

Physiology. — *Over den biologischen grondslag van het handhavende effect van testosteron op de zaadkanaaltjes.* By J. H. GAARENSTROOM and S. E. DE JONGH. (From the pharmacological department, University of Leiden, Holland. Director: Prof. S. E. DE JONGH.) (Communicated by Prof. J. VAN DER HOEVE.)

(Communicated at the meeting of September 26, 1942.)

De door WALSH e.a. ontdekte werking van testosteron (propionaat) op de testes van hyp. looze dieren, t.w. het in stand houden van hun omvang en histologische bouw, was het onderwerp van een aantal onderzoeken in ons laboratorium op versch. gehypophysectomeerde ratten (GAARENSTROOM en DE JONGH, 1941; GAARENSTROOM, 1941; GAARENSTROOM en DE JONGH 1942).

Wij toonden daarbij aan, dat het effect alleen de testikelkanaaltjes betreft en niet het weefsel van LEYDIG. Verder vonden wij, dat het inderdaad tot handhaving beperkt is en dus niet op één lijn te stellen met de werking van bepaalde gonadotrope hormoonpreparaten¹⁾, afkomstig uit hypophysen, welke de testikelkanaaltjes, en daarmee den geheelen testis, aanzienlijk kunnen doen groeien. Andere gonadotrope preparaten, bijv. die welke afkomstig zijn uit urine van zwangeren, veroorzaken bij de hyp. looze rat uitsluitend een sterke ontwikkeling van het weefsel van LEYDIG (zonder echter merkbaren testisgroei te geven) en dientengevolge productie van veel mannelijk hormoon. Wij maakten aannemelijk, dat de groote ondersteuning, die van deze preparaten uitgaat, wat betreft de groeibevorderende werking op de testikelkanaaltjes van eerstgenoemde, terug te voeren is op de testosteronproductie, die plaatselijk in den testis het peil, dat nodig is voor handhaving van den ontwikkelingsgraad der testikelkanaaltjes, bereikt.

Elk formatief hormoon, gelijk in ons geval de hypophysaire gonadotrope preparaten, vergroot de organen waarop het inwerkt des te moeizamer naarmate zij reeds omvangrijker zijn: hoe grooter zulk een orgaan is, des te belangrijker fractie van de totale hormoon-dosis noodig is voor het handhaven van den reeds bereikten groei. Bij frequente herhaling van eenzelfde dosis stelt het orgaan zich uiteindelijk in op een bij die dosis behoorenden maximum omvang, waarbij telkens de volle dagdosis voor handhaving wordt gebruikt. In dit licht gezien is begrijpelijk, dat toevoeging van een stof, die deze handhaving kan verzekeren, de taak van een formatief hormoon aanmerkelijk kan ontlasten; de geheele dagdosis van laatstgenoemde stof kan in zoo'n geval groeibevorderend werken.

Uit het bovenstaande blijkt, dat de testikelhandhavende werking van testosteron van beteekenis is voor de *physiologie* (normale ontwikkeling van de testes, onder invloed van lichaamseigen gonadotrope hormonen) en voor de *pharmacotherapie* (vergrooting van klein gebleven testikels met behulp van hormoonpreparaten). Het is dus begrijpelijk, dat wij gezocht hebben naar een aannemelijke verklaring van een verschijnsel, dat bij ons weten in de endocrinologie noch daarbuiten zijn analogon heeft: het groot *houden* van een orgaan zonder de mogelijkheid om het, indien nog klein, groot te *maken*.

Allereerst scheen het zaak dit feit nauwkeurig vast te stellen. Gelijk uit bijgaande tabel I blijkt kan testosteron inderdaad bij ratten van allerlei leeftijd, en dus van uiteenlopend testisgewicht, dit laatste handhaven na hypophysectomie. *Maar een dosis, die een testikel van ca. 1100 mg handhaaft brengt één van 100 mg niet duidelijk tot groeien.*

Somtijds is er een verschil van eenige tientallen milligrammen ten gunste van den tweeden testikel. Dit is uitsluitend het geval bij die dieren (gemerkt met 0) waarbij de

¹⁾ Wij vermijden in dit artikel doelbewust om in te gaan op de theorie van de gonadotrope hormonen. Het is voor ons huidig doel onverschillig, of de hypophyse meer dan één gonadotrope stof met onderling verschillende werkingen afscheidt, dan wel één met meer dan één potentie.

TABEL I. Testisgewicht (mgr.) van hypophyselooze ratten, gedurende 14—28 dagen behandeld met verschillende doses testosteron-propionaat (één testis vóór de behandeling weggenomen).

$\frac{1}{2}$ mgr. test. propionaat			1 mgr. test. propionaat			2 mgr. test. propionaat		
Gew. rat (gr.)	vóór behandel.	nà behandel.	Gew. rat (gr.)	vóór behandel.	nà behandel.	Gew. rat (gr.)	vóór behandel.	nà behandel.
69	65 ¹	76	54	137 ¹	114	80	48 ³	57
74	78 ¹	74	61	150 ¹	153	80	50 ³	33
52	92 ¹	79	71	212 ⁰	201	68	65 ³	71
51	111 ¹	93	80	256 ⁰	232	79	76 ³	78
48	114 ¹	78	73	353 ⁰	420	78	82 ³	88
49	143 ¹	124	70	367 ⁰	440	85	89 ³	71
50	144 ¹	126	56	371 ⁰	430	99	142 ³	115
58	145 ¹	110	57	410 ⁰	450	69	198 ¹	180
55	150 ¹	153	55	415 ⁰	490	72	230 ¹	183
64	153 ¹	147	85	420 ⁰	595	74	256 ¹	252
59	157 ¹	167	101	450 ⁰	520			
63	233 ¹	255	81	500 ⁰	520			
61	240 ¹	222	105	500 ⁰	550			
67	240 ¹	179	72	530 ⁰	530			
55	261 ¹	246	71	560 ⁰	640			
70	290 ¹	234	103	580 ⁰	690			
152	760 ^{1*}	755	104	670 ⁰	750			
150	965 ^{1*}	800	173	880 ⁰	960			
155	1050 ^{1*}	875	179	1120 ⁰	1030			
145	1060 ^{1*}	600	185	1180 ⁰	1120			
182	1110 ^{1*}	900						
158	1250 ^{1*}	990						
183	1250 ^{1*}	1050						

¹) Eén testis (de rechter) weggenomen op den dag van de hypophysectomie, begin der behandeling één dag later.

⁰) Eén testis weggenomen op den dag van de hypophysectomie, begin der behandeling direct daarna.

³) Eén testis weggenomen op den 3en dag na hypophysectomie, begin der behandeling direct daarna. De testes van deze dieren waren zeer klein, desondanks reageerden zij op gonadotroop hormoon met sterken groei, het uitblijven van gewichtstoename na testosteron-behandeling is dus niet te wijten aan een onmogelijkheid om te groeien.

*) Deze dieren kregen niet 0.5 maar 0.6 mgr. test. propionaat.

behandeling begonnen werd op den dag der hypophysectomie, zoodat wij hechten aan de beteekenis van restanten hypophysehormoon, wier effect door testosteron versterkt wordt. Inderdaad blijft deze groei niet slechts uit bij de dieren (gemerkt met 1) bij wie één dag ligt tusschen het wegnemen van hypophyse + rechter testikel en het begin der inspuitingen, doch ook bij de met 3 aangeduide ratten, waarbij drie dagen na de hyp. ectomie de semicastratie plaats vond en met de inspuitingen werd aangevangen (GAARENSTROOM en DE JONGH (1942).

Ook echter indien men aan de eenige tientallen milligrammen toename, die somtijds werden waargenomen, reële beteekenis wil toekennen, dan treft toch in de allereerste plaats dat een dosis testosteron, die een *grooten* testikel kan handhaven, niet in staat is om een kleinen testis noemenswaard te vergrooten. Behalve in groeipotentie schiet echter het testikelepitheel van hypophyselooze met testosteron behandelde ratten in *niets* te kort; de dieren kunnen zelfs bevruchten. Deze contrasten zijn het, die om opheldering vragen.

Indien wij tegenover het nieuwe verschijnsel van handhaven zonder groeipotentie een objectief standpunt innemen, dan moeten wij twee voor de hand liggende mogelijkheden erkennen. De ééne veronderstelt het instellen van alle reeds vóór de hyp. ectomie in gang

zijnde *processen* op een zoodanig tempo, dat een momentopname op elk oogenblik het beeld van vóór de operatie blijft opleveren. Zou b.v. de nieuwvorming van celmateriaal verminderd zijn, dan moet het celversterf daaraan evenredig zijn afgenomen. Testosteron zou dan, oogenschijnlijk toevallig, er steeds juist in slagen om, na de in allerlei fasen van testikelgroei verrichte hyp. ectomie, een toestand te scheppen, waarbij geboorte en sterfte van cellen tegen elkaar zijn uitgebalanceerd. Men kan zich dit echter slechts voorstellen met een voor elken testisomvang afzonderlijke dosis, waarvan de overschrijding groei ten gevolge heeft. De *logica* verzet zich tegen het *dynamisch* beschouwen der handhaving.

De tweede mogelijkheid is, dat de histologische beelden in zooverre bedriegelijk zijn, dat alle na de hypophysectomie schijnbaar voortgaande processen in werkelijkheid zijn gestopt en dat testosteron de atrophie slechts tegenhoudt, door het achterwege blijven van spontaan versterf: het zou dan de *toestand* waarin de operateur den testis achterliet zijn, die door testosteron wordt gehandhaafd. Logisch is hiertegen geen bezwaar. Het geeft echter te denken, dat wij er in slaagden met testosteron testikels, zij het niet geheel volledig, te handhaven gedurende niet minder dan 11 weken (zie tabel II). Ook is het aantreffen

TABEL II. Testisgewicht van hypophyseloze ratten van den dag na hypophysectomie af behandeld met 1 mgr. testosteronpropionaat per dag.

Nummer rat	Gewicht rat (gr.)	Gewicht testis ¹⁾ (mgr.)		Duur behandeling (dagen)
		vóór behandeling	nà behandeling	
R 819	185	1180	1120	28
822	173	880	960	28
824	179	1120	1030	28
821	176	1150	900	56
823	175	1180	980	56
827	153	855	700	56
825	164	805	820	76
826	162	1105	855	76
828	164	1050	820	76

¹⁾ Eén testis (de rechter) werd altijd verwijderd gelijktijdig met de hypophysectomie.

van kerndeelingen, niet slechts, gelijk bij onbehandelde hypophyseloze dieren, in de peripherie, doch ook in de meer centraal gelegen verder gedifferentieerde cellen, een duidelijke aanwijzing, dat de processen *niet* stilstaan. De gedachte aan een *statische* handhaving moet men prijsgeven, tenzij men zou willen denken aan een soort van histologische fixatie tijdens het leven, die ook de mitosen zou omvatten, doch waarmede men zich o.i. zou begeven op het gebied van een *biologische* ongerijmdheid. Na aldus de twee primaire mogelijkheden op logische resp. biologische gronden te hebben verworpen, blijft ons slechts over te zoeken naar een meer ingewikkelde, minder voor de hand liggende verklaringwijze. Gelijk uit het volgende moge blijken, meenen wij er in geslaagd te zijn de eischen van de logica en van de biologie beide te eerbiedigen door den omvang van het door testosteron middellijk of onmiddellijk gehandhaafde proces, de spermatogenese, naar boven toe in gedachten te limiteeren door een *toestand*, n.l. den op het moment der hypophysectomie bestaanden omvang van de testikelkanaaltjes.

Wij meenen namelijk een bron voor een hypothese te hebben gevonden in het van zelf sprekende feit, dat groei van de testes (lees: van zijn kanaaltjes) niet wel mogelijk is zonder vermeerdering van het aantal randcellen in die kanaaltjes. De deeling van zulk een randcel geeft aanleiding tot radiaire opschuiving in de bijbehorende celzuil — die van buiten naar binnen alle overgangen kan vertegenwoordigen tusschen spermatogoniën en rijpe spermiën — doordat één der beide dochtercellen daarin wordt opgenomen. De andere dochtercel erft blijkbaar de deelpotentie der moedercel. Voor groei is noodig, dat *beide* dochtercellen deelpotentie krijgen. Groeibevorderende stoffen (gelijk hypophysaire gonadotrope hormoonpreparaten) *verleenen* dus op een of andere directe of indirecte wijze

een *deel-potentie aan de tweede dochtercel*. Hieruit is af te leiden dat de goed „gehandhaafde” testikel van een met testosteron behandelde hypophyselooze rat een wat de kanaaltjes betreft geheel volwaardig orgaan moet zijn, echter kennelijk zonder het vermogen van de „tweede-dochtercel” om zich te deelen. Daardoor kan het aantal zich deelende spermatogoniën nooit grooter worden dan het tevoren reeds was, of kon zijn, en is groei, voorzover deze niet bestaat in het grooter worden van cellen, dus uitgesloten. Dit laatste blijkt echter bij histologisch onderzoek niet.

Ten overvloedige hebben wij in een groot aantal testikelkanaaltjes van verschillend behandelde ratten tellingen verricht van de randcellen en metingen van de kanaaltjesdoorsnede. De daadwerkelijke structuur der testikels beantwoordt in de praktijk niet zoodanig aan de algemeene aanvaarde schemata, dat de verworven getallen geheel betrouwbaar kunnen zijn. Ook moet de lezer zonder bewijsvoering gelooven, dat de gekozen kanaaltjes qua omvang typische vertegenwoordigers waren van de testikels waarin zij werden aangetroffen! Uit het materiaal blijkt desondanks dat de verhouding aantal randcellen : kanaaltjesdoorsnede niet belangrijk schommelt, zoodat het groote verschil in gewicht der testikels op geen stukken na te verklaren kan zijn uit verschil in *celgrootte*. (Zie tabel III.)

TABEL III. Vergelijking tusschen testisgewicht, doorsnede zaadkanaaltjes en aantal randcellen in die kanaaltjes, bij hypophyselooze ratten, behandeld met testosteronpropionaat en hypophysair gonadotroop hormoon.

Aantal ratten	Aanvangsgewicht rat (uitersten) (gr)	Behandeling (gedurende 18 dagen) dagel. dosis	Aantal getelde zaadkanaaltjes per testis	Gem. doorsn. zaadkan. ¹⁾	Gem. aantal randcellen	Gem. testis gew. (mgr.)	
4	84—110	0.2 cc olijfolie	10 10	60 36	79 48	570 129	vóór behandeling nà behandeling
4	101—105	1 mgr. test. propionaat	10 10	59 67	81 81	550 630	vóór behandeling nà behandeling
4	94—111	5 R.E. ambinon ²⁾	10 10	58 73	77 91	560 919	vóór behandeling nà behandeling

¹⁾ Relatieve maten.

²⁾ Gonadotroop-thyreotroop preparaat uit hypophysen bereid (N.V. Organon, Oss).

Daarentegen bestaat een merkwaardige correlatie tusschen de testikelgrootte en de gem. tubulusdoorsnede, resp. het gem. aantal randcellen gelijk uit het volgende blijkt:

	Contrôle-ratten	Testost. ratten	Ambinonratten
Tub. doorsnede	1	1.9	2.0
Aantal randcellen	1	1.7	1.9
testisgewicht	1	1.7	1.9

Bij al de in tabel III vermelde dieren werd op den dag der hyp. ectomie met de inspuitingen begonnen, zoodat met testosteron een zekere testisgroei mogelijk was. Inderdaad bedragen de gemiddelde gewichten der testes voor en na de behandeling 550 mg en 630 mg. Deze geringe gewichtsvermeerdering van de testis der testosterondieren in deze proef t.o.v. hun eigen vóór de proef uitgenomen contrólertestikel, kan teruggevoerd worden tot een verandering in *celgrootte* (gelijkgebleven aantal randcellen bij toegenomen tubulusdoorsnede). Voor de grovere gewichtsverschillen tusschen de testikels der afzonderlijke diergroepen is deze factor kennelijk te verwaarloozen.

Met dit alles zijn de positieve werkingen van testosteron geenszins opgehelderd, *doch het uitblijven van groei biedt geen moeilijkheid meer*. Gaan wij thans wat nader in op de feiten, die om verklaring vragen.

Indien een rat gehypophysectomeerd wordt, valt met de groeibevorderende werking van het hyp. hormoon ook de prikkel tot het maken van testosteron weg. De testikelkanaaltjes houden nu niet slechts op te groeien, doch worden zelfs veel kleiner, en het aantal cellagen van hun inhoud neemt af. Het is duidelijk dat de sterfte van hun cellen

den aanmaak overtreft. De spermatogoniën aan de peripherie gaan echter, gelijk door verschillende onderzoekers, waaronder wijzelf, is opgemerkt, door met zich te delen. Het aantal mitosen is t.o.v. normale of met hormonen behandelde dieren niet verminderd. Het onderscheid in kanaaltjesgrootte moet dus liggen aan de vergrootte sterfte. Aangezien geen redenen bestaan om aan te nemen, dat de laatst ontstane cellen het eerst sterven, zullen de zuilen van binnen naar buiten worden ingekort. Het kleiner worden der kanaaltjesdoorsneden moet dan berusten op een aanpassing van hun omtrek aan den verminderden inhoud.

Hierbij moeten spermatogoniën met deelpotentie van den rand worden weggedrongen, waarop wij straks terugkomen.

De atrophie is dus terug te brengen tot een vermindering van levensvatbaarheid; de opvatting ligt derhalve voor het grijpen, dat *de verhindering dezer atrophie en het hoogblijven der celzuilen door testosteron op een vergroting van den levensduur der deelingsproducten van de zich ahormonaal deelende spermatogoniën berust*. Doordat alle kanaaltjes hun omvang door testosteron bewaren, blijft het gewicht van den ganschen testikel ten naaste bij constant. Testosteron handhaaft echter niet alleen het testikelgewicht (celzuilen van groote hoogte) het doet ook de spermatogenese voortduren, d.w.z. de metamorphose, die de cellen op elke hoogte van de zuil van elkaar doet verschillen, gaat door. Moet men daartoe een afzonderlijken prikkel, uitgaande van testosteron, aannemen? Uit een oogpunt van redeneering is dat overbodig: het is duidelijk dat een dergelijke herhaalde metamorphose (inclusief reductie-deeling!) tijd kost en slechts plaats kan vinden bij voldoende levensduur van het celmateriaal. Zijn de zuilen kort, gelijk bij het dier waarbij de hyp. eenigen tijd geleden verwijderd is, dan moet de spermatogenese uitblijven ook al zou de potentie ertoe aanwezig zijn. Zijn de zuilen lang genoeg, dan kan de anders sluimerende potentie zich uiten. Er zijn nu bovendien praktische aanwijzingen, dat de spermatogenese ahormonaal verloopt. Zeker weten wij dit van haar allereerste phase, nl. de deeling der spermatogoniën. Vermoeden doen wij het van volgende stadia, aangezien testosteron aan *kleine* hyp. looze testikels geen spermatogenese kan *verschaffen*. Opmerking verdient overigens, dat geen enkele hormoonbehandeling ooit in staat is gebleken *overhaaste* spermatogenese te geven. Niet slechts beneden een bepaalden kanaaltjesomvang blijft spermatogenese uit; ook indien (bij ratten) tengevolge van hormoon-toediening een zekere omvang in geforceerd tempo bereikt wordt, blijft de graad van spermatogenese bij dien omvang ten achter (MOORE).

De spermatogenese kan dus in het algemeen, bij voldoende beschikbaren tijd, opgevat worden als een *functie* van de celzuilhoogte, die geen afzonderlijke hormonale prikkel behoeft. Een voldoende zuilhoogte wordt echter slechts bereikt wanneer eenerzijds de levensduur der cellen groot genoeg is om de producten van eenige achtereenvolgende deelingen tegelijkertijd in leven te doen zijn, anderzijds de doorsnede der kanaaltjes (en dus de omtrek!) groot genoeg is om dergelijke groote zuilen te herbergen!

Er volgt hieruit dat *testosteron*, voor spermatogenese slechts dan toereikend is, indien de benodigde ruimtelijke verhoudingen (en daarmee de spermatogenese zelf) tevoren reeds bestonden. Is dit niet het geval dan kan de benodigde groote doorsnede (omtrek) der kanaaltjes slechts verschaft worden door hyp. hormoon. De groei van den testis, welke op den duur een toenemende spermatogenese waarborgt, is dus afhankelijk van twee condities: voldoende levensduur der cellen en voldoende toeneming van het aantal cellen met deelpotentie. Dat houdt in, dat hypophysehormoon door het verleen van deelpotentie *alléén* geen groote testikels kan doen ontstaan. De gebruikelijke preparaten hebben echter alle in meerdere of mindere mate ook het vermogen de testes tot testosteronproductie aan te zetten.

Wij missen alle zekerheid, dat een van deze capaciteit bevrijd hypoph. preparaat nog eenigen testisgroei zou kunnen geven. Wel zijn er redenen om te vermoeden dat de zichtbare werkingen van een hyp. preparaat op de testikelkanaaltjes uitermate gering zijn bij armoede aan dat, wat volgens de meeste onderzoekers als een afzonderlijke component wordt opgevat: het hormoon dat de functie van de cellen van LEYDIG aanzet.

Veronderstellen wij dus, dat testosteron aan de spermatogenetische elementen slechts een langeren levensduur verschafft dan waarover zij spontaan beschikken (ze dus in hun wezen „handhaaft”) dan zijn de gevolgen — even zoovele verschillen t.o.v. de aan zijn lot overgelaten hypophyseloze rat — onder meer:

1. De zuilen blijven zoo lang als de, door den omtrek der kanaaltjes bepaalde, beschikbare ruimte toelaat.
2. De omtrek blijft constant, daar de centrifugaal verloopende atrophie uitblijft en dientengevolge elke reden, waarom het aantal randcellen zou verminderen, ontbreekt.
3. De spermatogenese kan (ahormonaal) voort blijven gaan op het bestaande peil.
4. Een beperkte groei van den testis is slechts mogelijk voor zoover de kanaaltjes de door de tevoren aanwezige cellen met deelpotentie geboden mogelijkheden niet zouden hebben uitgebuit.

Dit laatste is het geval indien de rat vóór de hypophysectomie een relatief te kort zou hebben gehad aan de stof, die de cellen van LEYDIG aanzet. Dan was de hoeveelheid beschikbaar testosteron niet in harmonie met de deelpotentie der spermatogoniën; de zuilen zouden relatief kort gebleven zijn, de omtrek zou zich daaraan hebben aangepast; er zouden cellen met deelpotentie, in niet randstandige posities zijn terechtgekomen.

Wij nemen dus aan, dat het maximum *aantal* celzuilen wordt bepaald door het aantal spermatogoniën met deelpotentie, de maximum *hoogte* der zuilen (en daarmee de meest vergevorderde fase der spermatogenese) door den levensduur der testikelementen. Eerstgenoemd maximum kan echter niet worden bereikt als de zuilhoogte gering blijft, het tweede indien de door den kanaaltjesomtrek gewaarborgde ruimte het niet toelaat. Hoe hoger de zuilen immers trachten te worden, des te meer zitten zij elkaar naar het centrum in den weg en des te nauwkeuriger zullen zij zich rangschikken met den kanaaltjesomtrek als basis. Levensduurverlenging (toediening van meer testosteron dan tevoren) heeft geen groei ten gevolge, indien de rangschikking reeds volledig basaal was.

Bij een dier dat na de hypophysectomie onbehandeld blijft, neemt het aantal cellen met deelpotentie niet langer toe, doch ook niet af. Verder worden de zuilen korter en de inhoud der kanaaltjes geringer, naar wij veronderstellen door verkorting van den levensduur der cellen. De atrofie is dus centrifugaal, want de centrale cellen hebben het langst geleefd en zijn daardoor het meest tot afsterven geneigd. De omtrek past zich mechanisch aan bij den geringen inhoud, *waarbij onvermijdelijk spermatogoniën met deelingspotentie van den rand weggedrongen worden*. Hierdoor wordt de eenige mogelijkheid geschapen voor een *niet onbelangrijken testisgroei door testosteron*: verlengde levensduur der cellen; strekken der zuilen; spannen van den omtrek, doch wel te verstaan niet verder dan tot het op het tijdstip der hypophysectomie bereikte (of bereikbare) maximum.

En inderdaad, juist in *deze* proefopstelling kon NELSON kleine testes met testosteron vergrooten. Hij hypophysectomeerde volwassen ratten en behandelde ze na weken rust. Wij gaven er de voorkeur aan ¹⁾ zeer jeugdige ratten te opereeren en direct te behandelen, gelijk wij boven zagen met als eenig resultaat handhaving van het testisgewicht. Vóór wij de thans beschreven hypothese opstelden erkenden wij tusschen beide proefopstellingen geen wezenlijk verschil. In het licht van onze theoretische beschouwingen is dat onderscheid echter eminent. *Inderdaad slaagden wij er kort geleden in de opgaven van NELSON te bevestigen door zijn opstelling nauwkeurig te volgen!* (Zie tabel IV). De groei van de testes was in onze gevallen niet zoo belangrijk als bij NELSON en nauwelijks meer dan bijv. bij de dieren uit tabel III. Doorslaggevend voor ons was echter, dat door het lange wachten elk spoor van invloed der eigen hypophyse met zekerheid uit te sluiten is, in tegenstelling tot de proeven van tabel III, waarbij direct na de operatie werd ingespoten. Drie dagen pauze zou op grond van ons overige materiaal (zie tabel I) voldoende zijn geweest om groei uit te sluiten! Na zoo lang wachten dat een sterke atrophie der testikels

¹⁾ Bij velen is het hypophysectomeeren van *jonge* dieren een moeilijkheid; wij hebben meer last met het lang *in leven houden* van hyp.looze ratten.

TABEL IV. Groei van tevoren *geatrophieerde* testes (door een 17-daagsche pauze tusschen hypophysectomie en behandeling) bij volwassen hypophyseloze ratten, behandeld met testosteronpropionaat.

Gewicht rat (gr.)			Testis gewicht (mgr.) ¹⁾		Behandeling ²⁾ (dagelijksche dosis)
by hypophysect.	vóór behandeling	nà behandeling	vóór behandeling	nà behandeling	
244	193	215	485	545	2½ mgr. test. propion.
238	182	199	335	380	2½ " " "
248	202	202	320	380	2½ " " "
230	183	183	320	455	2½ " " "

1) Eén testis (de rechter) werd op den 1en behandelingsdag verwijderd.

2) Behandeling gedurende 20 dagen.

ontstaan was, blijkt nu weer groei door testosteron mogelijk. Deze groei is dus van anderen aard dan die uit tabel I en III.

Dat de dosis, in overeenstemming met NELSON 2½ mg per dag bedraagt en dus hooger is dan in onze vroegere proeven (maximum 2 mgr per dag) kan nauwelijks van beteekenis zijn, gezien de lichaamsgewichten der gebruikte ratten, welke veel hooger lagen dan in één van onze vroegere proeven.

De uitkomsten van deze proeven leveren ons niet alleen een aangename bevestiging van NELSON's gegevens en een bevredigende opheldering van gemis aan eenstemmigheid met een alleszins ervaren onderzoeker, doch tevens een argument ten gunste van onze opvatting.

Het blijft ons thans nog over aannemelijk te maken, dat de testikelgroei, die het gevolg is van het toedienen van hypoph. gonadotrope hormoonpreparaten aan hyp. looze ratten, versterkt kan worden door testosteron.

Welnu, genoemde gonadotrope preparaten bevatten een overmaat van de stof, die volgens de in dit artikel gehuldigde opvatting aan pas ontstane spermatogoniën deelingspotentie kan verschaffen, terwijl de stof die via de cellen van LEYDIG testosteronproductie veroorzaakt er relatief weinig in pleegt voor te komen. De niet optimale levensduur der spermatogenetische zuilcellen maakt dus, dat de kanaaltjes niet zoo groot zijn als zij op grond van hun aantal cellen met deelingspotentie konden wezen. Toevoeging van testosteron bovendien moet het groeibevorderend effect van het hyp. preparaat versterken.

Een paar mogelijke bronnen van misverstand dienen nog uit den weg geruimd te worden.

1. Indien wij de werkingen der in dit artikel genoemde hormonen omschrijven als het verleenen van deelpotentie en het verlengen van levensduur, dan worde daarmee niets geanticipeerd met betrekking tot hun werkelijke *aangrijpingspunten*. Wellicht werken de hormonen tendeele bijv. via het vaatstelsel van de testes! Bedoeld is slechts dat het ééne hormoon (het gonadotrope) *hoe dan ook* aan nieuwe cellen het vermogen verschaft zich te deelen, naast hun spontane potentie tot metamorphoseeren en dat het andere (testosteron), *onverschillig op welke wijze*, hun levensomstandigheden dusdanig verbetert, dat zij minder vlug sterven.

2. Wanneer in het bovenstaande van bepaalde processen (deeling van spermatogoniën die reeds deelingspotentie bezitten, spermatogenetische metamorphose en bijbehorende reductie-deeling) wordt aangenomen dat ze „ahormonaal” verlopen, heeft dit in de eerste plaats uitsluitend betrekking op de hier ter sprake gebrachte hormonen. Een eventuele beteekenis van schildklier, bijnier of welke andere klier dan ook voor deze processen kwam niet in discussie. Verder bedoelen wij met den term „ahormonaal” niet meer dan dat wij een hormonalen invloed *voor ons betoog*, dus ter wille van het leveren van een sluitende voorstelling, niet noodig hebben. Het betreft hier dus slechts een geval van denk-economie. Wij kunnen ons voorstellen dat genoemde hormonen in de toekomst ook nog voor onze beschouwingswijze niet noodzakelijke, doch eventueel daarmede wel vereenig-bare, andere werkingen zullen blijken te hebben.

Tenslotte laten wij een schematisch overzicht volgen, dat aan moet duiden, hoe wij ons het beeld van testikels van op verschillende wijze behandelde ratten voorstellen en waarin vele van bovenstaande beschouwingen samengevat tot uiting komen.

I. *Rat na hyp. ectomie; onbehandeld:*

Opschuiving van cellen door deeling van spermatogoniën. Levensduur dezer cellen uiterst beperkt. Tempo afsterven overtreft tempo opschuiving. Centrifugale verkorting der spermatogenetische zuilen en daarmee teruglopen van den differentiatiegraad der cellen. Aanpassing aan het geringere celmateriaal door omtrekbeperking. Onvermogen om het aantal cellen met deelpotentie te doen toenemen.

Eindtoestand: kleine kanaaltjes, waarin niet alle cellen met deelpotentie randstandig zijn.

II. *Idem, behandeld met testosteron:*

Opschuiving door deeling als boven. Levensduur normaal of maximaal (afh. van dosis). Gelijkblijven in lengte der spermatogenetische zuilen of zelfs verlenging, zoolang de afmetingen van het kanaaltje dit toestaan. Behoud of geringe verbetering van spermatog. differentiatiegraad. Onvermogen om het aantal cellen met deelpotentie te verhoogen; geen vergroting van eenige beteekenis der kanaaltjes. Eindtoestand: kanaaltjes even groot of iets grooter dan vóór operatie; alle cellen met deelpotentie randstandig.

[III. a. *Idem, behandeld met de zuivere hypophysaire fractie die het kanaaltjesepitheel prikkelt (theoretisch geval).* Nagenoeg als I behoudens vermogen om aantal cellen met deelpotentie te doen toenemen. Uit gebrek aan levensvatbaarheid dezer cellen blijft dit vermogen nagenoeg zonder invloed.

Eindtoestand: kleine kanaaltjes met zeer veel cellen met deelpotentie.]

b. *Idem, behandeld met de gebruikelijke hyp. extracten die naast den kanaaltjes aanzettenden factor ook min of meer bevatten van den factor, die via de Leydigische cellen de testosteronproductie aanzet.*

Opschuiving door deeling. Matig behoud van levensduur, waardoor behoud van spermatogenese. Sterke vermeerdering van het aantal cellen met deelpotentie.

Eindtoestand (afhankelijk van relatieve hoeveelheid eigengemaakt testosteron): ongeveer handhaving of zelfs flinken groei der kanaaltjes, met goede spermatogenese.

IV. *Idem, behandeld met testosteron en een gebruikelijk hypoph. extract.*

Opschuiving door deeling. Maximale levensduur en toenemen der cellen met deelpotentie waarborgen tezamen volledig ontwikkelde spermatogenetische zuilen. Alle cellen met deelpotentie randstandig.

Eindtoestand: kanaaltjesomvang maximaal, na groei in maximaal tempo.

Summary.

1. Testosterone is able to maintain the weights of the testes of freshly hyp. ectomized rats, independent of their original weights.
2. Testosterone can only enlarge testicles, when given a few weeks after the hypoph. ectomy, to animals which already had large testes.
3. The testicular weight can be maintained for 11 weeks.
4. On maintenance of the testicle weights through testosterone, as with the growth of the testes through hyp. hormone, the proportion between the diameter of the canals and the number of their circumferential spermatogonia is unchanged.
5. On the ground of these facts and of others, known before a working hypothesis is drawn up of the difference between maintenance and growth of testicles.

LITERATUUR.

- E. L. WALSH, W. K. CUYLER en D. R. MC. CULLAGH, *Amer. J. Physiol.* **107**, 508 (1934).
 J. H. GAARENSTROOM, *Arch. intern. pharmac. et théor.* **66**, 121 (1941).
 J. H. GAARENSTROOM en S. E. DE JONGH, *Arch. intern. pharmac. et théor.* **65**, 206 (1941);
Acta brev. neerl. **12**, 73 (1942).
 C. R. MOORE, *Amer. J. Anat.* **59**, 63 (1936).
 W. O. NELSON, *Anat. Rec.* **79**, abstr. 48 (1941).