

Tabelle III

Einfluss von Adrenalin auf die Insulinwirkung am epididymalen Fettgewebe

N	Adrenalin γ/ml	Insulin μE/ml	Glukose- aufnahme mg/g/h	\bar{d}	s^*	t	p
12	0	0-10 000	1,505				
12	0,01		1,630	+0,125	± 0,26	1,67	> 0,1

$$* s = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{N-1}}, \quad t = \frac{\bar{d}}{s} \sqrt{N}$$

Die Insulinaktivität im Serum gesunder Kontrollpersonen betrug 20-800 μE/ml (eine Zusammenstellung der gefundenen Serum-Insulin-Aktivitäten bei Gesunden und endokrin Erkrankten ist einer späteren Publikation vorbehalten). Die Linearität der Beziehung zwischen Glukoseaufnahme und Insulinkonzentration *in vitro* liegt demnach im Bereich der physiologischen Insulinkonzentration im Serum.

Um zu zeigen, dass für die Förderung der Glukoseaufnahme durch Serum wirklich dessen Insulingehalt verantwortlich ist, wurde das Serum mit Zystein inkubiert⁷, worauf keine Insulinaktivität mehr festgestellt werden konnte (vor Zystein: 20 μE/ml, nach Zystein: 0 μE/ml), bzw. auf sehr geringe Werte absank (vor Zystein: 5000 μE/ml, nach Zystein: 15 μE/ml).

Ferner wurden bekannte Mengen Insulin einem Serum zugesetzt und die «recoveries» bestimmt. Diese betragen im Durchschnitt 104% (Tab. II).

Verdünnung des Serums (1:10) hat keinen Einfluss auf seine Insulinaktivität.

(Serum 1 unverd.: 350 μE/ml, 1:10 verd.: 34 μE/ml;
Serum 2 unverd.: 44 μE/ml, 1:10 verd.: 5,3 μE/ml).

Adrenalin in einer Konzentration von 10^{-2} γ/ml ist ohne Einfluss auf die Insulinwirkung *in vitro* (Tab. III) (physiologische Konzentration von Adrenalin + Noradrenalin im menschlichen Blut höchstens 4×10^{-3} γ/ml⁸).

Diskussion. RANDLE⁹ hat kürzlich die gesamte Problematik der biologischen Insulin-Bestimmungsmethoden aufgerollt. Eine wesentliche methodische Verbesserung scheint uns durch die Verwendung von epididymalem Fettgewebe anstelle von Zwerchfellmuskel als Testgewebe gegeben. Da das Fettgewebe ohne Nachteile in mehrere Stücke zerlegt werden kann, wird der Vergleich von Standard-Insulinlösungen und Unbekannten am Gewebe des gleichen Tieres möglich^{1,2}. Dies ist deshalb wichtig, weil die basale Glukoseaufnahme und die Insulinempfindlichkeit der Gewebe verschiedener Ratten erheblich voneinander abweichen können, auch wenn die Tiere in Rasse und Gewicht übereinstimmen.

Ferner scheint Fettgewebe den aktiveren Glukosestoffwechsel als Muskulatur – bezogen auf den N-Gehalt – zu haben und insulinempfindlicher zu sein¹⁰. Insulin ist für die vor allem im Fettgewebe stattfindende Fettsynthese unerlässlich¹¹, so dass dieses Gewebe auch vom physio-

logischen Standpunkt aus für eine Insulin-Bestimmungsmethode geeignet erscheint. Die Insulinwirkung auf das Muskelgewebe ist in vielen Belangen unspezifischer; so wird zum Beispiel die Glukoseaufnahme auch durch Muskelarbeit wesentlich gefördert.

Ein weiterer Vorteil des Fettgewebes ist die Unbeeinflussbarkeit der Glukoseaufnahme durch Adrenalin, das bei der Zwerchfellmethode stören soll¹².

«Recoveries» von 104%, die fast vollständige Inaktivierung der Serum-Insulin-Aktivität durch Zystein und die Unbeeinflussbarkeit durch Adrenalin sprechen für eine weitgehende Spezifität der in diesen Versuchen verwendeten Fettgewebsmethode. Inwieweit andere Hormone, wie STH, Glukagon oder Cortison interferieren können, soll erst noch überprüft werden.

Auch die Frage der Insulin-Antikörper, die ein zu niedriges Serum-Insulin vortäuschen könnten^{13,14}, wurde bis jetzt nicht überprüft.

Es scheint somit weiterhin angezeigt, von Insulin-Aktivität (insulin-like activity) und nicht von Serum-Insulin schlechthin zu sprechen^{1,9}.

R. E. HUMBEL

Medizinische Klinik der Universität Zürich, 16. März 1959.

Summary

A modified technique for the estimation of insulin-like activity of serum, using the glucose-uptake of isolated rat epididymal fat tissue is described. The method seems to be reliable, accurate, relatively specific and – in our hands – superior to the diaphragm method.

¹² J. GROEN, A. F. WILLEBRANDS, H. G. VAN DER GELD und R. E. BOLINGER, Ciba Fdt. Coll. Endocrin. 12, 255 (London 1958).

¹³ J. BORNSTEIN, J. biol. Chem. 205, 513 (1953).

¹⁴ J. VALLANCE-OWEN, B. HURLOCK und N. W. PLEASE, Lancet II/1955, 583.

Relations du «métabolisme respiratoire» des bactéries et du type de bactériophage avec l'activité de substances antiphages

Ayant mis en évidence la différence d'attaque¹ des bactériophages de la série T, différence qui permet de subdiviser ceux-ci en deux groupes selon la lyse provoquée, nous avons étudié l'action de substances antiphages sur le cours du métabolisme respiratoire de l'ensemble (bactéries-bactériophage) afin de déceler une éventuelle différence d'action entre des types T de caractère différent tels T₁ et T₂. Nous avons utilisé la méthode de Warburg précédemment décrite² en la considérant en même temps comme un test quantitatif de démonstration de la spécificité et du caractère de l'action antiphage. Parmi nos substances antiphages, nous avons choisi le dérivé 9238, c'est-à-dire: Tetra-chlorhydrate de bis-*p*,*p*'-[4-*p*-(diéthylamino-éthylamino)-7-méthoxy-quinazolyl-(2-amino)-diphénylsulfone.

Cette substance possède une «zone d'action» relativement large, c'est-à-dire qu'elle inhibe encore le bactériophage T₁ à une dose environ dix fois plus faible que la dose bactériostatique de sa souche sensible. L'inhibition du

¹ R. MEIER, L. NEIPP et W. KUNZ, Schweiz. med. Wschr. 87, 1427 (1957). – L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER, Exper. 13, 74 (1957).

² L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 19, 331 (1956).

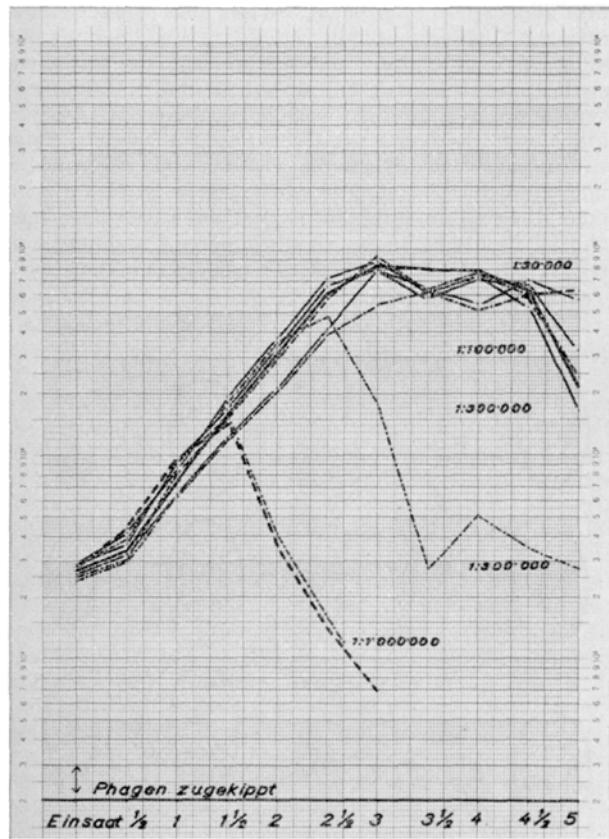
⁷ E. W. SUTHERLAND und C. F. CORI, J. biol. Chem. 172, 737 (1948).

⁸ J. KÄGI und H. LANGMANN, Schweiz. med. Wschr. 85, 402 (1955).

⁹ P. J. RANDLE, Ciba Fdt. Coll. Endocrin. 11, 115 (London 1957).

¹⁰ A. E. RENOLD, A. I. WINEGRAD und D. B. MARTIN, Helv. med. Acta 24, 322 (1957).

¹¹ A. I. WINEGRAD und A. E. RENOLD, J. biol. Chem. 233, 267 (1958).



Courbes 1. Subst. 9238 + *E. coli* Delbrückii + phages T₁ (10⁻¹²) en bouillon Difco 6%.

E. coli Delbr. (Contrôle) ———; Bactériophages (Contrôle) - - -; Bactéries + subst. 9238 - - - -; Bactéries + 9238 + phages - - - - -.

bactériophage se produit à des concentrations qui ne semblent avoir aucune activité «visible», ni sur la respiration bactérienne, ni sur la vitesse de multiplication.

Entre la concentration qui inhibe complètement la bactériolyse et celles qui sont inactives, se situent celles qui ralentissent son apparition sans changer quoi que ce soit à son cours (par exemple 1:300 000).

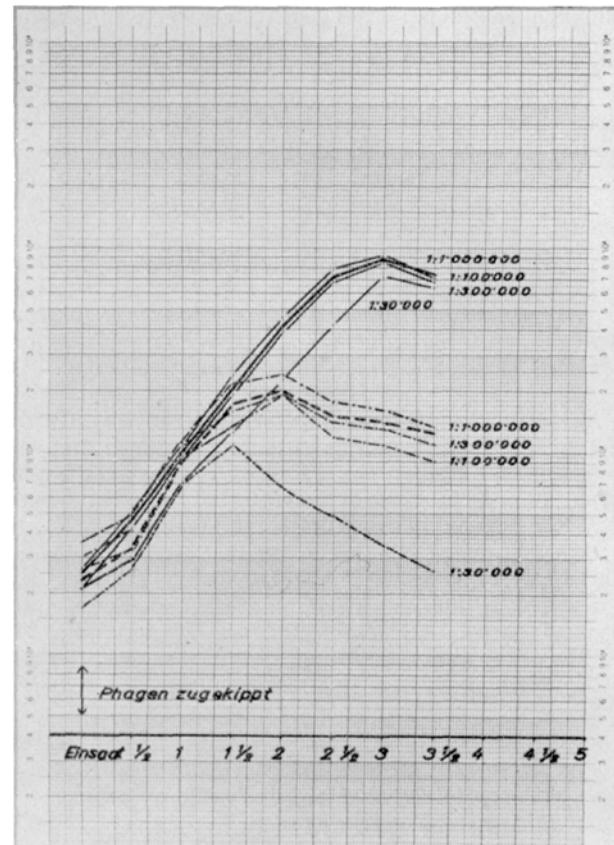
Ce mode d'activité ressemble beaucoup à l'action de la même substance sur *Esch. coli* 207². Une différence cependant est à mentionner: l'amplitude de la zone d'action est un peu plus grande pour ce dernier germe, ce qui provient d'une sensibilité moins grande de la souche sensible d'*Esch. coli* 207 au dérivé 9238.

Cette substance possède également un type et une zone d'action très voisins de ceux de la substance 15858/E (tetrachlorhydrate-tetrahydrate de bis-[4-[4-(3-diéthylamino-propylamino)-6-méthyl-2-pyrimidyl-amino]-phényle]-sulfone), une zone sans activité bactériostatique mais avec une complète action «phagostatique»².

Particulièrement intéressant était d'analyser l'influence de 9238 sur un bactériophage du groupe T₂ T₄ T₆, en l'occurrence le bactériophage T₂.

Les résultats et les courbes ci-dessus montrent qu'avec des concentrations non bactériostatiques de 9238, il n'a pas été possible d'obtenir la moindre action inhibitrice du bactériophage T₂. Les courbes sont analogues à celles obtenues en considérant seulement l'action du bactériophage T₂ sur sa souche sensible.

Même en faisant varier certains facteurs comme la quantité de bactériophages ensemencés, le moment de la



Courbes 2. Subst. 9238 + *E. coli* Delbrückii + phages T₂ (10⁻²) en bouillon Difco 6%.

E. coli Delbr. (Contrôle) ———; Bactériophages (Contrôle) - - -; Bactéries + subst. 9238 - - - -; Bactéries + 9238 + phages - - - - -.

mise en contact avec les bactéries sensibles, la composition du bouillon employé etc., expériences dont nous publierons les résultats ultérieurement, il n'a pas été possible d'observer la moindre action.

Il est pour le moins curieux que les bactériophages du groupe T_{2,4,6} qui semblent posséder une action plus faible ou plus lente vis-à-vis de leur souche sensible, paraissent bien plus résistants à des substances inhibitrices de bactériophages «très voisins» et à activité lytique très prononcée.

D'autre part, cette action lytique particulière des bactériophages T₂ T₄ T₆ ressemble à celle obtenue lors de l'ensemencement d'une quantité insuffisante de phages appartenant à l'autre groupe.

Conclusions. Nos précédents essais *in vitro* (spécificité d'action) sont confirmés par l'emploi du test plus précis qu'est la méthode de Warburg (mesure quantitative du métabolisme respiratoire).

En ce qui concerne l'action de substances «antiphages», telles 9238 et 15858/E, sur l'activité de bactériophages doués d'un mécanisme d'action différent (soit T₁ et T₂), c'est-à-dire sur l'inhibition de la bactériolyse, les essais antérieurs sont confirmés. D'une part, la «respiration» reprend un cours d'apparence normal par suite de l'inhibition de l'action du bactériophage T₁ (premier groupe); d'autre part, il n'a pu être enregistré aucune action de ce genre avec le bactériophage T₂ (deuxième groupe) comme nous l'avons précédemment rapporté pour *Esch. coli* 207.

Des résultats récents montrent que des phénomènes analogues ont été observés avec les autres bactériophages

du premier groupe: T_3 , T_5 et T_7 bien qu'avec certaines petites différences pour T_7 , ainsi qu'avec les deux autres bactériophages T_4 et T_6 appartenant au deuxième groupe.

Ceci démontre une fois de plus la présence d'une spécificité de l'action antiphage des substances synthétiques dans des conditions d'expériences bien définies. Cette spécificité pourrait être due à la présence d'un facteur spécial soit dans la bactérie ou dans le bactériophage, soit dans le milieu extérieur.

L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER

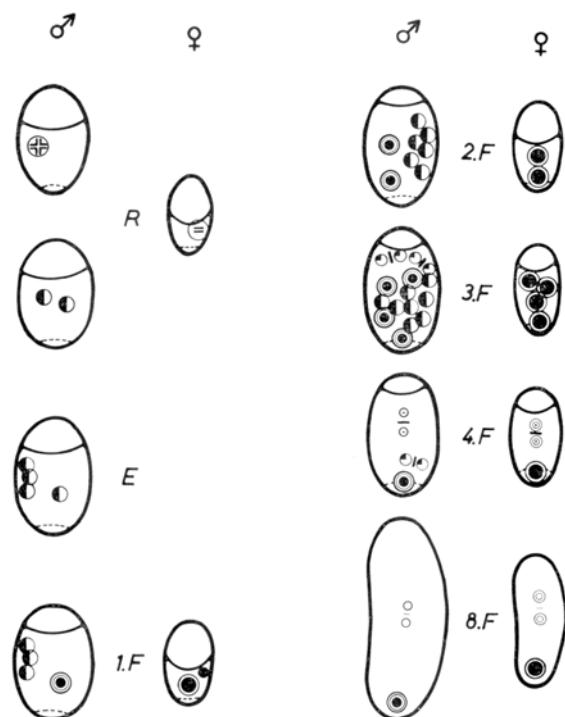
Laboratoires de Recherche du Département pharmaceutique de CIBA Société Anonyme, Bâle (Suisse), le 24 avril 1959.

Summary

Quantitative determination of bacteriolysis with different T_{1-7} -phages confirms earlier observations that with substances inhibiting the action of T_1 -phage the normal respiratory metabolism of the protected bacteria is quantitatively restored in every detail.

With T_2 -phage, showing a different respiratory course of bacteriolysis, no effect is obtained with the same substance, either on the respiration of the bacteria or on the typical course of respiration during bacteriolysis. The action of the phage inhibiting substance against T_1 -phage is therefore an effect of definite specificity.

bevor die Eireifung einsetzt, ist ein erster Geschlechtsunterschied erkennbar: die ♀-Eier sind kleiner als die ♂-Eier, und bei letzteren hat sich im Zuge der Volumenzunahme das Größenverhältnis von Ei- und Nährkammer zugunsten der Eikammer verschoben. ♀♀- und ♂♂-Eier durchlaufen Stadien einer Chromosomenpaarung. Beim ♀-Ei trennen sich jedoch die Partner vorzeitig, und es findet nur eine Reifeteilung statt. Diese ist äquationell und ergibt zwei unreduzierte Kerne: einen Richtungskern nahe der Eoberfläche und einen primären Furchungskern im Eiinneren. Der Richtungskern degeneriert in der Regel.



● 74 - 82, ○ 58 - 76, ◎ 11 Chromosomen
 ● 32 - 43, ○ 10, ◎ 6, ○ 5 Chromosomen
 ○ Kerne nach Elimination einiger Chromosomen

Schema der chromosomal Vorgänge bei der pädogenetischen Entwicklung von *Oligarces paradoxus*.

Sämtliche Kerne befinden sich in Metaphase. (R) Reifeteilung, (E) Endomitose, (F) Furchungsteilung. Das Kreuz (Tetraden) im männlichen Eikern gibt Reduktion, der Doppelstrich im weiblichen Eikern äquationelle Teilung an. Die Chromosomenzahl des männlichen und weiblichen Eikerns liegt zwischen 74 und 82. Der total schwarz ausgefüllte Kern im ♀ der 1. Furchungsteilung stellt den degenerierenden Richtungskern dar. Die einfachen Striche zwischen Kernen der 3., 4. und 8. Furchungsteilung bedeuten eliminierte Chromosomen. In der 4. und 8. Furchungsteilung sind von jedem somatischen Kerntyp nur noch zwei Tochterkerne eingezeichnet, und es ist nur je ein Keimbahnkern dargestellt. Vergrößerung der Eier etwa 115fach.

Beim ♂-Ei dagegen bleibt die Chromosomenpaarung erhalten. Zwei Reifeteilungen laufen ab, die zu vier reduzierten Kernen führen: drei Richtungskerne nahe der Eoberfläche und ein primärer Furchungskern in der Eimitte.

Während beim ♀-Ei erwartungsgemäß an die Reifeteilung unmittelbar die erste Furchungsteilung anschließt, verhalten sich die Kerne im ♂ abweichend, nämlich folgendermassen: Nach der Meiose setzen alle vier Kerne zu einer Teilung an. Die drei Richtungskerne erreichen ein der Prophase ähnliches Stadium und gehen ungeteilt wieder in Ruhekerne über. Der Kern in der Eimitte, der primäre Furchungskern, wurde in Prophase nicht gesehen, wohl

Über die Zytologie der Parthenogenese und der Geschlechtsbestimmung bei der Gallmücke *Oligarces paradoxus* Mein.

Die Gallmücke *Oligarces paradoxus* Mein. besitzt einen heterogenen Generationswechsel, dessen Verlauf ULRICH¹ abklärte. Die parthenogenetische Vermehrung erfolgt bereits auf dem Larvenstadium. Diese Form der Parthenogenese wird als Pädogenese bezeichnet. Je nach gebotenen Kulturbedingungen entwickeln sich die Eier in einer weiblichen Larve pädogenetisch zu ♀♀, zu ♂♂ oder zu ♀♀ und ♂♂ nebeneinander¹. Obwohl somit Umweltfaktoren für die Geschlechtsbestimmung bei *Oligarces* verantwortlich sind, durften wir geschlechtsverschiedene Chromosomenvorgänge in frühen Entwicklungsstadien erwarten. Einen Hinweis geben die Untersuchungen von WHITE² an *Miasator*, einer anderen pädogenetischen Gallmücke, deren Somazellen beim ♀ 12, beim ♂ 6 Chromosomen enthalten. Eireifung und die ersten Furchungsteilungen der pädogenetisch entstehenden ♀♀ von *Oligarces paradoxus* Mein. hat REITBERGER³ an Schnittpräparaten sehr genau analysiert. Das Studium entsprechender Entwicklungsstadien der ♂♂ war bisher an Zuchtschwierigkeiten gescheitert. Nachdem wir eine Methode entwickelt hatten, die ♂♂ in genügender Zahl lieferte, konnten wir den chromosomal Vergleich von ♀♀ und ♂♂ angehen. Wir stellten von Eiern und jungen Embryonen orcein-gefärbte Total- und Quetschpräparate her.

Die Eier sind in Ei- und Nährkammer gegliedert. Am Eipol gegenüber der Nährkammer hebt sich das intensiver färbbare Polplasma vom übrigen Eiplasma ab. Wenn eine pädogenetisch entstandene weibliche Larve aus der abgestorbenen Mutterlarve schlüpft, liegen die Eier noch ungereift im Ovar, und aus Zuchtversuchen geht hervor, dass ihr Geschlecht noch nicht determiniert ist. Kurz

¹ H. ULRICH, Naturwissenschaften 28, 569 (1940).

² M. J. D. WHITE, J. Morph. 79, 323 (1946).

³ A. REITBERGER, Chromosoma 1, 391 (1940).