

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 Vergiftungsarten 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 ödematöse 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 Rekalkifizierung 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.

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 bedienen 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 Rekalkifizieren zum Gerinnen gebracht wird. Fördernde Einflüsse kommen am besten zum Ausdruck, wenn man Leukozyten gesunder Individuen mit 4–8000 Zellen pro cm^3 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.

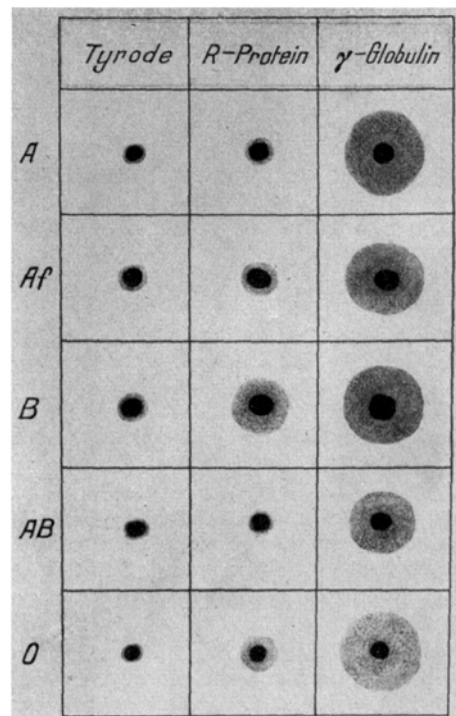


Abb. 1. Leukozytenwanderung unter dem Einfluß von « γ -Globulin» bzw. «Rest-Proteinen» aus 5 verschiedenen Seren. A Serumfraktionen des Leukozytenspenders, Af, B, AB, O Serumfraktionen von Spendern mit verschiedenen Blutgruppen. Tyrodezusatz: Kontrollen.

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 $\frac{1}{2}$ 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%.

¹ M. ALLGÖWER, *Exper.* 5, 405 (1949).

Ergebnisse

Zurückgelegter Weg der Leukozyten: Abb. 1 zeigt einen Versuch, bei dem die Leukozyten einer Versuchsperson der Blutgruppe A mit Fraktionen des eigenen Serums, mit Fraktionen eines anderen A- sowie mit Fraktionen von B-, AB-, und O-Serum getestet wurden. Das dunkle Zentrum der einzelnen Figuren stellt das ursprüngliche Leukozytenfilmstück dar und der runde Hof darum die Auswanderungszone der Leukozyten in 12 Stunden. Alle Versuche zeigen ein deutliches Überwiegen der Wirkung der « γ -Globulinfraktion». Die Auswanderungsfläche erreichte hier einen Durchmesser von 10 mm. An diesem Beispiel wird zugleich deutlich, daß die Fraktionierung bei gleicher Methodik nicht mit jedem Serum gleich gut gelingt. In drei Seren sind die «Rest-Proteine» wirkungslos, in einem von geringer Wirksamkeit und im B-Serum schließlich von deutlicher Wirksamkeit.

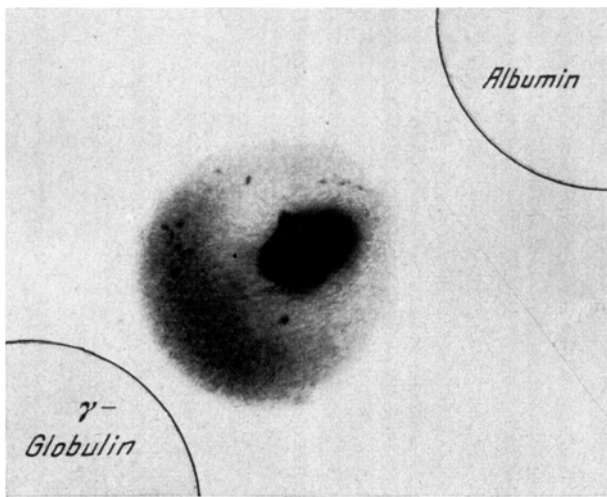


Abb. 2. Einseitige Auswanderung der Leukozyten durch lokal aufgetragenes « γ -Globulin» bzw. Albumin.

Wanderungsgeschwindigkeit. Zeitrafferfilme haben ergeben, daß nicht nur der zurückgelegte Weg, sondern auch die Fortbewegungsgeschwindigkeit der einzelnen Leukozyten durch die « γ -Globuline» des Serums stark gesteigert wird.

Chemotaktische Wirkung. Durch örtlich aufgetragene « γ -Globuline» konnten wir eine gerichtete Wanderung erzielen. Abb. 2 zeigt eine Leukozytenkultur, die auf der einen Seite « γ -Globuline», auf der andern Seite ein reines Serumalbumin gegenübergestellt erhielt. « γ -Globulin» vermag die Leukozyten anzulocken, hat also positive chemotaktische Wirkung, im Gegensatz zum Albumin.

Aus Versuchen mit 27 verschiedenen Seren, die stets ein gleichsinniges Resultat ergaben, läßt sich folgendes feststellen: Die Serumproteine (oder mit ihnen verbundene Substanzen) üben einen stark stimulierenden Einfluß auf die Wanderung menschlicher Leukozyten aus. Sie vergrößern den Weg wie auch die Geschwindigkeit des einzelnen Leukozyten, der sich im festen Koagulum fortzubewegen hat. Sie sind auch imstande, gerichtete Bewegungen der Leukozyten hervorzurufen. Dabei ist die Wirkung der in der « γ -Globulinfraktion» enthaltenen Proteine stets am stärksten. Es ist uns wiederholt gelungen, die stimulierende Wirkung völlig auf die « γ -Globuline» zu lokalisieren und eine gleich eiweißreiche Fraktion der restlichen Serumproteine herzustellen, die gar keine Wirkung auf die Wanderung der

Leukozyten ausübte. Die immunologisch wichtige Rolle von Proteinen, die sich in der Fraktion der γ -Globuline finden, wird somit ergänzt durch eine die Leukozytenwanderung stimulierende Wirkung dieser Serumfraktion.

Diese Befunde finden eine interessante Parallele in der von HAMBURGER¹ sowie von DELAUNAY² beobachteten fördernden Wirkung von Serum auf die Phagozytose. DELAUNAY konnte dabei eine wesentliche Rolle des Komplements wahrscheinlich machen. Auch HÖBER und KANAI³ stellten fest, daß die Leukozytenphagozytose durch die Serumglobuline im positiven Sinne beeinflusst wird.

M. ALLGÖWER und H. SÜLLMANN

Chirurgische Universitätsklinik Basel, den 20. Dezember 1949.

Summary

Proteins of the human serum were divided in two fractions by salting out: one fraction containing chiefly γ -globulin, and another freed of this γ -globulin, called the "rest-proteins". The effect of the two fractions on leucocyte migration was investigated. The velocity of migration and the total distance covered by the leucocytes are greatly enhanced by the presence of the " γ -globulins". " γ -globulins" also have an attracting power on leucocytes, that is to say that proteins contained in the γ -globulin-fraction have a positive chemotactic effect on leucocytes.

¹ F. HAMBURGER: ABDERHALDEN, *Handbuch biol. Arbeitsmethoden* 4/IV.

² A. DELAUNAY, C. R. Soc. Biol. 139, 557 (1945).

³ R. HÖBER und T. KANAI, *Klin. Wschr.* 2, 209 (1923).

Über die *p*-Aminosalicylsäure-Festigkeit von Tuberkelbazillen

HURNI¹ stellte unlängst fest, daß sich Tuberkelbazillen *in vitro* nur in ganz unbedeutendem Maße an *p*-Aminosalicylsäure (PAS) gewöhnen. Unseren Beobachtungen zufolge kann die Resistenz der Tuberkelbazillen gegen PAS ohne Schwierigkeit gesteigert werden, wenn die Züchtung in dem die PAS enthaltenden DUBOSSchen Nährboden durch Einimpfung großer Inokula (0,2 cm³ Kultur) geschieht, wenn sich auch die Resistenz langsamer entwickelt und keinen so hohen Grad erreicht wie im Falle der Streptomycingewöhnung.

In unseren Versuchen gingen wir von der DUBOSSchen Kultur vier humaner Stämme aus, die alle 14–18 Tage in Nährböden mit steigenden PAS-Konzentrationen (Mol. 10⁻⁶–10⁻⁴) überimpft wurden. Der DUBOS-Nährboden enthielt statt der Albumin-V-Fraktion 10% bei p_H 2 durch Hitze fraktioniertes Rinderserum². Die Arzneimittellempfindlichkeit der Stämme wurde ebenfalls in diesem Nährboden bestimmt; das Inokulum bestand pro Röhrchen aus 0,0001 cm³ einer drei Wochen alten Kultur. Die Ergebnisse wurden 14 Tage später abgelesen. Mit allen vier Stämmen wurden gleichsinnige Erfahrungen gemacht. Zur Demonstration unserer Ergebnisse werden hier nur die Versuche mit zwei Stämmen angeführt.

Die in der Tabelle zusammengefaßten Ergebnisse beziehen sich auf die nach der siebenten Überimpfung in

¹ H. HURNI, *Exper.* 5, 128 (1949).

² R. J. DUBOS und G. MIDDLEBROOK, *Amer. Rev. Tub.* 61, 334 (1947).