

Tableau IV  
Signification de la différence entre les moyennes des 3 groupes

	Albumine	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$	A/G
A/B n = 13	t = 0,326 P < 0,8	t = 0,13 P < 0,9	t = 1,36 P < 0,2	t = 0,371 P < 0,9	t = 0,128 P < 0,9	t = 0,153 P < 0,9
A/C n = 12	t = 1,037 P < 0,4	t = 0,408 P < 0,7	t = 2,371 P < 0,05	t = 0,462 P < 0,7	t = 0,550 P < 0,6	t = 0,151 P < 0,9
B/C n = 13	t = 1,85 P < 0,1	t = 0,713 P < 0,5	t = 2,647 P < 0,05	t = 0,151 P < 0,9	t = 0,552 P < 0,6	t = 1,22 P < 0,3

mines sériques<sup>8</sup>. Il pourrait y avoir un trouble de la liaison protéines/aldostérone lorsque la répartition des protéines est altérée.

Peut-être pourrait-on expliquer l'action de l'ACTH qui, injectée à des rats néphrectomisés, provoque une hausse transitoire de la tension artérielle (HANDLER et BERNHEIM<sup>6</sup>), par une décharge passagère d'aldostérone. Nous constatons que seules les globulines  $\alpha_2$  sont modifiées dans nos essais et qu'en particulier le quotient A/G est inchangé dans les 3 groupes. En conclusion, nous pouvons dire que, si chez le rat hypertendu la fraction  $\alpha_2$  s'élève de façon significative, le retour à la normale par régime sans choline ne s'accompagne pas d'une diminution de la fraction  $\alpha_2$  mais que celle-ci demeure pratiquement la même que chez les rats hypertendus.

C. JACOT et H. STAUB

Clinique médicale universitaire, Bâle, le 1er juin 1956.

Summary

The authors investigated the distribution of serum proteins, especially the  $\alpha_2$  fraction, in rats with artificially induced hypertension (A), in similar rats made normotone by choline-free diet (B), and in a control group (C). A rise in the  $\alpha_2$  fraction of group A and B was found, without a significant change of the other serum proteins.

<sup>8</sup> K. EIS-NEB, J. A. SCHELLMAN, R. LUMRY et L. SAMUELS, J. biol. Chem. 206, 411 (1954).

Differenzierungsmethode metachromatischer Zellen nach ihrem Säuregrad

Bei histochemischen Untersuchungen der Gewebsmastzellen, die zusammen mit LENNERT und BORSTELL durchgeführt wurden, erschien es verlockend, die pH-Abhängigkeit der metachromatischen Färbbarkeit quantitativ zu erforschen. Dazu wurde folgende Methode entwickelt.

Das zu untersuchende Gewebe – in unserem Falle Knochenmark – wird nach Paraffineinbettung 4  $\mu$  dick geschnitten, sorgfältig entparaffiniert und in Aqua dest. gebracht. (An Stelle von Schnitten lassen sich auch Ausstriche verwenden.)

Anschließend färben wir den Schnitt unter gleichmässigem Schwenken 5 min in einer 0,1%igen, wässrigen, gepufferten Toluidinblaulösung und differenzieren ihn 5 min in gepuffertem Aqua destillata der gleichen

Wasserstoffionenkonzentration. Das pH der Farblösung und der Spülflüssigkeit soll so niedrig sein, dass sich eben einige metachromatische Zellen anfärben. Bei dem Fall der Mastzellen des Knochenmarkes genügt ein pH von 2,62. Als Puffer eignet sich am besten das Veronalnatrium-Azetat-Gemisch von MICHAELIS.

Zum Entwässern wird der Schnitt 2 min in 96%igem Äthanol und 2 min in einmal gewechseltem Isopropylalkohol hin und her geschwenkt. Nach dem Isopropylalkohol trocknen wir ihn zwischen Fliesspapier ab und decken ihn in reines Zedernholzöl ein.

Das jetzt untersuchungsfertige Präparat wird unter dem Mikroskop mit einem Kreuztisch auf eine günstige Stelle eingestellt. In einem durch den Kreuztisch genau definierten Bezirk werden bei starker Vergrößerung alle Zellen mit metachromatischen Granula ausgezählt.

Danach entfernen wir das Deckglas – durch das nicht-erhärtende Zedernöl bleibt das Präparat unbeschädigt – und wiederholen den Färbevorgang bei einem pH einer höheren Stufe. Anschließend zählen wir wieder die gleiche Stelle bei der gleichen Vergrößerung aus. Diese Prozedur wird mit stufenweise zu erhöhendem pH so oft wiederholt, bis die Zahl metachromatisch tingierter Zellen einen Höchstwert erreicht. Er soll 200 Zellen nicht unterschreiten, um die Fehlerbreite möglichst klein zu halten. Der erzielte Höchstwert wird gleich 100% gesetzt. Die bei den niedrigeren pH gewonnenen Zahlen rechnet man in Prozentzahlen um und trägt sie mit den ihnen zugehörigen pH-Werten in ein Koordinatensystem ein.

Vor dem Färbegang können wir noch Reagenzien einwirken lassen, die Beziehungen zur metachromatischen Substanz haben, zum Beispiel Hyaluronidase, Ribonuklease, Wasser, organische Lösungsmittel usw. Das Ergebnis kann dann unter Umständen die Wirkungsweise der angewandten Lösung erklären.

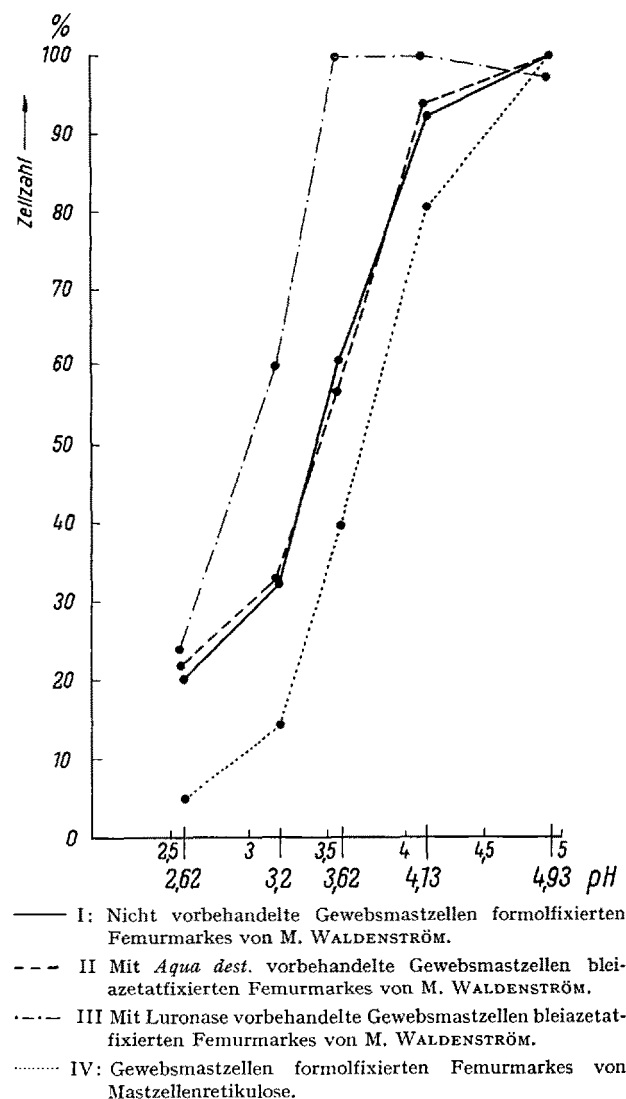
In der Abbildung ist an Hand einiger Beispiele die pH-abhängige Färbbarkeit der Gewebsmastzellen des menschlichen Knochenmarkes dargestellt. Es wurden dazu Fälle ausgewählt, die mit einer starken Mastzellenvermehrung einhergehen: 3 Kurven stammen von Kranken mit Morbus Waldenström (zum Teil veröffentlicht von LENNERT<sup>1</sup>) und eine Kurve von einer Mastzellenretikulose (LENNERT<sup>2</sup>).

Die Kurven I und II sind völlig gleich, obwohl sie von 2 verschiedenen Fällen von Morbus Waldenström stammen und unterschiedlich, nämlich in Formol bzw. Bleiazetat, fixiert sind. Die Kurve III ist von dem gleichen Fall gewonnen, der in Kurve II dargestellt ist, wurde aber nach zweistündiger Luronasebehandlung erzielt. Man sieht, dass die sauren Mukopolysaccharide von der Azidität der Hyaluronsäure nicht mehr färbbar, also

<sup>1</sup> K. LENNERT, Frankf. Z. Pathol. 66, 201 (1955).

<sup>2</sup> K. LENNERT, Europ. Hämatol. Kongress, Freiburg 1955.

offenbar durch das Ferment herausgelöst sind. In Kurve IV, die von der Mastzellenretikuloose gewonnen wurde, ist die histochemische Abartigkeit der maligne entarteten Mastzellen deutlich erkennbar.



(Nähere Beschreibung im Text)

Es steht zu erwarten, dass mit dieser Methode eine Reihe von Fragen, die sich auf die Natur und Funktion der Mastzellengranula richten, zu lösen ist.

J. C. F. SCHUBERT

Pathologisches Institut der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt am Main, den 9. Mai 1956.

### Summary

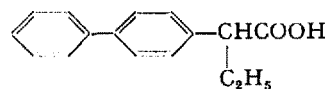
A method is described for histochemical definition of the metachromatic substance of mast cells. A slide of tissue containing mast cells is treated with substances dissolving metachromasia, such as hyaluronidase and water, and later on stained in aqueous solutions of gradually heightened pH. A marked spot of the slide is counted at each pH. Concentrations of hydrogen and numbers of mast cells result in a characteristic curve.

## Diphenyllethylacetic Acid Inhibits Hypercholesteremia Induced by Triton

Aware of the great importance of Coenzyme A for *in vitro*<sup>1</sup> and *in vivo*<sup>2</sup> synthesis of cholesterol, we thought that by testing several substances showing inhibitory activity on the Co A, we could obtain drugs able to interfere with cholesterol metabolism.

For this purpose we undertook some researches in connection with the work of COTTET *et al.* on the hypocholesteremic activity of the phenylethylacetic acid<sup>3</sup>, and with our previous results demonstrating that acetylation activity of Co A, studied according to the procedure of KAPLAN and LIPMANN<sup>4</sup>, is inhibited *in vitro* by phenylethylacetic acid.

On the other hand, also *in vitro*, we have proved, on a series of molecules, that suitable substitutions of 1 or 2 atoms of hydrogen in the methyl group of acetic acid, compounds are obtained which are much more active than phenylethylacetic acid itself<sup>5</sup>. One of the compounds showing the highest inhibiting activity on the acetylation process, also *in vivo*<sup>6</sup>, is diphenyllethylacetic acid<sup>7</sup>.



As a test for evaluating the action of diphenyllethylacetic acid, hypercholesteremia and hyperlipemia have been obtained by means of an administration of Triton<sup>8</sup>. According to recent results, the action of Triton appears to be connected with an improvement of endogenous synthesis, since an increased incorporation of labelled acetate in cholesterol has been obtained<sup>9</sup>.

We used male albino rats of mean weight of 250 g; cholesterol was determined according to GRIGAUT<sup>10</sup>, serum lipids with the micromethod of SWAHN<sup>11</sup>, and lipoproteins pattern with paper electrophoresis according to the classical method modified as elsewhere reported<sup>12</sup>.

The results are summarized in the following 2 Tables. We want to point out that diphenyllethylacetate not only has marked anti-hypercholesteremic and anti-hyperlipemic activity, but is also able to modify intensively the lipoproteic pattern. In fact, while treatment

<sup>1</sup> B. B. MIGIKOWSKY and D. D. GREENBERG, *Biochim. biophys. Acta* **13**, 135 (1954). – M. D. SIPERSTEIN *et al.*, *Science* **113**, 747 (1951).

<sup>2</sup> R. R. GUEHERING *et al.*, *J. biol. Chem.* **197**, 485 (1952). – L. SWELL *et al.*, *J. Nutr.* **57**, 121 (1955).

<sup>3</sup> J. COTTET *et al.*, *Presse méd.* **62**, 939 (1954); *Thérapie* **9**, 621 (1954).

<sup>4</sup> R. KAPLAN and F. LIPMANN, *J. biol. Chem.* **174**, 37 (1948). – D. STEINBERG and D. S. FREDRICKSON proved very recently that phenylethylacetic acid can inhibit cholesterol synthesis *in vitro* from acetate, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* **90**, 232 (1955).

<sup>5</sup> S. GARATTINI, C. MORPURGO, and N. PASSERINI, *G. ital. Chemioter.* **2**, 60 (1955); *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **31**, 1653 (1956).

<sup>6</sup> S. GARATTINI *et al.*, *Arch. Int. Pharm.* (1956) (in press).

<sup>7</sup> Synthesized by G. CAVALLINI and E. MASSARANI of Maggioni Lbs. of Milan, *Farmaco* (1956) (in press).

<sup>8</sup> M. FRIEDMAN and S. O. BYERS, *J. exper. Med.* **97**, 117 (1953). – Triton W. R. 1339: a polymer of *p*-isooctylpolyoxyethylene phenol, of Rohm & Haas Co., Philadelphia.

<sup>9</sup> J. D. FRANTZ and B. T. HINKELMAN, *J. exper. Med.* **101**, 225 (1953).

<sup>10</sup> A. GRIGAUT, *C. r. Soc. biol.* **68**, 791 (1910).

<sup>11</sup> B. SWAHN, *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **5** (1953), suppl. 9.

<sup>12</sup> S. GARATTINI and B. MURELLI, *G. Biochim.* **5**, 98 (1956).