



Fig. 2. Coupes histologiques de testicules de rats fixés au BOUIN alcoolique, colorés à l'hématoxyline-éosine. Agrandissement 470 \times .
a Animal impubère non traité, 12 jours après hypophysectomie.
b Animal intact de 7 mois. *c* Animal impubère, 12 jours après hypophysectomie et traité avec 8 mg d'extrait d'urines de femmes en ménopause.

histologique. La dose de 4 mg provoque une image intermédiaire entre les deux autres.

Conclusion. Un extrait d'urines de femmes en ménopause a été examiné au point de vue de son activité gonadotrope. Chez la souris impubère il stimule la sécrétion d'œstrogènes (croissance de l'utérus). Chez le rat impubère hypophysectomisé il provoque le rétablissement des cellules interstitielles avec sécrétion d'androgènes (croissance de la prostate ventrale) et une spermatogenèse allant jusqu'à la formation de spermatozoïdes. Il s'agit donc d'un extrait dont des quantités identiques et relativement modestes montrent une activité gonadotrope complète comprenant aussi bien le facteur FSH que le facteur ICSH, ce qui laisse entrevoir d'intéressantes perspectives thérapeutiques.

Ce travail a bénéficié de l'appui du Fonds national suisse de la Recherche scientifique. Nous tenons à remercier la Ciba S.A. à Bâle pour les rats hypophysectomisés et M. MORAND et Mlle IWASZKIEWICZ pour leur précieuse assistance technique.

R. BORTH, B. LUNENFELD et
H. DE WATTEVILLE

*Laboratoire d'Hormonologie de la Maternité, Genève,
le 12 novembre 1953.*

Summary

An extract from pooled postmenopausal urine has been investigated for its gonadotrophic activity. Dose-response curves have been constructed for its total gonadotrophic activity (stimulation of estrogen secretion as reflected by the uterine weight increase in immature mice) and for its ICSH activity (stimulation of androgen secretion as reflected by the ventral prostate weight increase in hypophysectomized immature rats). In hypophysectomized immature rats, the extract produced repair of the interstitial cells of the testes and complete spermatogenesis. It contains, therefore, FSH as well as ICSH activity in comparable amounts, a fact which opens up interesting therapeutic possibilities.

PRO EXPERIMENTIS

Untersuchung von Adenosintriphosphorsäure (ATP), Adenosindiphosphorsäure (ADP), Adenosinmonophosphorsäure (AMP) und Inosinsäure (IMP) in ruhenden und kontrahierten Froschrektusmuskeln

Zur Klärung der Frage, ob die ATP-Spaltung die unmittelbare chemische Energiequelle für die Muskelkontraktion darstellt, sind schon vergleichende Untersuchungen zwischen ruhenden und ermüdeten Muskeln vorgenommen worden (zum Beispiel LUNDGAARD, WAJZER und NEKHOROCHEFF u.a.¹). Von den Ergebnissen an ermüdeten Muskeln können aber nicht ohne weiteres Schlüsse auf die Vorgänge bei einer Einzelkontraktion gezogen werden. Die verwendeten Analyseverfahren (Säurehydrolyse nach LOHMANN² oder kombinierte enzymatisch-spektrophotometrische Methode nach KALCKAR³) haben ausserdem den Nachteil, dass

¹ E. LUNDGAARD, Proc. Roy. Soc. B. 137, 74 (1950).

² K. LOHMANN, Biochem. Z. 202, 477 (1928).

³ H. M. KALCKAR, J. Biol. Chem. 167, 449 und 461 (1947).

eine genaue quantitative Bestimmung von ADP nicht möglich ist. Erst die neueren chromatographischen Verfahren gestatten auch eine saubere Analyse der ADP. So untersuchten MOMMAERTS und RUPP¹ mit Hilfe von Chromatographie an einem Anionenaustauscherharz den Nukleotidgehalt der Hinterbeinmuskeln von Fröschen in der Ruhe und nach Kontraktion in flüssiger Luft. Bei diesem Verfahren erhielten sie im Falle der Kontraktion eine starke Verminderung von ATP (im Mittel um $\frac{1}{5}$ des ATP-Gesamtgehaltes) und Zunahme von ADP und AMP. Bei Versuchen an Katzenherzen fanden KHAIRALLAH und MOMMAERTS² mit derselben Methode ähnlich wie in den oben angeführten Untersuchungen nach längerer Reizung eine Abnahme von ATP und wie WAJZER und NEKHOROCHEFF³ das Auftreten von IMP. Nach einer Einzelkontraktion in flüssiger Luft nahm ATP ebenfalls ab. Als Abbauprodukt geben die Verfasser neben ADP allerdings noch eine in ihrer Konstitution nicht bekannte Substanz an.

Dasselbe Problem – die Änderung des Nukleotidgehaltes von Muskeln in Ruhe und am Ende einer Einzelkontraktion – wurde für den Skelettmuskel am Beispiel des *M. rectus abdom.* von *R. esculenta* untersucht. Die Auslösung der Kontraktion erfolgte nicht durch Eintauchen des Muskels in flüssige Luft, sondern es wurde eine Methode ausgearbeitet, die es gestattet, die Untersuchungen bei jeder gewünschten Temperatur durchzuführen und die Kontraktion auf verschiedene Weisen (Pharmaka, elektrische Reizung) auszulösen. Nichtkontrahierte und kontrahierte Muskeln wurden in der gleichen Art behandelt: Sofortige Zerkleinerung mit schnell rotierenden Messern in 60%igem Alkohol und Trocknung der abzentrifugierten Alkohol-extrakte in gefrorenem Zustand (Lyophilisation). Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, zur Beseitigung von Fetten mit Äther ausgeschüttelt und mit Hilfe von Hochspannungspapierionophorese (MICHL⁴) in m/10 Pyridinazetat, pH 6,5, vorgetrennt. Aus dem getrockneten Elektrophoresepapier wurden die einzelnen Nukleotidfraktionen wieder mit Wasser eluiert und zur besseren Identifizierung in 2 $\frac{1}{2}$ % Natriumzitat-Isoamylalkohol, pH 8,3, chromatographiert. Zur Kennzeichnung und quantitativen Bestimmung dienten Nukleotidpräparate des Handels als Vergleichssubstanzen, UV-Absorptionsspektren, P³²- und Ribosenachweis⁵.

Für Rektusmuskeln, die bei Zimmertemperatur in Froschtyrodelösung suspendiert waren, ergibt sich am Ende einer zum Beispiel durch Acetylcholin ausgelösten maximalen Kontraktion eine ATP-Abnahme um etwa 0,25 μ Mol/g Feuchtgewicht gegenüber ruhenden Muskeln mit einem ATP-Gehalt von im Mittel 1,91 μ Mol/g.

Im Gegensatz zu den Befunden von MOMMAERTS und RUPP beträgt die ATP-Verminderung während der Kontraktion höchstens $\frac{1}{8}$ des Ruhe-ATP-Gehalts. Gleichzeitig mit der ATP-Abnahme nimmt ADP in entsprechendem Masse zu. Eine AMP-Zunahme wurde

nur selten beobachtet. Nur bei Winterfröschen (*R. esculenta*) fand im kontrahierten Muskel immer auch eine Zunahme von AMP statt, und IMP, die im ruhenden Muskel nicht oder nur in Spuren vorhanden war, trat in Mengen von 0,4 μ Mol/g Feuchtgewicht auf.

Die Methode ist geeignet, kleinste Änderungen im Nukleotidgehalt von Muskeln zu erfassen. Die gemessenen Mengen geben aber nur den Gesamtgehalt der einzelnen Nukleotide an. Um nur die Änderungen des Anteils der ATP zu erfassen, der zu den kontraktile Proteinen in Beziehung steht, ist noch eine weitere Differenzierung notwendig.

G. LANGE

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, den 27. Januar 1954.

Summary

A method for the estimation of muscle nucleotides is described. The separation of nucleotides has been accomplished by paper ionophoresis at high voltages, as well as by paper chromatography. Even little changes in the nucleotide content such as the changes in a single muscular contraction can be well observed by this method.

A decrease of 0.25 μ M ATP/g/contraction (i.e. about $\frac{1}{8}$ of the normal ATP content) has been observed in a contracted muscle, when compared with the ATP content of the resting muscle.

PRO LABORATORIO

Appareil pour la mesure de la consommation d'oxygène des petits animaux de laboratoire

De très nombreux dispositifs destinés à la mesure de la consommation d'oxygène des petits animaux de laboratoire ont été décrits. Pour les travaux pratiques du Service de Physiologie, nous utilisons couramment l'appareil de FARNER et CRAMPTON¹ qui donne toute satisfaction. Au cours de recherches sur les troubles métaboliques provoqués par divers types de chocs chez le rat, nous avons été amenés à étudier les variations de la consommation d'oxygène chez les animaux d'expériences et à apporter des modifications assez importantes à l'appareil original de FARNER et CRAMPTON. Pour pouvoir suivre durant plusieurs heures avec certitude les modifications de la consommation d'oxygène, il était indispensable:

- 1° d'opérer à température constante,
- 2° de faire des mesures à des intervalles de temps rapprochés,
- 3° de maintenir dans l'enceinte où vit l'animal une teneur en oxygène aussi voisine que possible de la tension normale,
- 4° de troubler l'animal au minimum pendant la durée de l'expérience.

De l'appareil original de FARNER et CRAMPTON, nous n'avons retenu, en fait, que le principe de la burette servant à la mesure de la consommation d'oxygène.

A.—Description de l'appareil

La figure ci-jointe représente schématiquement le dispositif employé, qui comprend essentiellement:

¹ F. FARNER et E. CRAMPTON, Canad. J. Res. Section F. 26, 14 (1948).

¹ W. F. H. M. MOMMAERTS und J. C. RUPP, Nature 168, 957 (1951).

² P. A. KHAIRALLAH und W. F. H. M. MOMMAERTS, Circulation Res. [I] 1, 8 (1953).

³ I. WAJZER und I. NEKHOROCHEFF, Arch. Sci. physiol. 6, 233 (1952).

⁴ H. MICHL, Mh. Chemie 82, 489 (1951), vgl. auch B. KICKHÖFEN und O. WESTPHAL⁷.

⁵ G. BERGOLD und L. PISTER, Z. Naturf. 3b, 332 (1948); C. H. FISKE und Y. SUBBAROW, J. Biol. Chem. 66, 375 (1925).

⁶ H. K. BARRENSCHEEN und T. V. VALYI-NAGY, Z. Naturf. 4b, 203 (1949).

⁷ B. KICKHÖFEN und O. WESTPHAL, Z. Naturforsch. 7b, 655 (1952).