

Résumé

On démontre que les acides aminés libres du vitellus liquéfié augmentent pendant le développement de l'embryon, ce qui suggère une hydrolyse de ses protéines.

Wirkung von Polysacchariden bakterieller Herkunft auf die experimentelle Lipämie

In früheren Arbeiten unseres Laboratoriums wurden verschiedene pharmakologische Wirkungsqualitäten von Polysacchariden bestimmter Art beschrieben, wie die spezifische Wirkung auf die Chemotaxis der Leukozyten¹, auf die entzündlichen Reaktionen des Bindegewebes², sowie auf verschiedene Infektions-³ und anaphylaktische⁴ Phänomene.

Zu den bekannten Wirkungsqualitäten bestimmter Polysaccharide, wie zum Beispiel Heparin und Manuronat, gehört auch deren Antilipämie- und blutgerinnungshemmende Wirkung. Es schien deshalb wichtig, Polysaccharide verschiedener Art und Herkunft auch auf ihre antilipämische Wirkung *in vivo* und auf ihre Wirksamkeit auf die Plasmagerinnung *in vitro* zu untersuchen.

Die *Antilipämie-Wirkung in vivo* wurde, wie üblich, an Hand der Klärung⁵ des Serums lipämischer Ratten bestimmt, im wesentlichen nach der von CONSTANTINIDES *et al.* angegebenen Methode⁶. Eine Gruppe von mindestens 5 bis 10 Ratten erhält nach 16stündigem Hungern je Ratte 3 ml Maisöl pro 100 g *per os* (enthaltend 0,3 g Zellulose, um Intoleranzerscheinungen zu vermeiden) und bleibt unbehandelt. Sie dient als Kontrollgruppe. Die 5–10 Ratten jeder anderen Gruppe erhalten unmittelbar nach Maisölverabreichung je die gleiche Dosis des zu prüfenden Präparates intravenös in die Schwanzvene. 2 h nach der Injektion werden die Tiere in Ävertinarkose (1 ml/100 g intraperitoneal einer 2prozentigen Lösung) aus der Carotis in ein Zentrifugenglas entblutet, das Blut 30 min bei 3000 U./min zentrifugiert, das Serum abgehoben, 1:5 mit Wasser verdünnt und der Trübungswert einzeln bestimmt. Als Kontrolle dient das gesammelte 1:5 verdünnte Serum der Kontrollratten (1 ml Serum jedes Tieres). Die Trübung wird je Tier nephelometrisch in einem Coleman-Spektrophotometer (Mod. 14) bei 610 mμ in Prozent Transmission abgelesen, nachdem das verdünnte Mischserum der Kontrollratten auf 100% Transmission gestellt worden ist. Das arithmetische Mittel der Trübungswerte der Ratten je Präparatdosis (im Vergleich zum Kontrolltrübungswert = 100%) gibt die *prozentuale Klärung* durch die injizierte Präparatdosis. Die Präparatdosen werden so gewählt, dass eine 50prozentige Klärung durch mehrere Dosen (pro Gruppe) sowohl unter- wie überschritten wird, so dass durch Interpolation die Dosis eruiert werden kann, welche 50prozentige Klärung verursacht (= ED₅₀%). Die *blutgerinnungshemmende Wirkung* wurde im Rekalfizierungsversuch an Rinderoxalatplasma *in vitro* bei 37°C untersucht.

Befunde. Die in der Tabelle zusammengestellten Präparate umfassen nur einen Teil der von uns geprüften, und zwar nur die antilipämisch wirksamsten Präparate. Die Einteilung erfolgte nach deren Herkunft, Fraktionierung und Antilipämiewirkung. Die Wirksamkeit ist ausgedrückt in Effektivdosen.

¹ R. MEIER, Z. exp. Med. 87, 283 (1933). – R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 9, 93 (1953); 10, 376 (1954); Z. physiol. Chem. (im Druck).
² R. MEIER, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, Arch. exp. Path. Pharm. 224, 104 (1955).
³ R. MEIER und L. NEIPP, Schw. med. Wschr. 86, 249 (1956).
⁴ R. MEIER, H. J. BEIN und R. JAGUES, Exper. 12, 235 (1956).
⁵ P. CONSTANTINIDES, A. CAIRNS und A. WERNER, Canad. Res. Conc. Abstr. West. Reg. Meet. 19, 1954.

Polysaccharide bakterieller Herkunft

Charakterisierung der Präparate	Antilipämie ED ₅₀ % Klärung γ/kg intraven.	Rekalfizierung (Gerinnung <i>in vitro</i>)	
		E. K. %	Wirkung
1. Aus gramnegativen Bakterien (78 Präparate untersucht) A = Äthanolfällung aus Kulturfiltrat	1000		
Subfraktionierung von A:			
Aa	4	0,05	Ø
Ab	20		
Ac	35		
Ad	35		
Ae	60		
Af	70		
Ag	100		
Ah	1000		
Ai	1000		
Subfraktionierung von Aa:			
Aa/1.	8	0,05	Ø
Aa/2.	10		
Aa/3.	1000		
B = Mit 3 Volumen Äthanol aus Kulturfiltrat nicht fällbar	10000		
Subfraktionierung von B:			
Ba	250		
Bb	500		
Bc	1000		
C = Fraktionierung des Kul- turfiltrats unter Vermeidung organischer Lösungsmittel	400	0,1	Ø
D = Fraktion aus Bakterien- rückstand	75		
Subfraktionierung von D:			
Da	1	0,05	Ø
Db	4		
E = Kombination der Frak- tionierung nach D, Da, Db aus Bakterienrück- stand	1	0,05	Ø
F = Nebenfraktion von E	5	0,05	Ø
G = Nebenfraktion von F. . . .	1000	0,05	Ø
2. Aus grampositiven Bakterien (2 Präparate untersucht)	0	0	
3. Aus Mykobakterien (6 Präparate untersucht)	0	0	

Die *Polysaccharide aus gramnegativen Bakterien* wurden aus dem Kulturmedium oder auch aus Bakterienrückständen von Proteus gewonnen und auf verschiedene Weise fraktioniert⁶. Die Beziehung der einzelnen Präparate zueinander hinsichtlich ihrer Fraktionierung ist aus der Tabelle ersichtlich. Die in der Tabelle angegebenen wirksamsten aller als wirksam zu bezeichnenden Präparate dürften in der Hauptsache den Lipopolysaccharidfraktionen zuzurechnen sein.

Unter diesen Präparaten finden sich Fraktionen, welche in Effektivdosen ab 1 γ/kg intravenös die experimentelle Lipämie an Ratten um 50% vermindern. Es gelingt somit die bei der Lipämieklärung *in vivo* wirksame Substanz anzureichern. Angegeben sind nur solche Präparate, deren Effektivdosis 1 mg/kg intravenös

⁶ Die Präparate bzw. Fraktionen wurden in unseren chemischen Laboratorien von Dr. F. W. KAHNT dargestellt.

nicht überschreitet; letztere sind etwa so wirksam wie Heparin (Hoffmann-La Roche) mit einer $ED_{50} = 3,2$ mg/kg intravenös. Keines dieser Präparate erwies sich, soweit geprüft, als blutgerinnungshemmend wirksam.

Der Wirkungsmechanismus der Klärung ist von demjenigen des Heparins verschieden, er wird noch untersucht und später im einzelnen dargelegt werden.

Zwei Präparate von Polysacchariden aus grampositiven Bakterien und sechs von Polysacchariden aus Mykobakterien erwiesen sich als antilipämisch und hinsichtlich Plasmagerinnung als unwirksam.

Polysaccharidpräparate pflanzlicher und tierischer Herkunft, von denen eine Auswahl geprüft wurde, erwiesen sich antilipämisch als wesentlich weniger wirksam als die beschriebenen Bakterienpolysaccharide.

R. MEIER und W. SCHULER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft
Basel, Pharmazeutische Abteilung, den 5. April 1957.

Summary

Polysaccharide fractions derived from a gram-negative proteus organism show strong anti-lipæmic activity of the order of 1000 times that of heparin. Analogous preparations from gram-positive organisms and mycobacteria show no such activity and some polysaccharide fractions from plant and animal tissues proved to have slight activity. None of these polysaccharides influenced the clotting of plasma *in vitro*.

Lack of Effect of Exercise on Serum Cholesterol Levels in two Types of Experimental Obesity¹

Considerable interest has developed recently about the possibility that the lack of physical activity, which is a factor in obesity² may also be a factor predisposing to atherosclerosis and thus coronary heart disease³. Inasmuch as a high serum cholesterol level in certain species appears to be an important factor in the development of atherosclerosis³, it appeared of interest to examine the effect of exercise on the serum cholesterol levels of normal mice and of mice with experimental obesity. The two types chosen are representative of the two general classes of obesity. Goldthiogluucose obese mice, where the primary lesion is the destruction of specialized cells in the ventromedial hypothalamic area of the hypothalamus⁴, is representative of the 'regulatory' forms of obesity², where metabolic abnormalities are secondary to hyperphagia. Hereditarily obese-

hyperglycemic mice present a syndrome, characterized by a variety of endocrine, enzymatic and metabolic idiosyncrasies⁵—in particular hypercholesterolemia⁶. They are representative of the 'metabolic' forms of obesity where hyperphagia appears to be secondary to metabolic abnormalities.

A total of 53 mice were used in the study. Goldthiogluucose obese mice were obtained as previously described⁷ by injection of an LD_{50} dose of goldthiogluucose 3 months previously and weighed 40 to 70 g. Mice with the genetic syndrome had been bred at the Jackson Memorial Laboratory, Bar Harbor, Maine; they were from 5 to 8 months old and weighed 40 to 60 g. The exercised animals were put on the treadmill previously described⁸ and exercised as in this previous experiment, the total duration of actual exercise excluding pauses was 1 h a day at a speed of 0.435 Km/h. All animals were weighed daily. The obese animals had been steadily gaining weight until the beginning of the exercise period. The experimental period lasted 30 days. During the experimental period and in conformity with previous results², exercised obese mice had gained less than their controls, on the average 5 g less in the case of the obese-hyperglycemic mice and 12 g less in the case of the goldthiogluucose animals. These weight differences were highly significant ($p < 0.01$). Non-obese mice had the same weight in the exercised and non-exercised group.

Serum cholesterol levels were determined by the KENDALL-ABELL method⁹. Results are given in the Table. None of the differences in serum cholesterol between exercised and non-exercised animals are significant. The experiment presented here thus does not support the idea that exercise is a major factor in determining cholesterol levels. It is of course conceivable that had the experiment been continued beyond a month, or had the exercise been more severe, a difference might have appeared. It should also be pointed out that the existence of a species difference is entirely possible and even likely. We have not detected atherosclerosis in mice including the hereditarily obese mice with hypercholesterolemia. However, should these results relate to the problem of human atherosclerosis they might be taken as suggesting the possibility that favorable results of physical activity may be mediated through an effect other than variations of cholesterol levels.

J. MAYER, C. ZOMZELY, and
F. J. STARE

Department of Nutrition, Harvard School of Public Health, Boston, Mass., February 12, 1957.

Résumé

Divers auteurs ont supposé récemment que la pratique journalière d'exercices physiques peut abaisser le taux du cholestérol du sang. Cette hypothèse a été testée chez des souris normales et chez des souris représentant deux classes d'obésité: des souris porteuses du syndrome héréditaire d'obésité-hyperglycémie (qui est accom-

¹ This work was supported in part by grants from the National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases (grant No. A-49), National Institutes of Health, Public Health Service, Bethesda; and the Fund for Research and Teaching, Department of Public Health, Harvard School of Public Health, Boston.

² J. MAYER, Nutr. Abstr. Rev., Part I 25, 597 (1955); Part II 25, 871 (1955).

³ J. N. MORRIS and J. A. HEADY, Brit. J. ind. Med. 10, 245 (1953). — J. N. MORRIS, J. A. HEADY, P. A. B. RAFFLE, C. G. ROBERTS, and J. W. PARK, Lancet 1953, 1053 and 1111. — A. KEYS *et al.* in Arteriosclerosis, A Symposium (Univ. of Minn. 1956), *Mode of life*, A. KEYS, p. 28; *Cholesterol Metabolism*: I. D. FRANTZ, jr., p. 49.

⁴ N. B. MARSHALL, R. J. BARNETT, and J. MAYER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 240 (1955).

⁵ J. MAYER, Physiol. Rev. 33, 472 (1953). — K. H. SHULL, J. ASHMORE, and J. MAYER, Arch. Biochem. Biophys. 62, 210 (1956). — K. H. SHULL and J. MAYER, J. biol. Chem. 218, 885 (1956).

⁶ J. MAYER and A. K. JONES, Amer. J. Physiol. 175, 339 (1953).

⁷ N. B. MARSHALL and J. MAYER, Amer. J. Physiol. 178, 271 (1954).

⁸ J. MAYER *et al.*, Amer. J. Physiol. 177, 544 (1954).

⁹ L. L. ABELL, B. B. LEVY, B. B. BRODIE, and F. E. KENDALL, J. biol. Chem. 195, 357 (1952).