

met de telles cultures à la désintégration ultrasonique, on voit, comme avec les formes non sporulées, tout d'abord un découpage des chaînes, ensuite une destruction des parois latérales. Bien que ces parois soient probablement influencées enzymatiquement, elles ne sont pas plus rapidement dissoutes que celles des formes végétatives: après 20 min, une partie des parois est solubilisée mais une autre partie persiste sous la forme de débris; les spores sont libres, parfaitement intactes.

2. *Effet des procédés sur les spores de quelques souches de B. cereus.* Après 1 à 2 h d'agitation dans l'oscillateur sonique, les spores de 2 souches de *B. cereus* sont restées réfringentes, intactes mais l'examen dans l'encre de Chine et l'addition d'un serum antispores de *B. cereus* a révélé que l'exosporium était presque complètement dissout. Par ce procédé il sera donc possible de séparer l'exosporium de la paroi des spores et nous espérons que l'isolement de l'exosporium facilitera les études chimiques et immunologiques de cette couche superficielle des spores.

Nous avons comparé l'effet des vibrations ultrasonique et de l'agitation mécanique sur une mélange de spores de diverses souches de *B. cereus*. Après 45 min d'agitation dans l'oscillateur sonique, toutes les spores ont conservé leur réfringence mais l'exosporium est presque complètement dissout. Après la même durée d'agitation dans le vibreur MICKLE toutes les spores sont noires ou vides mais ont gardé leur exosporium. La moitié de cette dernière suspension est de nouveau agitée durant 45 min dans le vibreur MICKLE: on peut encore voir beaucoup de spores vides avec leur exosporium et la suspension reste trouble; l'autre moitié est agitée durant 45 min dans l'oscillateur sonique: il n'est plus possible d'identifier une seule paroi de spores même après l'addition du serum antispores de *B. cereus* et la clarification de la suspension est très nette. Une agitation préalable de 45 min dans le vibreur ultrasonique ne semble pas augmenter la sensibilité des spores de *B. cereus* à la désintégration mécanique dans le vibreur MICKLE.

J. TOMCSIK et MÉLINA BOUILLE

Institut d'Hygiène de l'Université de Bâle (Suisse), le 28 juillet 1959.

Zusammenfassung

Ultraschall-Behandlung der in Ketten gewachsenen aeroben Bazillen spaltet vorerst die Querwände des Zellverbandes, wodurch in 60 s intakte, monozelluläre Formen entstehen. Die «vegetative» Zellwand wird erst nach einigen Minuten geschädigt; sie wird dann je nach Spezies in 20–60 min mehr oder weniger aufgelöst, wobei die Kapsel weder bei der Mickle- noch bei der Überschallbehandlung nennenswerte Schutzwirkung entfaltet. Die von den vegetativen Zellresten befreiten, bakteriellen Endosporen bleiben bei der Ultraschall-Behandlung, im Gegensatz zur Mickle-Behandlung, selbst nach 2 h intakt; ihr Exosporium wird aber nach etwa 1 h aufgelöst. Diese Beobachtung ermöglicht die Isolierung des Exosporiums und das serologische und chemische Studium dieser bisher nicht klar definierten Sporenschicht. Durch alternierende Behandlung: Ultraschall-Mickle-Ultraschall kann auch die Sporenwand, frei vom Exosporium, in Lösung gebracht werden.

Der Einfluss von Chlorpromazin auf die oxydative Phosphorylierung von Tumormitochondrien

In früheren Untersuchungen^{1,2} konnten wir zeigen, dass Trijodthyronin in hoher Konzentration auf den Fundamentalprozess der mit der Atmung gekoppelten oxydativen Phosphorylierung störend einwirkt. Die glykolyisierende Karzinomzelle erleidet eine stärkere energetische Schädigung als ökonomisch arbeitende, normale proliferierende Zellen wie das Knochenmark usw. Experimentelle und klinische Beobachtungen zeigten eindrucksvolle Regressionen verschiedener Tumorarten³. Da aber TjTh Nebenerscheinungen zeigte, prüften wir Chlorpromazin (als «Megaphen» der Firma Bayer) auf seine Wirksamkeit innerhalb unserer Kombinationsmöglichkeiten.

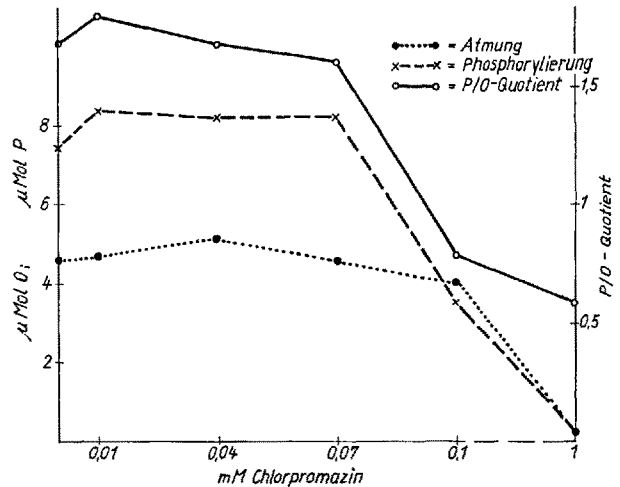


Abb. 1. Einfluss von Chlorpromazin auf die Atmung, Phosphorylierung und den P/O-Quotienten von Lebermitochondrien. Medium: 50 μ M Phosphat; 60 μ M $MgCl_2$; 30 μ M NaF; 150 μ M Glukose; 0,4 mg Hexokinase; 150 μ M KCl; 30 μ M-Ketoglutaräure; 5 μ M ATP; 0,3 ml Mitochondrien (1–1,5 mg N) in 0,25 M Zucker- und 0,002 M EDTA-Lösung; pH 7,0. Endvolumen: 3,0 ml; Temperatur 30°C; Zeit: 15 min.

Vom Chlorpromazin ist bekannt, dass es die Atmung von isolierten Lebermitochondrien der Ratte bei gleichzeitiger Verminderung der Phosphorylierung herabsetzt^{4–7}. Im Gegensatz zu Löw⁷ fanden wir, dass Chlorpromazin in geringen Konzentrationen von 10^{-8} bis 10^{-5} M eine Steigerung der Atmung und Phosphorylierung bei isolierten Lebermitochondrien der Ratte erkennen lässt. Es fand sich eine Zunahme des P/O-Quotienten (Abb. 1).

Wir untersuchten den Einfluss von Chlorpromazin auf die oxydative Phosphorylierung von Tumormitochondrien und fanden eine deutliche Beeinflussung der P/O-Quotienten schon bei geringen Chlorpromazindosen.

¹ W. LÜHRS, E. HEISE und G. BACIGALUPO, *Nature*, 183, 1534 (1959).

² G. BACIGALUPO, W. LÜHRS und E. HEISE, *Acta biol. med. german.* 2, 455 (1959).

³ W. LÜHRS, 7. Deutsch. Krebskongress, April 1959 in Berlin (im Druck).

⁴ H. B. COLLIER und G. M. ALLENBY, *Can. J. med. Sci.* 30, 443 (1952).

⁵ L. G. ABOOD, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N.Y. 88, 688 (1955).

⁶ M. BERGER, H. J. STRECKER und H. WAELSCH, *Nature* 177, 1234 (1956).

⁷ H. Löw, *Biochim. biophys. Acta* 32, 11 (1959).

Abbildung 2 zeigt die Atmung, Phosphorylierung und den P/O-Quotienten von isolierten Mitochondrien des Ehrlich-Mäuse-Ascites-Tumors unter der Einwirkung geringer Konzentrationen von Chlorpromazin.

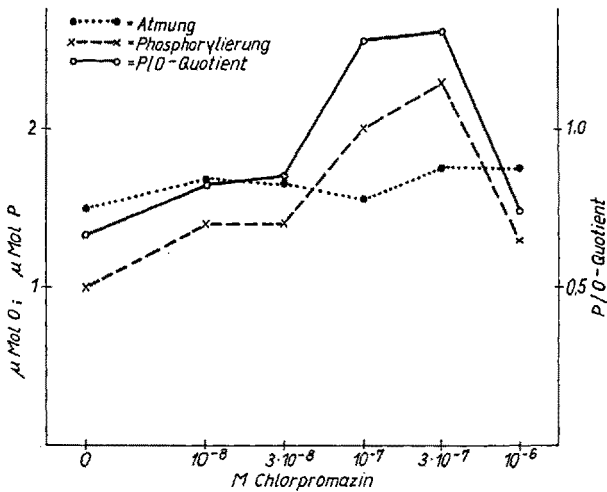


Abb. 2. Einfluss von Chlorpromazin auf die Atmung, Phosphorylierung und den P/O-Quotienten von Mäuse-Ascites-Tumor-Mitochondrien. Medium: 50 μ M Phosphat; 60 μ M $MgCl_2$; 30 μ M NaF; 75 μ M Glukose; 0,2 mg Hexokinase; 5 μ M ATP; 0,02 μ M Zytochrom c; 3 μ M DPN; 30 μ M- α -Ketoglutarat. 0,3 ml Mitochondrien (1,2 mg N) in 0,25 M Zucker- und 0,002 M EDTA-Lösung; pH 7,0. Endvolumen: 3,0 ml; Temperatur: 30°C; Zeit: 20 min.

Interessant war das Ergebnis einer gleichen Versuchsanordnung bei isolierten Mitochondrien des Walker-Karzinoms der Ratte (Abb. 3). Hier fand sich eine unterschiedliche Wirkung höherer Konzentrationen des Chlorpromazins gegenüber der Stoffwechselwirkung auf normale Lebermitochondrien (siehe Abb. 1 zum Vergleich).

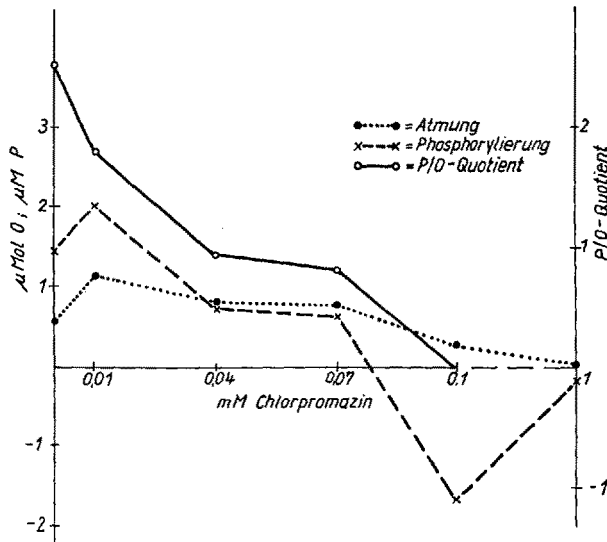


Abb. 3. Einfluss von Chlorpromazin auf die Atmung, Phosphorylierung und den P/O-Quotienten von Walker-Karzinom-Mitochondrien. Bedingungen wie in Abbildung 1.

Die in den Abbildungen verwendeten Abkürzungen sind: ATP = Adenosin Triphosphorsäure; ADP = Adenosin Diphosphorsäure; DPN = Diphosphor-Pyridin-Nukleotid; EDTA = Äthylen-Diamin-Tetraessigsäure.

Man kann aus diesen Ergebnissen folgern, dass durch höhere Konzentrationen von Chlorpromazin der P/O-

Quotient der Tumormitochondrien wesentlich stärker herabgesetzt wird als der von normalen Lebermitochondrien. *In vivo* bei transplantierbaren Tiertumoren erhielten wir Ergebnisse, die unsere *in-vitro*-Befunde bestätigen. Hierüber wird an anderer Stelle berichtet. Gleiche Ergebnisse wurden unter gleichen Versuchsbedingungen mit einer anderen entkoppelnden⁸ Substanz, dem Atebrin, erhalten.

Auf Grund unserer ersten klinischen Erfahrungen bei der kombinierten Behandlung des humanen Krebses mit Cytostatica oder Bestrahlung möchten wir folgern, dass Tumor-Mitochondrien gegenüber denen von gesunden, auch proliferierenden Mausegeweben eine grössere Beeinflussbarkeit durch Stoffe zeigen, die die oxydative Phosphorylierung je nach Konzentration steigern oder mindern können. Für das Chlorpromazin möchten wir feststellen, dass hohe Konzentrationen dieses Stoffes durch die nachweisbare Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung die schon energetisch schwache Tumorzelle in ein Energie-defizit versetzen, so dass zusätzlich verabreichte Cytostatica oder energiereiche Strahlen selektiver wirken können. Beim krebserkrankten Menschen wirken sich die bekannten anderen pharmakologischen Effekte des Chlorpromazins günstig aus.

W. LÜHRS, G. BACIGALUPO,
B. KADENBACH und E. HEISE

Abteilung für experimentelle und klinische Chemo-Therapie der Geschwulst-Klinik des Institutes für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften in Berlin-Buch, 12. Mai 1959.

Summary

High concentrations of chlorpromazine cause a considerable decrease of the oxidative phosphorylation of tumor mitochondria and rat liver mitochondria. Regarding preliminary experimental and clinical investigations, we assume that malignant tumors can be sensitised to cytotoxic substances and ionising radiations impairing their energy metabolism by uncoupling the oxidative phosphorylation.

⁸ H. Löw, Biochim. biophys. Acta 32, 1 (1959).

Immune Electrophoretic Analysis of Bovine Milk and Purified Bovine Milk Protein Fractions

The analysis of proteins by means of diffusion-in-gel techniques has been shown to be advantageous because of the sensitivity and specificity of these methods¹. As a part of a study of bovine milk proteins from chemical and immunological points of view an investigation of the antigenic composition of bovine milk and some purified proteins from milk has been undertaken by means of the Ouchterlony plate technique and immune electrophoresis. Similar studies on human milk have recently been published by HANSON and JOHANSSON²⁻⁴.

Mature bovine milk was used throughout this study. Immune sera against the milk were obtained from hyper-

¹ P. GRABAR, Adv. Protein Chem. 13, 1 (1958).

² B. JOHANSSON, Nature 181, 996 (1958).

³ L. A. HANSON and B. JOHANSSON, Int. Arch. Allergy (in press).

⁴ L. A. HANSON, Int. Arch. Allergy (in press).