

Connecticut, von theophyllinfreiem Salyrgan den Höchster Farbenwerken und von Stickstofflost der Fa. Ciba, Wehr i. Baden verbindlichst zu danken.

G. KUSCHINSKY und F. TURBA

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz,
den 15. Oktober 1949.

Summary

(1) By means of a simple method the conditions were investigated for contraction and relaxation of actomyosin (AM) under the influence of potassium, magnesium, and calcium ions, of adenosintriphosphate (ATP) or muscle-adenylic-acid and phosphocreatin.

(2) Raising the calcium chloride concentration to 0.2 m and raising the p_{H} from 6.9 to 7.3 hinders the contraction of actomyosin by ATP; in uncontracted AM-gel, ATP leads to a relaxation under these conditions.

(3) Relaxation of the contracted gel can be brought about by dissolving in potassium chloride and precipitating by dilution: calcium furthers this relaxation; afterward ATP leads again to a contraction.

(4) Remainders of ATP from the first contraction lead in this stage again to a partially contracted gel; phosphocreatin reinforces this effect.

(5) Certain SH-groups and amino groups, but not carboxyl groups, are involved in the production of the contraction.

(6) SH- and amino groups are also necessary for the ATP-ase effect. The relation of actomyosin-ATP-ase to contraction, of myosin-ATP-ase to relaxation is pointed out.

sondern auch durch andere «thioloprive» Substanzen gehemmt wurde. Allerdings wählten sie für das Studium dieser Frage Froschmuskelextrakt (Verdünnung 1:66), der 1% Glukose und außerdem die fraglichen Hemmsubstanzen enthielt. Nach MEYERHOF¹ ist aber die Milchsäurebildung aus Glukose in solchen Extrakten ohne Zusatz von Aktivatoren minimal. Die Milchsäure bestimmten die genannten Autoren nach 24 und 48 Stunden Inkubation – sie fanden noch am zweiten Tage erhebliche Milchsäurebildung.

Diese an Extrakten gewonnenen Ergebnisse auf die Verhältnisse im arbeitenden Muskel zu übertragen, schien mir gewagt. Es wurde daher versucht, die Hemmung der Milchsäurebildung nach einer Durchströmung mit den betreffenden Substanzen auch am unverehrten Muskel nachzuweisen.

Die Hinterextremitäten eben getöteter Sommerfrösche (*R. temporaria*) wurden von der Aorta her 2 Minuten lang mit Lösungen der «thiolopriven» und anderer kontrakterregender Substanzen durchströmt. Die Technik entsprach der von LÄWEN² und TRENDLENBURG³ angegebenen. Nach der Durchströmung wurde die Hinterextremität sofort mit Öffnungsinduktionsstrom 10 Minuten lang gereizt. Die Muskeln gingen dabei in Starre über. Dann wurde die Muskulatur rasch abgeschnitten und bis zur Weiterverarbeitung in flüssiger Luft aufbewahrt. Nach genauer Wägung wurde etwa 1 g derselben im vorgekühlten Mörser mit Glas-pulver zu homogenem Brei verrieben, nach SCHENK entweißt, der vorhandene Zucker mit Kupfer/Kalk-Fällung entfernt und endlich die Milchsäure nach LIEB und ZACHERL⁴ bestimmt.

In der Erwartung, daß sich die von BACQ angegebenen Substanzen ähnlich verhalten würden wie die Monojodessigsäure, wurden noch Pharmaka untersucht, von denen eine Reaktion mit SH-Gruppen nicht anzunehmen ist. Coffein und Chloroform schienen geeignet, da sie unter den angeführten Bedingungen ebenfalls eine Muskelstarre hervorrufen. Von den sogenannten «thiolopriven» Substanzen wurden Chlorpikrin, Sublimat, Allylsenföl und Chloraceton ausgewählt. Als Vergleichsobjekt diente Monojodessigsäure. Die Konzentrationen der Durchströmungslösungen genügten in jedem Falle, eine Kontraktion der Muskeln auszulösen. Alle Lösungen waren mit Froschringer angesetzt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt, jeder Milchsäurewert bedeutet darin einen Einzelversuch:

2 Min. durchströmt mit	Elektr. Reizung	Milchsäure in mg%
Ringerlösung allein	ungereizt	67 75 88 48
Ringerlösung allein	10'	214 184 201 190
Monojodessigsäure 3% ₀₀	10'	42 51 36 56
Allylsenföl 2% ₀₀	10'	186 205 198 184
Chloraceton 1% ₀₀	10'	196 179 188 210
Chloroform 1% ₀₀	10'	172 195 138 194
Coffein 1% ₀₀	10'	229 212 192 209
Sublimat 1% ₀₀	10'	137 146 170 153
Chlorpikrin 1% ₀₀	10'	277 223 245 234

Die aufgeföhrten Werte für die ungereizte, mit Ringerlösung durchströmte Muskulatur sind von der gleichen

¹ O. MEYERHOF, Biochem. Z. 178, 462 (1926) und ebendort 183, 178 (1927).

² A. LÄWEN, A. e. Phk. 51, 415 (1904).

³ P. TRENDLENBURG, Arch. ext. Pharm. 63, 161 (1910).

⁴ H. LIEB und M. K. ZACHERL, Z. physiol. Chem. 211, 211 (1932).

¹ Z. M. BACQ, Exper. 2, 349 (1946).

² Z. M. BACQ, Bull. Acad. Roy. Med. Belg. 2, 108 (1942).

³ E. LUNDSGAARD, Biochem. Z. 217, 162 (1930).

⁴ Z. M. BACQ und P. ANGENOT, C. r. Soc. biol. Paris 134, 105 (1940).

Größenordnung, wie sie auch von andern Autoren gefunden wurden. Nach Arbeitsleistung wird das Drei- bis Vierfache an Milchsäure gebildet, während die durch Monojodessigsäure vergiftete Muskulatur auch dann eher weniger Milchsäure aufweist als die ruhende. Bei allen andern Vergiftungssarten konnte ein ähnlicher Effekt nirgends festgestellt werden. Behandlung mit Chlorpikrin und Coffein bewirkten sogar eine geringe Steigerung der Milchsäurebildung. Die niedrigeren Werte nach der Durchströmung mit Sublimat dürften wohl auf die dabei eintretende ödematische Quellung des Muskelgewebes zurückzuführen sein, die größeren Wassergehalt mit sich bringt und dadurch geringere Milchsäurekonzentration vortäuscht. Mit Sublimat durchströmte Muskeln enthalten bis zu 18% weniger Trockensubstanz (bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet) als die gleiche Menge mit Ringerlösung durchströmter Muskulatur.

BECK und BEIN¹ haben kürzlich am Froschmuskel untersucht, ob die durch Monojodessigsäure hervorgerufene Muskelstarre mit der durch andere «thioloprive» Substanzen erzeugten identisch ist. Sie fanden zwar formale Ähnlichkeit aller vom erstarrenden Muskel geschriebenen Kurven, konnten aber die für die Monojodessigsäurevergiftung typische Veränderung in den Fraktionen der Hexosephosphorsäureester (Lohmannsche Hydrolysekurven) nirgends sonst nachweisen. Es muß also daran festgehalten werden, daß allein die Monojodessigsäure fähig ist, die Milchsäurebildung zu unterdrücken und die Veresterung des Phosphats in andere Bahnen zu lenken. Die sonst untersuchten «thiolopriven» Substanzen besitzen dagegen diese Fähigkeit nicht, die Muskelstarre, die nach Behandlung mit denselben eintritt, darf dem Lundsgaard-Effekt nicht gleichgesetzt werden.

RUDOLF KRUEGER²

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel, den 1. Dezember 1949.

Summary

Intact frog muscles were perfused with solutions of iodoacetate, allylisothiocyanate, chloroacetone, chloroform, caffeine, mercuric chloride, and chloropicrin. They were made to contract by work and their lactic acid content was determined afterwards. Only iodoacetate inhibited the expected accumulation of lactate in the working muscle. The other investigated substances allowed normal production of lactic acid. Chloropicrin and caffeine caused a small increase. Iodoacetate alone inhibits the production of a true Lundsgaard effect.

¹ G. E. BECK und H. J. BEIN, Helv. physiol. acta 6, 398 (1948).

² Jetzige Adresse: Physiol.-chem. Institut der Universität Basel.

Die Wirkung von Blutserumfraktionen auf die Wanderung menschlicher Leukozyten *in vitro*

Im Zitratplasma, das durch Rekalifizierung mit isotonischem CaCl_2 (1,29%) zum Gerinnen gebracht wird, ist die Wanderung menschlicher Leukozyten gering. Fügt man neben dem Kalziumchlorid noch etwas natives Serum zu, so wird die Leukozytenwanderung stark gesteigert (ALLGÖWER¹).

Das führt zur Fragestellung, welche Serumstoffe außer dem Kalzium für die Leukozytenbewegung von besonderer Bedeutung sind.

¹ M. ALLGÖWER, Exper. 5, 405 (1949).

Wir haben vorerst die Serumproteine in eine hauptsächlich die γ -Globuline enthaltende Fraktion und in die verbleibende Fraktion der «Rest-Proteine» aufgeteilt. Über den Einfluß dieser beiden Fraktionen auf die Leukozytenwanderung wird hier kurz berichtet.

Technik

Leukozytenwanderung. Wir bedienten uns dabei der früher beschriebenen Technik der Auswanderung der Leukozyten aus einem Leukozytenfilm, der in kleine Stücke geschnitten wird. Die Auswanderung erfolgt im Zitratplasma, das durch Rekalifizierung zum Gerinnen gebracht wird. Fördernde Einflüsse kommen am besten zum Ausdruck, wenn man Leukozyten gesunder Individuen mit 4-8000 Zellen pro cm^2 verwendet. Die notwendige Dicke des Leukozytenfilms von ca. 0,5 mm kann durch Anreichern der Leukozyten erhalten werden. Wir haben die Leukozytenbewegung nach drei Kriterien beurteilt: 1. Zurückgelegter Weg: Einen guten Ausdruck dafür stellt die im Plasmakoagulum erhaltene Auswanderungsfläche dar. 2. Wanderungsgeschwindigkeit: Diese wurde untersucht mit Hilfe von Zeitrafferfilmen. 3. Chemotaxis: Die zu untersuchende Fraktion wurde lokal aufgebracht und beobachtet, ob eine einseitige Wanderung der Leukozyten auftrat.

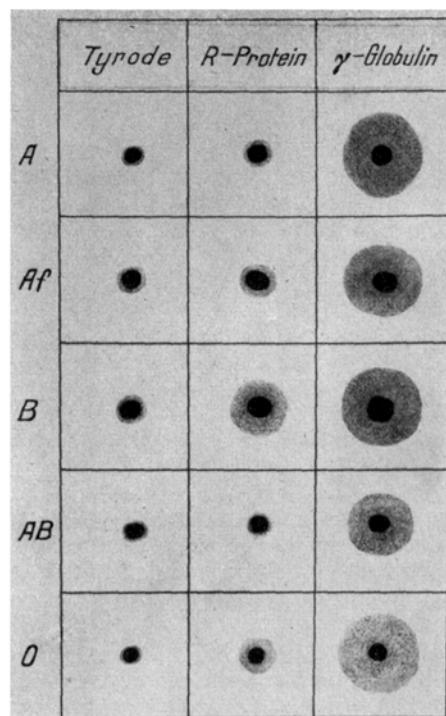


Abb. 1. Leukozytenwanderung unter dem Einfluß von γ -Globulin bzw. «Rest-Proteinen» aus 5 verschiedenen Seren. A Serumfraktionen des Leukozytenspenders, Af, B, AB, O Serumfraktionen von Spendern mit verschiedenen Blutgruppen. Tyrodezusatz: Kontrollen.

Serumfraktionierung. Um die γ -Globuline von der Hauptmenge der übrigen Serumproteine abzutrennen, wurde dem Serum $\frac{1}{2}$ seines Volumens gesättigte Ammoniumsulfatlösung zugesetzt. Die Mischung wurde 12-16 Stunden lang bei 4° C gehalten. Die Fällung wurde abzentrifugiert, 2mal mit $\frac{1}{3}$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen, in Tyrode gelöst und 20-36 Stunden lang bei 4° C gegen häufig erneuerte Tyrode dialysiert (= « γ -Globulin»). Die nach der Abtrennung der « γ -Globulin»-Fraktion erhaltene Eiweißlösung wurde in der gleichen Weise gegen Tyrode dialysiert (= «Rest-Proteine»). Nach der Dialyse wurde in den Lösungen die Eiweißmenge bestimmt, durch Verdünnen mit Tyrode wurden die Proben jeder Versuchsreihe auf den gleichen Eiweißgehalt gebracht, der in den verschiedenen Versuchen zwischen 0,8 und 1,5% lag. Die auf die Leukozyten einwirkende Konzentration der Fraktionen war zwischen 0,2 bis 0,4%.