

went on to the 8th–9th day, after which it showed degenerative signs. In tissues cultured in a medium containing higher concentration of LEE (12.5 mg/ml), the outgrowth of cells was slight or totally inhibited.

In different series of this type, the various endometria show diverse degrees of fibrinolytic activity. In the controls, good epithelial outgrowth with only slight fibrinolysis can sometimes be observed. In other cases, a final concentration of LEE of 2.5 mg/ml is not enough to prevent fibrinolysis and digestion of the clot, but a concentration of 5 mg/ml or higher has a good effect.

**Discussion.** The effect of LEE in preventing the liquefaction of high fibrinolytic tissue in a plasma clot is probably due to its power to work as an inhibitor competitive with the protein substrates of plasmin. The power of LEE to prevent selectively the outgrowth of fibroblasts is also of great value in endocrinological studies of the epithelial cells. According to experiments in our laboratory, the LEE seems to be of great value in preventing the fibrinolysis in cultures with other tissues from the uro-genital system, which earlier proved very difficult or impossible to culture because of the intense fibrinolytic activity of the cells. Successful studies have thus been carried out with prostatic hyperplasia, human placenta, and different malignant tumours of the uro-genital system.

B. INGEMANSON

*Department of Embryology, University of Lund (Sweden),  
December 1, 1958.*

#### Zusammenfassung

Durch Zusatz von Lysin-äthylester (LEE) zum Plasma-koagel in einer Konzentration von 2,5–5 mg/ml ist es möglich, die fibrinolytische Aktivität des Endometriums in Gewebezuchten zu verhindern. Ausserdem hemmt LEE das Fibroblastenwachstum.

#### PRO EXPERIMENTIS

### Organtypische und phasenspezifische Verteilung ungesättigter Lipoide im Schwanz der Larve von *Xenopus laevis*

Von den Lipiden in der Zelle ist bis jetzt nur bekannt, dass sie Bausteine wichtiger Zellorganoide, wie zum Beispiel der Mitochondrien, des hyaloplasmatischen Retikulums und der Kernmembran sind. Insbesondere die Phosphatide enthalten auch ungesättigte Fettsäuren. Alle fettartigen Substanzen sind relativ unspezifisch durch Sudan III oder Sudanschwarz nachweisbar. Eine histochemische Auftrennung der gesättigten und ungesättigten Komponenten ist bis jetzt nicht bekannt. WIGGLESWORTH<sup>1</sup> vermutet, dass nur ungesättigte Komponenten durch Osmiumtetroxyd geschwärzt werden. Ihre Menge kann offenbar während verschiedener physiologischer Funktionszustände relativ stark und rasch wechseln, was auch die Versuche von GEORGE und SCARIA<sup>2</sup> über die Verteilung von Lipasen im Muskel verschiedener Wirbeltiere bestätigen.

<sup>1</sup> V. B. WIGGLESWORTH, Proc. R. Soc. [B] 147, 185 (1957).

<sup>2</sup> J. C. GEORGE and K. S. SCARIA, J. Animal Morph. Physiol. 4, 107 (1957); Nature 181, 783 (1958); Naturwiss. 45, 93 (1958).

Herr Prof. Dr. LEHMANN regte deshalb an, die Veränderungen im Gehalt ungesättigter Lipide (u. L.) weiter zu verfolgen. Ein von BARROLIER<sup>3</sup> für Papierchromatogramme beschriebener spezifischer Nachweis von ungesättigten Fettsäuren beruht darauf, dass an ungesättigten aliphatischen Bindungen mit Jodbromid Halogen angelagert und dieses mit Silbernitrat in Halogensilber überführt wird. Das Halogensilber wird mit einem Fotoentwickler (in unseren Experimenten stets Agfa 100) zu metallischem Silber reduziert. Diese Methode wurde von uns auf biologische Objekte übertragen und als histochemisches Reagens für ungesättigte Fettsäuren angenommen.

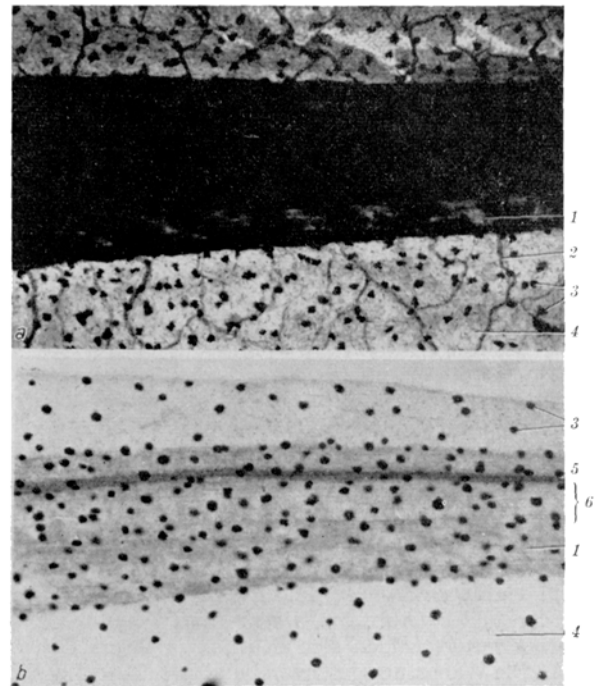


Abb. 1. a) IB2a. 40 Tage alte Larve. Starke Schwärzung von Muskulatur, Blutkörperchen und Mesenchymzellen. b) Ag R41. 47 Tage alte Larve, die 17 Tage gehungert hat. Muskulatur und Blutkörperchen nicht geschwärzt, das Rückenmark dagegen noch sehr deutlich versilbert. 1. Myotome. 2. Blutgefässe mit versilberten Blutzellen. 3. Chromatophoren. 4. Schwarzgraue Mesenchymzellen. 5. Rückenmark. 6. Chorda. – Mikrofotos von Totalpräparaten, etwa 80fach.

In Total- und Schnittpräparaten haben wir die differentielle Verteilung von ungesättigten Fettsäuren in den Organen des Schwanzes der *Xenopus*-Larve geprüft. Zunächst erkennt man eine *organtypische Verteilung* der u. L.: Die Muskulatur reagiert sehr stark. Das Zytoplasma der Blutzellen ist gleichmässig schwarzgrau, ihre Kerne sind völlig schwarz. Auch die Wände der Chordazellen sind deutlich geschwärzt. Nur wenig heller sind die verzweigten Mesenchymzellen in den Flossensäumen. Ihre Kerne heben sich weniger deutlich ab. Das Rückenmark wird gleichmässig dunkel gefärbt. Dagegen sind die Epidermiszellen mit Ausnahme einiger sehr feiner Granula frei von Silberablagerungen (Abb. 1a). Eine gewisse *individuelle Schwankung* der Reaktion trat unabhängig von der Änderung der Schichtdicke der Gewebe auf und erschwerte so quantitative Aussagen.

<sup>3</sup> J. BARROLIER, Naturwiss. 44, 428 (1957).

Die phasenspezifische Änderung des Gehaltes an u. L. war deutlich. Die Schwänze von jungen Larven (bis zum Alter von etwa 20 Tagen bzw. bis ungefähr 20 mm Körperlänge) bleiben heller und enthalten wenig u. L. (Abb. 2a).

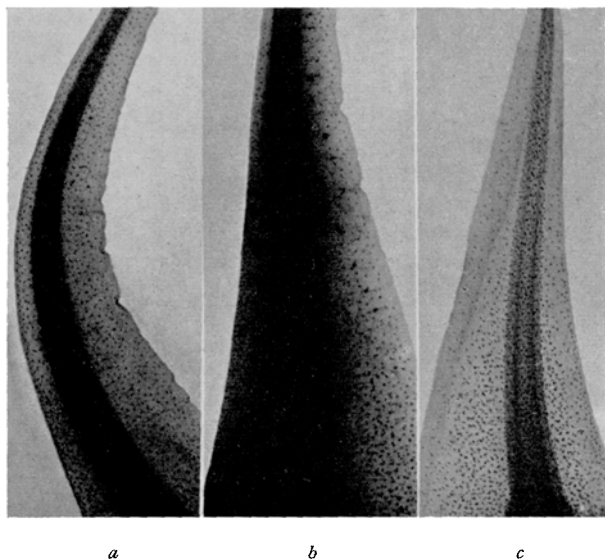


Abb. 2. Altersspezifische Reaktion auf ungesättigte Fettsäuren. a) AgN 4. 19 Tage alte Larve mit schwacher Reaktion. b) AgN 11. 43 Tage alte Larve mit sehr starker Reaktion. c) AgN 13. 50 Tage alte Larve, Beginn der Metamorphose, Schwärzungsreaktion wieder etwas schwächer. – Makrofotos von Totalpräparaten, etwa 8fach.

Am stärksten ist die Silberreaktion in Schwänzen von 25 bis 45 Tage alten Larven (30 bis 50 mm Körperlänge) (Abb. 2b). Schwänze noch älterer Larven (also schon während der Metamorphose) sind nach der Versilberung meist wieder heller (Abb. 2c). *Rasch- und langsamwachsende Larven* unterscheiden sich deutlich in ihrem Gehalt an u. L. Die Wachstumsgeschwindigkeit der *Xenopus*-Larven kann bei verschiedenen Eiablagen stark variieren. Schwänze gutwachsender Tiere geben eine kräftigere Reaktion, enthalten also mehr u. L. als die von langsamwachsenden.

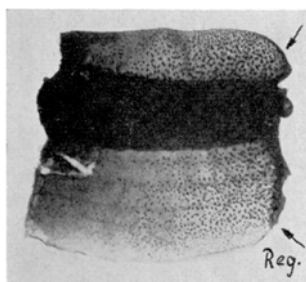


Abb. 3. IIA2a. 43 Tage alte Larve mit 3tägigem Regenerat, das deutlich stärker geschwärzt ist als der Stumpf. – Makrophotographie von Totalpräparat, etwa 12fach.

Der Einfluss des Ernährungszustandes auf den Gehalt an u. L. ergab sich aus Hungerversuchen. Während einer Hungerperiode nimmt der Gehalt an u. L. in den Larvenschwänzen stark ab (Abb. 1b). Am raschesten verliert dabei die Muskulatur ihre u. L. Sie gibt nach einer längeren Hungerperiode keine Schwärzungsreaktion mehr. Auch das Zytoplasma der Blutzellen wird im Laufe einer Hungerperiode immer heller, während ihre Kerne meist dunkler bleiben. Ebenso haben nach 20 oder mehr Hungertagen die Mesenchymzellen und die Wände der Chordazellen ihre u. L. verloren. Dagegen enthält das Rückenmark noch bis zum Hungertod (in unseren Experimenten zwischen dem 26. und 29. Hungertag) gut erkennbar u. L.

Am auffälligsten ist in allen Versuchen die starke Änderung des Gehaltes an u. L. in der Muskulatur. Diese Beobachtung ist analog zu den Befunden von GEORGE und SCARIA<sup>2</sup>, die in der Muskulatur verschiedener Wirbeltiere starke Schwankungen der Lipaseaktivität in Abhängigkeit von verschiedenen physiologischen Zuständen gefunden haben.

Das Enzymmuster im regenerierenden Schwanzgewebe ist anders als in normalem Gewebe<sup>4</sup>, weshalb auch die Veränderung im Gehalt an u. L. nach Amputation der Schwanzspitze untersucht wurde. Unterschiede werden bereits 8 h nach der Operation erkennbar: Die miteinander verschmolzenen Epidermisränder an der Schnittfläche sind dunkler als das übrige Epithel (Abb. 3). Bis etwa zum achten Regenerationstag sind die Mesenchymzellen der Regenerate dunkler als im Stumpf.

Aus unseren Beobachtungen kann man allgemein schliessen, dass raschwachsende Gewebe reich an u. L. sind (gut gefütterte und raschwachsende Larven, Regenerate). Dagegen sind die Gewebe langsamwachsender oder hungernder Larven sowie beim Einschmelzen während der Metamorphose besonders arm an u. L. Zur Erklärung des oft sehr rasch erfolgenden Wechsels im Gehalt an ungesättigten Fettsäuren nehmen wir an, dass eine reversible Umwandlung von gesättigten in ungesättigte Fettsäuren möglich sei.

Ausgeführt mit Unterstützung der Eidgenössischen Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes. Ich danke Herrn Prof. Dr. F. E. LEHMANN für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Unterstützung sowie Fräulein M. PIEREN für technische Assistenz.

O. HESS

Zoologisches Institut und Theodor-Kocher-Institut der Universität Bern, 30. Dezember 1958.

#### Summary

Barrollier's method for unsaturated fatty acids (u. f. a.) in paper chromatograms has been adapted for cytochemical detection of u. f. a. in the tails of *Xenopus*-larvae. A specific pattern in the different organs was found. It was further shown that the content in u. f. a. changes quickly, apparently indicating rapid changes in physiological conditions during growth and regeneration.

<sup>4</sup> H. P. v. HAHN und F. E. LEHMANN, *Helv. Physiol. Acta* 16, 107 (1958).