

Die folgenden Untersuchungen befassen sich mit der Frage, ob lokale Anwendung von Adrenocorticotropin¹, Acidum acetylo-salicylicum, Acidum salicylicum, Monojodessigsäure² und Phlorrhizin³ die Überführung des farblosen löslichen Triphenyltetrazoliumchlorids (TTC.) in rotes, unlösliches Formazylbenzol beeinflusse. TTC. reagiert nach WAUGH⁴ mit Gewebsenzymen, die bei der Glykolyse eine Rolle spielen.

Methode. Als Substrat dienten frische Kalbshornhäute, aus denen mittels des 5-mm-Hornhauttrepans gleiche Teile ausgestanzt wurden. Die Substanzen wurden an Teilen der gleichen Hornhaut geprüft. Die Hornhautstückchen wurden nach 15 min dauernder Einwirkung von einprozentiger TTC.-Ringerlösung eingebracht: in 0,5 cm³ Ringerlösung als Kontrolle (I), in 0,5 cm³ Adrenocorticotropin *liquid.* mit einer Menge von 5 mg (II), in 0,5 cm³ zweiprozentige Acidum acetylosalicylicum (III), in 0,5 cm³ zweiprozentige Salizylsäure (IV), in 0,5 cm³ zweiprozentige Phlorrhizinlösung (V) und schließlich in 0,5 cm³ einprozentige Monojodessigsäure (VI). Die Kontaktzeit der Korneateilchen mit den Testlösungen betrug ebenfalls 15 min. Daraufhin wurden die Substrate auf Objektträger übertragen, mit Deckglas *fest* verschlossen und im Thermostaten bei 38°C bis zu 12 h aufbewahrt.

V. N.		15	30	45	60 min	12 h
Ringerlösung	I	(+)	+	+	++	+++
ACTH. liquid.	II	(+)	(+)	(+)	+	++
Acid. acetylosal. 2%	III	—	—	—	—	—
Acid. salicylic. 2%	IV	—	—	—	—	—
Phlorrhizin 2%	V	(+)	(+)	+	++	++
MJE 1%	VI	—	(+)	(+)	(+)	+

Die Tabelle zeigt die Ergebnisse von bisher 4 Versuchen zu je 6 Einzeluntersuchungen. Rotfärbung und ihr Grad ist mit dem Symbol + und seiner Häufung bzw. Einklammerung gekennzeichnet. Das Symbol — bedeutet keinerlei Rötung.

Nach allen Untersuchungen sind Acidum acetylosalicylicum (III) und Salizylsäure (IV) in der Hemmung der Reduktion des TTC. am wirksamsten. Die Bildung von Formazan tritt auch nach 12 h nicht ein. Der Aktivität nach folgen dann Monojodessigsäure (VI) und endlich Adrenocorticotropin (II) sowie Phlorrhizin (V).

Nach neuen Versuchen (KÖHLER, MÜNICH und FÜRST) steigert andererseits das phlogistische Forapin (Bienen-gift) die Aktivität der Dehydrasen der Kornea *in situ*.

Die Untersuchungen ergeben demnach eine Stoffwechselwirkung der geprüften antirheumatisch wirksamen Substanzen. Sie ist in der Hemmung der Glykolyse zu suchen. Es *erscheint* nicht ausgeschlossen, daß der antirheumatische bzw. antiphlogistische Effekt der genannten Substanzen zum Teil hierauf beruht. In der angewandten Konzentration übt Adrenocorticotropin einen

von der Nebennierenrinde unabhängigen Einfluß auf das Hornhautgewebe aus.

V. KÖHLER, W. MÜNICH und J. SCHARF

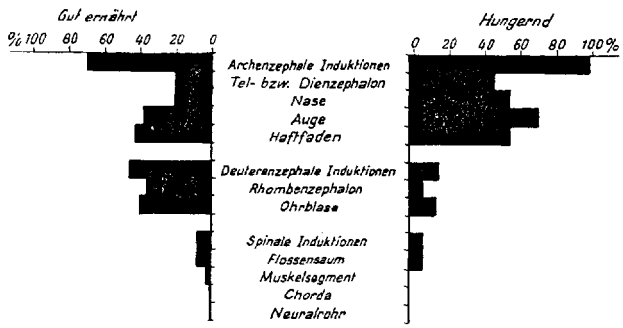
Augenklinik der Universität Würzburg, den 19. Oktober 1951.

Summary

Antirheumatic substances like adrenocorticotropin, acetylsalicylic acid, salicylic acid, phlorhizin and monoiodo acetic acid influence the metabolism. On the isolated cornea, they almost completely inhibit the reduction of triphenyltetrazolic chloride. Therefore they seem to disturb the glycolysis which is important for the development of the inflammation. In the concentration used, adrenocorticotropin influences the tissue without being dependent on the cortex of the adrenal gland. On the other hand the phlogistic "forapin" enhance the activity of dehydases of the cornea *in situ*.

Die regionale Verschiedenheit der Induktionsleistungen des Lebergewebes von gut ernährten und hungernden Meerschweinchen im Implantatversuch

Einige Autoren¹ haben gefunden, dass der Ribonukleinsäuregehalt der Leber beim hungernden Säugetier sinkt. Andererseits gilt die RNS. als Substanz, die in gewissen, die Entwicklung des Wirbeltierkeims steuernden Induktionsstoffen als Bestandteil enthalten ist. Ich habe früher² gezeigt, dass das Lebergewebe des Meerschweinchens, nach Behandlung in Alkohol, ein nahezu leistungsspezifischer archenzephaler Induktor ist, und auch die Möglichkeit hervorgehoben, dass diese Einwirkung in Verbindung mit der RNS. sei, die in der Leber enthalten ist. So war es gegeben, zu untersuchen, ob sich die Induktionsleistungen des Lebergewebes des hungernden und des gut ernährten Tieres voneinander unterscheiden.



Induktionsleistungen der Leber des Meerschweinchens.

Als Versuchsobjekte dienten Keime von *Triturus vulgaris*. Die Operationen wurden an Ganzkeimen ausgeführt. Das Spendermaterial stammte von zwei männlichen Meerschweinchen: von einem vor dem Töten

¹ P. W. HENCH, E. C. KENDALL, C. P. SLOCUMB und H. F. POLLEY, Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 24, 181 (1949).
² V. KÖHLER, J. SCHARF und W. MÜNICH, Ärztl. Wschr. 43, 854 (1950).
³ V. KÖHLER, L. PENEW und E. A. WEHNER, Ärztl. Wschr. (im Druck). — V. KÖHLER, F. d. Medizin (im Druck).
⁴ TH. WAUGH Science 167, 275 (1948).

¹ J. BRACHET, R. JEENER, M. ROSSEEL und L. THONET, Bull. Soc. Chim. Biol. 28, 4 0 (1946). — M. CAMPBELL und H. W. KOSTERLITZ, 1st Int. Congr. Biochem. Abstr. (1949). — P. MANDEL, L. MANDEL und M. JACOB, ib. (1949).
² S. TOIVONEN, Ann. Acad. Sci. Fenn [A] 55, 6 (1940); Arch. Soc. Vanamo' 4, 1 (1949); Rev. Suisse Zool. 57, Suppl. 1 (1950).

reichlich gefütterten und einem 3½ Tage ohne Nahrung gehaltenen. Die frische Leber der beiden wurde mit Seesand fein zerrieben und dann in 70prozentigem Alkohol aufbewahrt.

Die Serie mit der Leber des gut ernährten Tieres umfasst 37 und diejenige des hungernden 34 brauchbare Fälle. Die Analyse der Leistungen von beiden Geweben geht aus dem Diagramm (Abb.) hervor.

Beim Vergleich der regionalen Natur der Induktionsgebilde ergibt sich, dass die Leistung des Lebergewebes vom hungernden Tier der Auffassung entspricht, die ich nach meinen früheren Befunden vom Leberinduktor formuliert habe: Archenzephal Gebilde sind 100prozentig vorhanden; daneben gibt es Deuterezephal (17,5%) und ausnahmsweise spinale Gebilde (nur ein Flossensaum in zwei Fällen). Demgegenüber weicht die Leistung der Leber vom gut ernährten Tier ganz erheblich sowohl von der Hungerserie als auch von meinen früheren Ergebnissen ab. Bei den spinalen Gebilden ist praktisch kein Unterschied gegenüber der Hungerserie festzustellen; dagegen ist der Anteil der Deuterezephal Gebilde (über 45%) überraschend hoch, und derjenige der Archenzephal (70%) entsprechend kleiner.

Der hohe Anteil der induzierten Deuterezephal Gebilde in der Serie mit gut ernährter Leber erfordert eine Präzisierung meiner früheren Auffassung, nach welcher die Meerschweinchenleber als ausgesprochen leistungsspezifischer archenzephaler Induktor wirkt. Bei der Suche nach einer Erklärung dafür, warum in meinen früheren Serien Deuterezephal Gebilde in nennenswertem Masse nicht vorgekommen sind, stellte ich folgendes fest: seinerzeit habe ich die Tiere, die das Spendermaterial lieferten, stets am Morgen vor der ersten Fütterung getötet, also in einem Moment, da die Tiere schon mehrere Stunden ohne Nahrung verbracht haben. Die Leber könnte demnach in ihrem Gehalt an aktiven Stoffen dermassen labil sein, dass ihre Induktionsleistung schon nach einer kürzeren nahrungslosen Periode auf den Stand herabgesetzt wird, auf dem sie sich dann auch noch nach mehrtägigem Hungern befindet. Wenn die Nährstoffe in der Leber sich nach der Nahrungsaufnahme häufen, so nimmt vermutlich die Deuterezephal Wirkung des Lebergewebes zu; wenn sodann die Nährstoffe abgebaut und aus der Leber weg befördert werden, tritt die Archenzephal Wirkung in den Vordergrund.

Die Analyse an RNS.-Gehalt der beiden in Serien benutzten Lebergewebe gab ein sehr überraschendes Ergebnis. Mittels Orcinolreaktion bestimmt, belief sich der RNS.-Gehalt des Lebergewebes des gut gefütterten Tieres, auf die organische Trockensubstanz der Leber bezogen, auf 4,8% und der vom hungernden Tier entsprechend auf 5,5%. Bei vorhergehender Ausfällung mit Trichloressigsäure wurden als entsprechende Werte 3,6% und 4,4% gefunden. Es hatte sich also der *prozentuale Gehalt* an RNS., trotz vermutlicher absoluter Mengenabnahme der Säure in der ganzen Leber, praktisch überhaupt nicht verändert, ja er war sogar etwas gestiegen. Dies findet wohl seine Erklärung darin, dass das Totalgewicht der Leber beim hungernden Tier infolge des Schwundes der Reservestoffe noch mehr als die Menge der in der Leber enthaltenen RNS. zurückgeht. Beim Induktionsversuch kommt indessen nur dem Umstand eine Bedeutung zu, wie grosse Mengen des aktiven Stoffes in einer Gewichtseinheit des betreffenden Induktorgewebes enthalten sind. Dieses Ergebnis stellt meine Befunde in ein neues Licht. Behalten wir ausschliesslich die Quantität der RNS. im Auge, so stehen meine Ergebnisse am Lebergewebe des gut ernährten und hungernden Meerschweinchens in Widerspruch zu

einigen neuen Resultaten von KUUSI¹. Sie hatte gefunden, dass eine bestimmte, aus Meerschweinchenleber hergestellte «lösliche» Traktion, die relativ wenig (1%) RNS. enthielt, rein archenzephal induzierte, während die Fraktion der kleinen Plasmagranulae mit relativ viel (5,6%) RNS. zu ähnlichen Ergebnissen führte, wie in meinen Serien das Lebergewebe des gut ernährten Tieres, das heisst neben archenzephalen auch reichlich deuterezephal Gebilde ergab. Weiter hatte sie festgestellt, dass die Leistung des Leberinduktors nach Behandlung mit Ribonuklease, wobei der prozentuale Gehalt an RNS. in dem Gewebe abnimmt, mehr archenzephal Natur hat als früher. In meinen Versuchen führte ein grösserer RNS.-Gehalt zu einer reineren archenzephalen Leistung, ein geringerer dagegen zu einer deuterezephalen; in den Versuchen KUUSIS verhielt es sich gerade umgekehrt. Wollen wir nun diese Tatsachen miteinander in Einklang bringen, so erscheint mir als einzige Erklärungsmöglichkeit die, dass hier *nicht die Menge der RNS., sondern die Art der RNS.-Verbindungen entscheidend gewesen ist*. Es lässt sich vermuten, dass die RNS. in der Leber des gut ernährten Tieres, gleicherweise wie in dem Leberinduktor KUUSIS vor der Ribonukleasebehandlung, an die Polynukleotide gebunden auftritt. In der Leber des hungernden Tieres, in der mit Ribonuklease behandelten Gewebefraktion und in der «löslichen» Leberfraktion von KUUSI wäre sie in einer kleinemolekularen, teilweise abgebauten Form vorhanden. Wir können dann des weiteren annehmen, dass ein Induktor, der genügende Mengen eines Polynukleotids enthält, deuterezephal induziert, dass dagegen ein Induktor, der eine gewisse kleinemolekulare RNS.-Verbindung reichlicher enthält, in seiner Leistung ausgeprägter archenzephal ist. *Die Regionalspezifität im Kopfbereich wäre demnach nicht von der Quantität des wirkenden Stoffes, sondern von seiner Qualität abhängig*. Gewissermassen als Arbeitshypothese, im Hinblick auf entsprechende künftige Versuche, möchte ich also annehmen, dass der archenzephal Induktionsstoff irgendeine bestimmte kleinemolekulare Ribonukleinverbindung, der deuterezephal Induktionsstoff irgendein Ribopolynukleotid ist.

S. TOIVONEN

Zoologisches Laboratorium der Universität Helsinki, den 1. September 1951.

Summary

Some investigators have obtained results indicating that the ribonucleic acid concentration decreases in the liver of a mammal during starvation. Implantation experiments with gastrulae of the newt have therefore been carried out, using the alcohol-fixed liver of starved and well-fed guinea-pigs as inductor. In the former case 100 per cent archencephalic and few deuterecephalic formations, in the latter 70 per cent archencephalic and 45 per cent deuterecephalic formations, were obtained. On the basis of tissue analyses and some other results of experiments, it is suggested that deuterecephalic action may depend on ribopolynucleotide, whereas archencephalic action correspondingly may be due to some ribonucleotide of smaller molecular size.

¹ T. KUUSI, Exper. 7, 299 (1951); Ann. Zool. Soc. 'Vanamo' 14, 4 (1951).