

2° L'action préalable de l'iodacétamide sur du fibrinogène purifié suivant la technique indiquée par LYONS (fibrinogène A) empêche totalement sa coagulation par la thrombine. La thrombine est obtenue par l'action de la thromboplastine en présence d'ions Ca sur de la prothrombine préparée suivant la méthode de FERGUSON¹.

3° Le fibrinogène A de LYONS, exposé durant quelques minutes en couche mince à des vapeurs de chloropicrine coagule en un gel délicat formé d'un enchevêtrement de fibrilles de fibrine ainsi que le montre l'observation à l'ultramicroscope.

Ces résultats indiquent que les effets observés sur le plasma entier manifestent des influences s'exerçant directement sur le fibrinogène. Ils s'expliquent parfaitement dans le cadre de la théorie de LYONS si nous admettons que les agents inhibiteurs de la coagulation donnent avec les -SH du fibrinogène des composés de substitution et empêchent ainsi la formation de ponts -S-S- entre les molécules alors que la chloropicrine provoque au contraire l'apparition de ces ponts en réagissant avec les -SH libres du fibrinogène tout comme le ferait suivant LYONS la 2-méthyl-1:4-naphtoquinone.

R. JEENER

Laboratoire de physiologie animale, Université de Bruxelles, le 10 avril 1947.

Summary

Coagulation of hen's blood plasma is inhibited by iodacetamid, dichloroethyl sulfide and sulfone, maleic acid; it is accelerated by chloropicrin. The inhibitory action is probably due to the formation of substitution products by reactions between the inhibiting agent and the -SH groups of the fibrinogen. The coagulating action is probably due to the formation of -S-S-bridges between molecules.

¹ J. H. FERGUSON, J. Lab. clin. Med. 24, 273 (1939).

Sur la synthèse de l'aneurine par le bacille tuberculeux¹

Le bacille tuberculeux est autotrophe pour de nombreuses vitamines. Il synthétise la riboflavine^{2,4}, l'acide *p*-aminobenzoïque^{3,4}, l'acide pantothénique⁴, l'acide nicotinique⁴, la biotine^{4,5}, la vitamine K⁶, les facteurs B₁₀ et B₁₁⁷ et la vitamine Bc⁴.

Notre étude a porté sur la recherche et le dosage de l'aneurine dans les filtrats de cultures de bacilles tuber-

culeux (humains, bovins, aviaires) et BCG sur milieu synthétique de SAUTON.

Pour éviter toute destruction d'aneurine par autoclavage, nos premières recherches ont été faites sur des filtrats non autoclavés de cultures âgées de quatre à huit semaines, de plusieurs souches de bacilles tuberculeux par le test au thiochrome. Pour enlever des filtrats les substances (riboflavine et autres) dont la fluorescence pouvait gêner la lecture de la fluorescence bleue du thiochrome, nous nous sommes servis de la méthode de KOFLER et STERNBACH¹. Nous avons pu constater dans tous les cas la présence d'aneurine.

Nous avons également employé la méthode de SCHOPFER à l'aide du test *Phycomyces blakesleeanus*, qui nous permettait d'opérer sur des filtrats autoclavés².

Nous avons opéré sur les milieux de cultures de quatre souches de bacilles, à savoir: une souche de bacilles tuberculeux humains (souche virulente A 582 du Centre de Collection de types microbiens de l'Institut de bactériologie de Lausanne), une souche de bacilles bovins (virulents, souche Vallée), une souche de bacilles aviaires (A 17, Institut Pasteur, Paris) et une souche de BCG (Institut Pasteur, Paris), ensemencées huit semaines auparavant dans des ballons contenant chacun 200 cm³ de milieu synthétique de SAUTON. Après avoir séparé par filtration (sur filtre taré) les bacilles que nous avons ensuite lavés, tués par autoclavage, séchés et pesés, nous avons déterminé les quantités de filtrats dont nous avons ajouté pour chacun d'entre eux des doses croissantes (0,1; 0,5; 1; 2; 3; 4 cm³) dans des Erlenmeyers de 150 cm³ en verre d'Éna, contenant chacun 25 cm³ de milieu synthétique de SCHOPFER.

Après stérilisation, à 115° C pendant 20 minutes, chaque flacon reçoit 0,1 cm³ d'une suspension lavée de spores. Dix jours après, les thalles sont récoltées, deséchées à 100° C et pesées.

Voici les résultats que nous avons obtenus:

Souches	humaine A 582	bovine Vallée	aviaire A 17	BCG
Poids des bacilles secs	1,56 g	1,94 g	1,87 g	0,82 g
Taux d'aneurine en γ /cm ³ de filtrat	0,22 g	0,15 g	0,20 g	0,05 g
Taux d'aneurine dans le filtrat total en γ	30,3 g	18,6 g	27,6 g	6,35 g
Taux d'aneurine en γ , rapporté à 1 g de bacilles secs . .	19,45 g	10,04 g	14,75 g	7,75 g

Ce tableau montre la teneur en aneurine des filtrats de cultures âgées de huit semaines, de trois souches de bacilles tuberculeux et une souche de BCG. Le maximum est obtenu pour la souche humaine A 582.

Au moment de terminer la rédaction de ce travail nous prenons connaissance d'une publication de HILDA POPE et D. T. SMITH (Am. Rev. Tuberculosis 54, 559 (déc. 1946) où ces auteurs ont dosé l'aneu-

¹ M. KOFLER et L. STERNBACH, Helv. chim. acta 24, 1014 (1941).

² Nous remercions M. le Prof. SCHOPFER qui a bien voulu mettre à notre disposition une souche de *Phycomyces blakesleeanus*. Nous sommes redevables des substances biochimiques utilisées à la Maison F. Hoffmann-La Roche & Cie S.A. (Bâle).

¹ Travail (de l'Institut de bactériologie et d'hygiène de la Faculté de médecine de Lausanne [Directeur: Prof. Dr. P. Hauduroy]) subventionné par le Fonds d'études Roche (Bâle).

² C. H. BOISSEvain, W. F. DREA et H. W. SCHULTZ, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 39, 481-483 (1938). - F. ROHNER et F. ROULET, Bioch. Z. 300, 148-152 (1939). - H. R. STREET et R. E. REEVES, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 44, 641-644 (1940).

³ M. LANDY, N. W. LARKUM et E. J. OSWALD, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 52, 338-341 (1943). - T. EKSTRAND et B. SJÖGREN, Nature 156, 476 (1945).

⁴ H. R. BIRD, Nature 159, 33 (1947).

⁵ M. LANDY et D. M. DICKEN, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 46, 449 (1941).

⁶ H. J. ALMQUIST, C. F. PENTLER et E. MECCHI, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 38, 336 (1938).

⁷ R. C. MILLS, G. M. BRIGGS, jr., T. D. LUCKEY et C. A. ELVEHJEM, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 56, 240 (1944).

rine dans les filtrats de culture de bacilles tuberculeux humains et bovins à l'aide du *Lactobacillus fermentum* 36.

A. LUTZ

Institut de bactériologie et d'hygiène de la Faculté de médecine, Lausanne, le 21 avril 1947.

Summary

The tubercle bacillus of the human, bovine, and avian types and the BCG synthesizes aneurine, which diffuses into the cultural medium (synthetic medium of SAUTON), in which we have determined it by means of the Phycomyces test.

Aufhebung der Thermothyrin-A-Sekretion der Schilddrüse durch Fütterung mit Methylthiouracil

In früheren Arbeiten¹ hatte ich zeigen können, daß die Wärmetoleranz von thyreoidektomierten Tieren (Meerschweinchen und Kaninchen) bedeutend eingeschränkt ist. Geraten solche Tiere in ein Milieu von ungewohnt hoher Temperatur (Thermostat von 34–35° C), so steigt ihre Körpertemperatur schneller und höher als die der normalen Kontrolltiere. Eine zahlenmäßige Auswertung der Hyperthermie geschah mit Hilfe der sogenannten «Zeit-Wärme-Flächen», die man durch planimetrisches Ausmessen der Temperaturkurven erhält. Die Differenzen sind statistisch berechnet hoch signifikant.

Die herabgesetzte Wärmetoleranz, nach Entfernung der Schilddrüse, wird durch Verabreichung von Thyroxin weder zum Verschwinden gebracht noch gebessert – im Gegenteil, die mit Thyroxin behandelten schilddrüsenlosen Tiere ertragen die Überhitzung noch schlechter. Deshalb betrachten wir das Ergebnis dieser Versuche als eine Ausfallerscheinung des einen der beiden thyroxinantagonistischen Schilddrüsenhormone, des *Thermothyrens A* («Kühlhormon» MANSFELDS), das bekanntlich dann ausgeschüttet wird, wenn der Organismus der Gefahr einer Überhitzung ausgesetzt ist und die oxydativen Prozesse im Interesse der Wärmeregulation herabzusetzen vermag².

In denselben Arbeiten¹ habe ich auch gezeigt, daß Tiere, die eine Zeitlang mit Methylthiouracil gefüttert wurden, in Überwärmungsversuchen ebenfalls leichter und höher überhitzt werden als die Kontrollen, sie benehmen sich also bezüglich der Wärmetoleranz ähnlich wie schilddrüsenlose Tiere. Diese Beobachtung sprach für die Möglichkeit, daß das Methylthiouracil – von dem angenommen wird, daß es die Thyroxinsynthese in der Schilddrüse hemmt bzw. aufhebt – auch die Sekretion des *Thermothyrens A* einzustellen imstande ist.

Um diese Frage zu prüfen, wurden Versuche an Kaninchen, Hunden und Ratten angestellt. Angewendet wurde das MANSFELDSche Originalverfahren³ zur Demonstration der Thermothyrinwirkung. Die Grundlage der Methode ist, daß das eiweiß- und lipoidfreie Serum eines überhitzten Tieres («Wärmeserum») den Grundumsatz eines Normaltieres herabsetzt. Als Wärmeserumspender dienten Kaninchen und Hunde, die 5 Stunden lang in einem Thermostaten von 34–35° C gehalten wurden, wobei sie einen mäßigen Anstieg der Körpertemperatur zeigten. Das aus der Jugularvene genommene Blut wurde nach Gerinnung zentrifugiert, das so gewonnene Serum mit fünffachem Volumen Alkohol enteibt, das Filtrat mit Äther von Lipoidsubstanzen befreit. 2,5 cm³ des so präparierten Serums wurde Ratten subkutan eingespritzt. Der Grundumsatz der Ratten wurde vorher in mehrtägigen Vorperioden in mehreren Einzelbestimmungen festgestellt. Die Stoffwechselbestimmungen wurden mit dem Apparat von BELÁK und ILLÉNYI¹ ausgeführt, der die gleichzeitige Messung des O₂-Verbrauches (volummetrisch) und der CO₂-Produktion (titrimetrisch) ermöglicht. Die Innentemperatur des Apparates betrug 29° C, da es bei solchen Versuchen sehr wichtig ist, daß die Umgebungstemperatur innerhalb der – für das gewählte Tier – rassenspezifischen Behaglichkeitszone liege, damit die chemische Wärmeregulation weder in positiver noch in negativer Richtung beeinflusst werde. Die Stoffwechselbestimmungen wurden regelmäßig 2 (manchmal 3), 5, 7 (manchmal 9), 24 (manchmal 48) Stunden nach Injektion der Wärmesera vorgenommen.

Nachdem die Wirksamkeit der Wärmesera in der eben beschriebenen Weise festgestellt wurde, erhielten die Blutspender 4 Wochen lang Methylthiouracil (Chem. Fabrik Egger, Budapest), und zwar Tagesdosen von 0,10 g/kg *per os* in Suspension durch die Magensonde. Nach dieser Behandlung wurden die Überwärmungsversuche wiederholt.

In Tabelle I und II sehen wir den Verlauf von zwei Versuchen über die Wirkung der Wärmesera vor und nach Methylthiouracilbehandlung; sämtliche Versuchsergebnisse sind in Tabelle III zusammengestellt. Man sieht, daß die Wärmesera normaler Tiere – wie das bekannt ist – den Grundumsatz der Ratten ausnahmslos herabsetzte. Eine Abnahme des Stoffwechsels konnte meistens schon 3 Stunden nach der Seruminjektion beobachtet werden, sie erreichte ein Maximum nach 5 bis 7 Stunden (ausnahmsweise nach 9 Stunden) und war in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche nach 24 Stunden abgeklungen. In einem Fall dauerte der Effekt 48 Stunden lang.

Wie man aus der zweiten Kolonne der Tabelle III sieht, konnte der Grundumsatz der Ratten mit den nach Methylthiouracilbehandlung gewonnenen Wärmesera nicht mehr herabgesetzt werden. Die Differenzen liegen innerhalb der Fehlergrenze.

Die zahlenmäßigen Angaben über die Wirksamkeit der Wärmesera vor und nach Methylthiouracilfütterung wurden – als kleine Stichproben aus zwei Grundgesamtheiten betrachtet – einer mathematisch-statistischen Beurteilung unterzogen². Die Differenzen zeigten sich hoch signifikant ($P < 0,001$).

Um sicher zu sein, daß die Kaninchen und Hunde tatsächlich unter Methylthiouracilwirkung gestanden sind, wurden die Tiere nach den Versuchen getötet und die Schilddrüsen histologisch bearbeitet. (Für die mikro-

¹ S. BELÁK und A. ILLÉNYI, Biochem. Z. 281, 27 (1935).

² Nach den Formeln:

$$s_d^2 = \frac{1}{N_1 + N_2 - 2} \left[\sum_{i=1}^{N_1} (x'_i - \bar{x}')^2 + \sum_{i=1}^{N_2} (x''_i - \bar{x}'')^2 \right];$$

$$t = \frac{\bar{x}' - \bar{x}''}{s_d} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}; n = N_1 + N_2 - 2.$$

¹ B. V. BERDE, Exper. 2, 498 (1946); Acta Hungarica physiologica 1947 (im Druck).

² G. MANSFELD, Die Hormone der Schilddrüse und ihre Wirkungen. B. Schwabe, Basel 1943. S. 164 ff.

³ G. MANSFELD, Die Hormone der Schilddrüse und ihre Wirkungen. B. Schwabe, Basel 1943. S. 164 ff.

aus A. LINDER, Statistische Methoden. Birkhäuser, Basel 1945. S. 53.