

indicate that this treatment causes a deviation to right of nuclear volumes, both in intact and castrated animals. A high percentage of the highest nuclear classes, up to and over 700 μ^3 , is particularly evident in castrated, testosterone-treated rats. In the latter two groups, the mean nuclear volumes are 452 and 637 μ^3 respectively.

From our investigation it appears that castration in adult male rats elicits in exorbital lacrimal glands a relative prevalence of the lower nuclear classes. Moreover it appears that, both in intact and castrated animals, but more evidently in the latter, testosterone-treatment results in an increased percentage of the highest nuclear classes, i. e. in hypertrophic nuclear changes.

It is noteworthy that this nuclear hypertrophy is closely connected to the onset of structural changes of the glands; actually, it has been shown that testosterone treatment produces in the glands an alveolar structure, bearing a mucous secreting pattern, different from the acinar and serous one existing normally (CAVALLERO and PINI⁶).

These observations give further support to the view that the exorbital lacrimal glands of the white rat might be considered as a target organ of male sex hormones.

C. CAVALLERO and P. MOREIRA

Istituto di Anatomia e Istologia patologica, Università di Pavia (Italy), May 30, 1959.

Riassunto

La ghiandola lacrimale extraorbitale (ghiandola di Loewenthal) del ratto albino presenta modificazioni nucleari in seguito a castrazione ed a somministrazione di propionato di testosterone. La castrazione determina una prevalenza delle classi nucleari più basse, mentre la somministrazione di ormone maschile aumenta la percentuale delle classi più alte. L'ipertrofia nucleare è al massimo evidente in ratti castrati e trattati con ormone.

PRO EXPERIMENTIS

Zur Methodik der Gefrierschnitt-Mikroautoradiographie

Das Studium der Verteilung inhalierten Radons im Tierkörper in mikroskopischen Dimensionen hat uns vor die Aufgabe gestellt, autoradiographisch Lokalisationen seines α -strahlenden Folgeproduktes RaF (= Po²¹⁰) nachzuweisen¹.

Die Gefahr einer Extraktion oder Translokation eines Radioelements bei der üblichen histologischen Vorbehandlung des Gewebes ist bekannt und im vorliegenden Fall besonders gross, da weder das Radon noch seine Folgeprodukte in chemische Verbindungen eingebaut werden, weil der Zerfall des Radons in flüssiger Luft vor sich geht. Auch eine Fixierung durch Gefriertrocknung konnte nicht befriedigen, da bei der nicht zu umgehenden Einbettung des Gewebes in Paraffin oder Carbowachs die Möglichkeit einer innergeweblichen Verlagerung des Radioelements nicht auszuschliessen ist.

In üblicher Weise hergestellte Gefrierschnitte unfixierter Organe tauten während des Schneidens auf und zeigten keine einheitlichen Schnittdicken. Erst die Verwendung einer Spezial-Kühlkammer mit eingebautem Mikrotom² ermöglichte die Herstellung einwandfreier nativer Organschnitte und schaltete eine Verwischung der Aktivität aus.

Während TAUGNER und WAGENMANN³ nach Beendigung der Exposition Gefrierschnitt und Film voneinander trennen und das Autoradiogramm mit dem histologischen Bild eines Nachbarschnittes vergleichen mussten, erstrebten wir, den zur Erzeugung des Autoradiogramms benutzten Schnitt auch während des photographischen Entwickelns und allen weiteren Behandlungen mit dem Film in Kontakt zu belassen.

Wir erreichten dies auf folgende Weise:

Die 5 μ dicken Schnitte werden auf einem gereinigten, gut entfetteten Objektträger gestreckt. Auf den rauhen Oberfläche eines mit Gelatine überzogenen Objektträgers, wie man ihn üblicherweise für das stripping-Verfahren benutzt⁴, erhält man keine faltenfreien Schnitte. Die Präparate bleiben noch etwa 2 h zur Trocknung im Innenraum des Kryostaten, werden dann entweder bis zum Folgetag in einer Kühltruhe bei -20°C aufbewahrt oder unmittelbar durch kurzzeitiges Eintauchen in eine Chromalaungelatine-Lösung (0,5 g Chromalaun und 5,0 g Gelatine auf 1000 cm³ aqua destillata) hauchdünn überzogen. GUIDOTTI und PASSALACQUA⁵ empfehlen eine Schutzschicht zwischen Gewebe und Film in Form eines Plexiglas-Überzugs (1%ige Lösung in Chloroform). Die Verwendung von Plexiglas hat den Nachteil, dass die Schnitte vor der Exposition gefärbt werden müssen, weil der Farbstoff die Schutzschicht nicht zu durchdringen vermag.

Während Expositionen über mehrere Wochen hinweg erfährt das native Gewebe leicht Veränderungen, die durch Aufbewahrung in der Kühltruhe bei -15 bis -20°C ausgeschaltet werden können. Die tiefen Temperaturen schaden zwar den Emulsionen nicht, setzen jedoch ihre photographische Empfindlichkeit herab⁶. Wir sind deshalb zur Kühlzschrank-Exposition (2-4°C) zurückgekehrt, haben aber zur Minderung der Gewebsautolyse die Exposition in einer N₂-Atmosphäre in Präparatkästen im Exsikkator vorgenommen. Diese Massnahme reduzierte auch das «fading»⁶⁻⁸. ALBOUY und FARAGGI⁷ haben die Wirkung der Veränderung der Zusammensetzung der die Emulsion umgebenden Atmosphäre bei konstanter Temperatur und konstanter relativer Feuchtigkeit geprüft und fanden zum Beispiel für die ILFORD C2 Kern-Emulsion, dass die fading-Rate in reinem Sauerstoff doppelt so gross wie in Luft und zehnmal so gross wie in Stickstoff ist.

Die Schnitte lassen sich nach dem photographischen Entwickeln durch die beiden für Farbstoff (zum Beispiel Hämatoxylin nach BÖHMER und Erythrosin) permeablen Schichten hindurch anfärben. Bei der Differenzierung in angesäuertem Alkohol entfärben sich die Gelatineschichten schneller als das Gewebe, so dass die in Glyzerin gelatine eingedeckten Präparate mikroskopisch gut auswertbar sind (Abb.). Der Glyzerin gelatine wurden zur Konserverung 0,5 g Karbolsäurekristalle/100 g Glyzerin gelatine zugesetzt.

¹ A. SCHRAUB, B. RAJEWSKY, E. REINHOLD, C. WIRTH und V. BELLOCH-ZIMMERMANN, *Die Verteilung inhalierten Radons im Organismus*, Abhandlungen des IX. Int. Congresses für Radiologie (München 1959), im Druck.

² «Kryostat», System Dittes-Duspiva.

³ R. TAUGNER und U. WAGENMANN, Arch. exp. Path. Pharm. 234, 336 (1958).

⁴ G. A. BOYD, *Autoradiography in Biology and Medicine* (Acad. Press Inc., New York 1955).

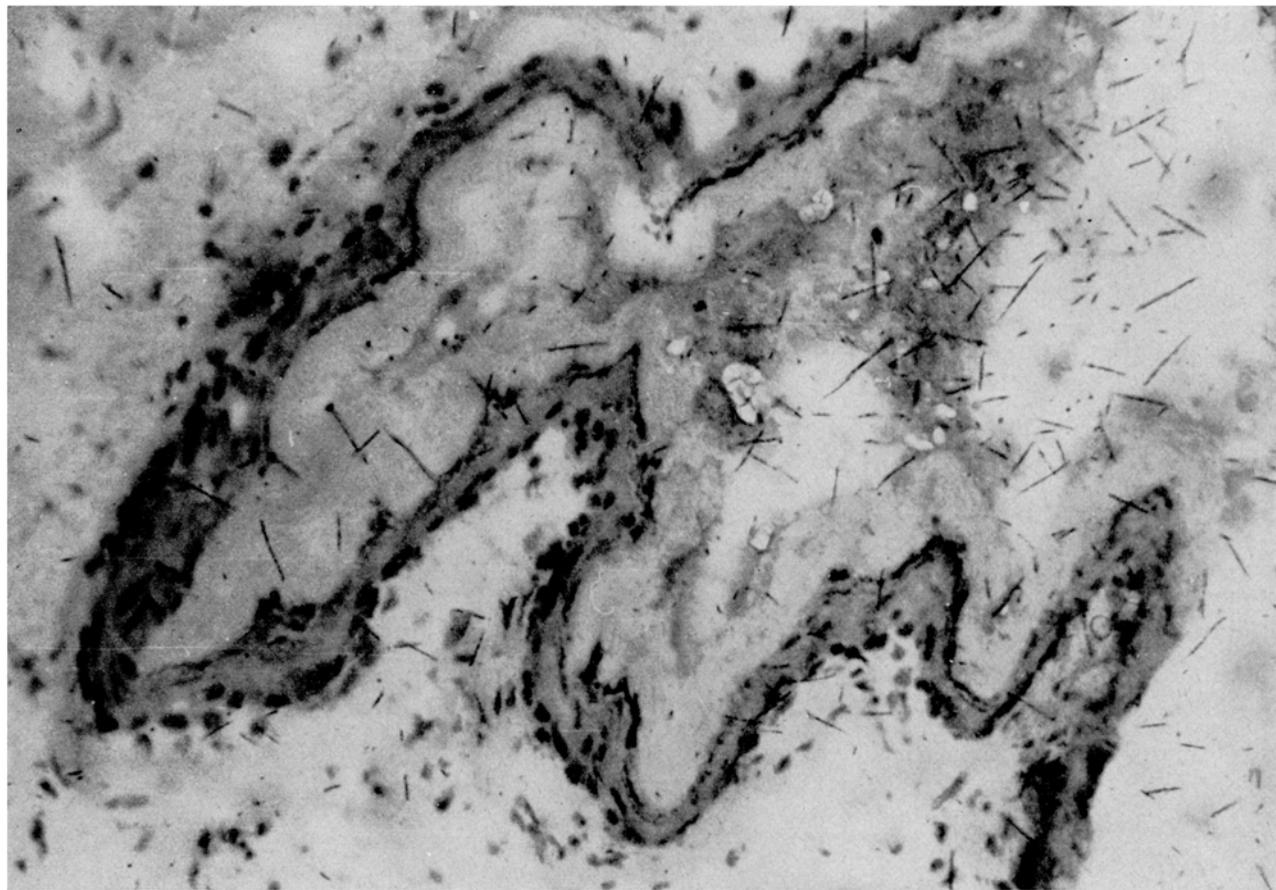
⁵ G. GUIDOTTI und F. PASSALACQUA, Exper. 12, 117 (1956).

⁶ A. BEISER, Rev. mod. Phys. 24, 275 (1952).

⁷ G. ALBOUY und H. FARAGGI, J. Phys. Radium 10, 105 (1949).

⁸ W. LOHMANN, Z. Naturf. 11a, 592 (1956).

⁹ B. RAJEWSKY, *Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939-1946*, Bd. 21, Biophysik, Teil I, p. 169.



5- μ -Gefrierschnitt von der *Tunica mucosa des Oesophagus* der Maus 70d lang Kodak AR 10-stripping exponiert. Vergrösserung 410 \times

Das Überziehen der Gefrierschnitte mit der Chromalaunschutzschicht bedingt, dass der stripping-Film ausgezeichnet haftet. Wir haben die häufig erwähnten Nachteile des stripping-Verfahrens, wie Werfen, Verziehen, Verschieben oder gar Abschwimmen des Films, niemals beobachtet.

Die beschriebene Methode gewährleistet eine eindeutige Zuordnung der α -Spuren zu den histologischen Strukturen und ermutigt uns, auf diese Weise die Frage der intrazellulären heterogenen Verteilung von Radioelementen anzugehen, da es möglich ist, in den 10 μ dicken Emulsionsschichten die Bahnspuren bis zu ihrem Ausgangspunkt zurückzuverfolgen.

Wir danken Fräulein G. ROTH und Fräulein G. SEEL für ihre interessierte und sorgfältige technische Mitarbeit.

ERNA REINHOLZ, V. BELLOCH-ZIMMERMANN und CHRISTL WIRTH

Max Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a. M. (Deutschland), 22. Februar 1960.

Summary

A microautoradiographic technique for frozen sections is described. The method makes it possible to follow the distribution of inhaled radon in the organism with high degree of accuracy. After inhaling radon, the mice were killed and stored in liquid air (freezing method of RAJEWSKY⁹). The organ sections (5 μ thick) were prepared by means of a freezing microtome in the 'Kryostat'. A thin fixing and protecting layer of chromic alum gelatine was placed between the tissue-sections and the photographic emulsion. The exposure took place in an atmosphere of nitrogen.

Effet de divers bois sur certains micro-organismes *in vitro*

(2^e communication)

Action du hêtre étuvé sur le bacille de Koch

Nous avons montré, dans une communication précédente¹, qu'en présence de certains échantillons de bois, la croissance *in vitro* de plusieurs micro-organismes est inhibée. Cette propriété est surtout remarquable pour le hêtre, mais seulement à condition que le bois soit étuvé préalablement (72 h à 150°C). Ayant voulu essayer le pouvoir inhibiteur du bois de hêtre vis-à-vis du mycobacterium tuberculosis, nous avons légèrement modifié la méthode décrite dans notre premier travail, afin de l'adapter à l'étude sur milieu solide.

Technique employée. Nous avons préparé simultanément des éprouvettes contenant, en plus de 8 cm³ d'eau physiologique, soit un morceau de hêtre étuvé (1 g), soit un morceau de hêtre non étuvé. Comme second contrôle, nous avons utilisé des éprouvettes avec de l'eau physiologique seule. Le tout a été stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant un quart d'heure. Nous avons alors préparé une suspension de bacilles de Koch dans de l'eau physiologique en partant de culture virulente. La suspension était fortement concentrée et se présentait, après avoir été mélangée pendant une demi-heure avec un agitateur magnétique, comme un liquide uniformément trouble.

¹ A. MAGGIORA, R. BRUN und W. JADASSOHN, Schweiz. Z. Path. Bakt. 22, 621 (1959).