Tierexperimente ausgeglichen werden kann. Über die vergleichende Anatomie der Implantation und Placentabildung liegen zahlreiche Arbeiten vor (Literatur s. bei MOSSMAN 1937, AMOROSO 1952). Untersuchungen anderer Tiere, besonders Primaten, könnten zu einer besseren Kenntnis der Vorgänge beim Menschen führen.

* The author wishes to thank Dr. M. v. BUBNOFF, I. Med. Klinik der Univ., München, for careful translation and Dr. J. D. EBERT, Director, Carnegie Institution of Washington, Department of Embryology, for forthright criticism of the manuscript accompanied by encouragement to retain certain aspects about which there was disagreement.

** Im englischen Original „blastocyst“. „Blastocyst“ schließt auch die weitere Entwicklung zur Gastrula mit ein, ist also umfassender als das deutsche Wort „Blastula“. „Blastula“ gilt daher streng genommen nur für die ersten Stadien des „blastocyst“ und ist als Übersetzung nicht ganz korrekt (Anm. d. Übers.).