

Tabelle I

Hemmung der Tyrosinase durch Thioharnstoff. 15 ml gepufferter Enzymextrakt, 5 ml 1/15 M Phosphatpuffer oder gepufferter Thioharnstofflösung, 15 mg DOPA, pH 5,6, Temperatur 30°C, Inkubationszeit 1 h, Küvettentiefe 5 cm

Endkonzentration des Thioharnstoffs M	E
—	0,32
10 ⁻³	0,33
10 ⁻²	0,00
10 ⁻¹	0,00

hatten. Die relativen Aktivitätseinheiten wurden hierzu bestimmt durch die Extinktion nach einer einstündigen Inkubation mit DOPA, bezogen auf den Gesamt-N des Extraktes, berechnet als Eiweiss. Die Stickstoffanalysen erfolgten nach der Methode von Parnas und Wagner. Der erhaltene Quotient wurde mit 1000 multipliziert. Die Resultate sind in Tabelle II aufgeführt.

Tabelle II

Tyrosinaseaktivität in alten und frischen Tabaksamen. 15 ml wässriger Enzymextrakt, 15 mg DOPA, Temperatur 37°C, Inkubationszeit 1 h, Küvettentiefe 3 cm

	E	Eiweissgehalt in 15 ml des Enzymextraktes mg	Aktivitätseinheiten E · 1000 mg Eiweiss
Alte Samen (1955)	0,31	3,56	87,1
Frische Samen (1958)	0,32	3,75	85,3

Unsere Messungen beweisen die Gegenwart aktiver Tyrosinase in den Tabaksamen. Ihre Wirksamkeit ist bei drei Jahre alten Samen gleich wie in frischen Samen. Sie weist sowohl die Cresolase- wie auch die Catecholaseaktivität auf. Die Induktionsperiode, die bei der Inkubation mit *p*-Cresol immer zu beobachten ist, dauerte etwa 1 h. Obwohl die Enzymextrakte mit DOPA sehr rasch reagierten (Catecholaseaktivität), konnte nach Inkubation mit Chlorogensäure keine Extinktionszunahme festgestellt werden, weder bei alten noch bei frischen Samen. Wir sehen darin einen Unterschied der Tyrosinase aus Samen gegenüber jener der Tabakblätter, welche Chlorogensäure sehr rasch oxydieren.

A. FREY-WYSSLING und J. W. SZARKOWSKI

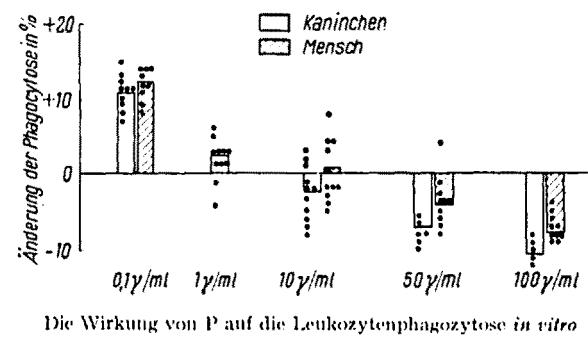
Institut für Allgemeine Botanik der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, 23. Mai 1959.

Summary

Water or buffered extracts from tobacco seeds (*Mont Calme brun*) showed both cresolase and catecholase activity of tyrosinase, which was inhibited by 10⁻² M thiourea. No difference of activity could be observed in extracts from old and fresh seeds. Unexpectedly, chlorogenic acid is not oxidized by this tyrosinase.

Prednisolon-Na-succinat und die Phagozytose der Leukozyten

Seitdem sich die Möglichkeit ergeben hat, dass zwischen den Hormonen der Nebennierenrinde und der Leukozytenphagozytose Beziehungen bestehen, haben wir uns mit dieser Frage mehrmals beschäftigt¹. Wir stellten fest, dass die normale Leukozytenphagozytose von einer parenteral verabreichten grösseren pharmakologischen Cortisondosis deutlich herabgesetzt wird, während *in vitro* kein signifikanter Unterschied auftritt². ESSELIER *et al.* fanden, dass die Phagozytose der eosinophilen Leukozyten *in vitro* nicht durch Cortison, hingegen durch Hydrocortison verminder werden konnte³. ACTH ergibt je nach der Grösse der parenteral angewandten Dosis Senkung oder Erhöhung⁴. CRABBÉ beobachtete gesteigerte Phagozytentätigkeit nach kleinerer parenteraler Cortisondosis⁵.



Die Wirkung von P auf die Leukozytenphagozytose *in vitro*

Da in letzter Zeit mehrere wirksame antiphlogistische Corticosteroide erkannt wurden, untersuchten wir die Wirkung des in letzter Zeit therapeutisch oft verwendeten, wasserlöslichen Prednisolon-Na-succinat (P).

Die Phagozytenuntersuchungen haben wir mit aus dem Kreislauf entnommenem Blut nach der eingehend beschriebenen Methode von PLATONOW-LUDÁNY-VAJDA durchgeführt⁶. Die Fehlergrenze (Streuung) der Zählung beträgt: $\sigma < \pm 8\%$.

Zuerst untersuchten wir die Bakterienphagozytose der aus dem kreisenden Blut entnommenen Granulozyten, die nach intravenöser Verabreichung von 3 mg/kg P (Solu-Dacortin «Merk», Di-Adreson-F-Aquosum «Organon») verändert wird. Bei an 5 Kaninchen durchgeföhrten Untersuchungen hatte die Phagozytätigkeit der weissen Blutzellen nach 24 h um durchschnittlich -30 [$24/-36/$ %], nach Ablauf von 48 h um -10 [$-2/-19/$ %] abgenommen. Am 3. Tage trat eine Erhöhung auf $+20$ [$+12/-31/$ %] ein, die am 4. Tage bereits verschwunden war. Nach mehrtagiger Ruhepause trat nach intravenös injiziertem 0,3 mg/kg P eine Erhöhung der Tätigkeit der weissen Blutzellen beim selben Kaninchen schon nach 1 h durchschnittlich um $+30$ [$+26/-36/$ %] ein, die nach 2 h auf $+19$ [$+16/-24/$ %], nach 6 h auf $+10$ [$+5/-15/$ %]

¹ F. KOKAS, G. LUDÁNY und Gy. VAJDA, Quart. J. exp. Physiol. 36, 89 (1951).

² G. LUDÁNY, Gy. VAJDA und R. BACRHAUSZ, Arch. int. Pharmacodyn. 89, 229 (1952).

³ A. F. ESSELIER, P. JEANNERET, L. CARMEN und N. WINKELSTEIN, Int. Arch. Allergy 6, 129 (1955).

⁴ G. HORVÁTH, G. LUDÁNY und Gy. VAJDA, Tag. d. Ung. Physiol. Ges. Pécs, 15-18, 7, 1953; Acta physiol. hung. Suppl. 1953; Acta physiol. hung. 7, 431 (1955).

⁵ J. CRABBÉ, Acta endocrinol. 21, 41 (1956).

⁶ G. LUDÁNY, Gy. VAJDA, A. DÖKLEN und LI BOK NAM, Acta neuroveg. 20, 50 (1959).

zurückging. P zeigt demnach *in vitro* einen ähnlichen Effekt wie Cortison.

In den folgenden Versuchsreihe untersuchten wir *in vitro* die Wirkung von verschiedenen verdünnten P-Lösungen auf die Tätigkeit der von Menschen und Kaninchen stammenden weissen Blutzellen. Die Resultate werden in der Abbildung gezeigt. In der Konzentration 0,1 γ/ml ist eine schwache, aber deutliche Aktivitätssteigerung zu beobachten. Bei höherer Konzentration tritt eine Hemmung ein. Ein ähnlicher Effekt wurde auch in bezug auf die Migration der Leukozyten beobachtet⁷. Nach unseren Feststellungen verfügt P demnach bei der Leukozytenphagozytose über einen direkten zellulären Angriffspunkt.

Die Untersuchungen mit Na-succinat ergaben, dass die Phagozytose der Leukozyten in Konzentration von 10^{-9} – 10^{-6} nicht signifikant beeinflusst wird; nur bei einer Verdünnung von 10^{-4} wird die Zelltätigkeit um 16% gesteigert.

Die *in vitro* ermittelte Wirkung macht indessen nur etwa 40% der *in vivo* festgestellten aus. Liessen wir Rattenleber nach JANCZO⁸ mit P-haltiger Ringer-Lösung durchströmen, so war die Wirkung der Perfusionsflüssigkeit auf die Phagozytose beträchtlich erhöht und erreichte selbst den *in vitro* beobachteten Wert⁹. Bei den mit Methioninmangeldiät gefütterten Tieren unterblieb die Erscheinung. Nach diesen Untersuchungen scheint es, dass sich P in der Leber zu einem wirksameren Hormonprinzip umgestaltet und dieser Prozess mit der Methylierung zusammenhängt¹⁰.

G. LUDÁNY, J. RIGÓ, J. SÓS und GY. VAJDA

Patho-Physiologisches Institut der Universität Budapest,
1. August 1959.

Summary

Intravenous administration of 3 mg/kg body weight prednisolon-Na-succinate (P) decreased, after 24 h, by 30% the bacterial phagocytosis of leukocytes of rabbits. After 48 h, the effect became a slight increase. At a dose of 0.3 mg/kg, P exerts a stimulating effect which ceases within some hours. In *in vitro* experiments, it showed increased or decreased action depending upon the concentration. When perfused through the liver, the efficacy of P rises strikingly.

⁷ M. M. KETCHEL, B. F. CUTTING und S. H. STURGIS, J. exp. Med. 107, 211 (1958).

⁸ N. JANCZO, *Die Speicherung* (Akad. Verlag Budapest 1955).

⁹ J. RIGÓ, GY. VAJDA und G. LUDÁNY, Corticosteroid Symp. Budapest, 8, 10, 12, 1958.

¹⁰ G. LUDÁNY, J. RIGÓ, J. SÓS und GY. VAJDA, Arch. int. Pharmacodyn., (1960), im Druck.

to indicate that the secretion of Mehlis' gland does not become part of the egg-shell as they are histochemically dissimilar. According to HANUMANTHA-RAO² Mehlis' gland secretion is probably concerned with the release of shell formative substances through its stimulation of vitelline cells and further he shows quite clearly that egg-shell construction in *Fasciola hepatica* occurs in the uterus but not in the Mehlis' gland-associated ootype. The exact chemical nature of the gland secretion however, remained obscure but recently extended histochemical investigations have provided more accurate interpretation of the histochemistry of this gland in *F. hepatica*.



Fig. 1.—Section of *F. hepatica* showing Mehlis' gland (↑) positive to Baker's acid hematein. Fixation in formaldehyde-calcium and postchromatation

It has been established now that aqueous azur I and azur I-Schiff stain both the shell material and Mehlis' gland cells. It had been reported earlier that the latter stain was not effective upon the gland cells as the material used was fixed in Bouin's and a feeble reaction that resulted was not detected. Fixation in formal-calcium followed by postchroming as suggested by BAKER³ gave a recognizable positive reaction. The gland cells gave distinctly positive reactions with BAKER's acid hematein, Sudan black B, the copper phthallocyanine method of PEARSE⁴, and the periodic acid-Schiff technique, while Nile blue imparted a blue colour. In parallel sections of material fixed in weak Bouin's followed by pyridine extraction as recommended by BAKER, the gland cells were negative to the above tests. The positive BAKER's acid hematein test (Fig. 1) and Sudan black B reactivity (Fig. 2), followed by a negative result (Fig. 3) in pyridine extracted material, are considered as the most sensitive histochemical procedures so far known for the recognition of phospholipids. Again, CAIN⁵ emphasized the usefulness of the Nile blue test in distinguishing acid lipids like phospholipids which develop a blue colour in contrast to the neutral fats which turn red. All these tests give confirmatory evidence of the activity of Mehlis' gland in *F. hepatica* as elaborating and secreting mainly a phospholipid.

² K. HANUMANTHA-RAO, J. Parasitol., 45, in press (1959).

³ J. R. BAKER, Quart. J. micr. Sci. 87, 441 (1946).

⁴ A. G. E. PEARSE, J. Pathol. Bact. 70, 554 (1955).

⁵ A. J. CAIN, Biol. Rev. 25, 73 (1950).

Histochemistry of Mehlis' Gland and Egg-Shell Formation in the Liver Fluke *Fasciola hepatica* L.

It is now well known through the researches of several workers that the egg-shell in trematodes and pseudophyllidean cestodes consists of quinone-tanned protein and the precursors of the tanning system have been shown to be the products of vitelline cells. In a recent review, CLEGG and SMYTH¹ suggest and adduce evidence

¹ J. A. CLEGG and J. D. SMYTH, Exper. Parasitol., in press (1959).