

the established rate of mucopeptide turnover must be considered as proof of profound changes in the cell walls of the growing and dividing bacterial cells.

Zusammenfassung. Die Zellwände von *Bacillus megaterium*, in der Vorkultur durch $2\text{-}^{14}\text{C}$ Diaminopimelinsäure (DAP) markiert, geben im Lauf ihrer weiteren Kultivierung DAP in den metabolischen «Pool» frei. Ein Teil der freigewordenen DAP wird zu ^{14}C Lysin dekarboxyliert und erscheint in Eiweiss inkorporiert. Aus dem Verhältnis

der Radioaktivitäten in der Eiweiss- und in der Mucopetidfraktion wurde die Geschwindigkeit des Mucopetidumsatzes in den sich vermehrenden Zellen auf 3–4% in der Stunde festgestellt.

J. CHALOUPKA, P. KŘEČKOVÁ, and L. ŘÍHOVÁ

Department of General Microbiology, Microbiological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague (Czechoslovakia), April 30, 1962.

Librium als Strahlenschutzsubstanz für Mäuse

In der letzten Zeit wurden auch psychotrope Drogen, wie Chlorpromazin¹ oder Reserpin², als Strahlenschutzstoffe ermittelt. Das in der Psychiatrie neuerdings ver-

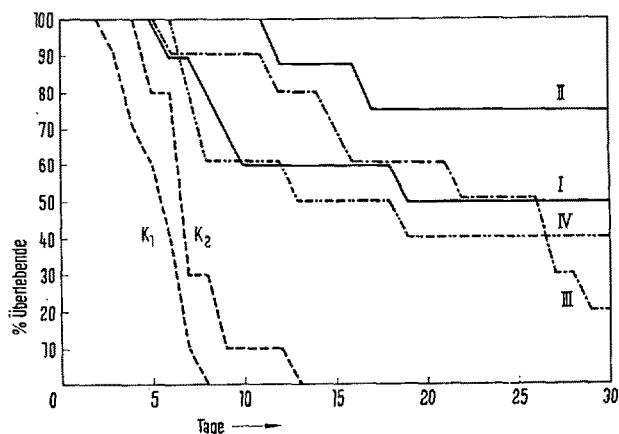


Fig. 1. Zeitverlauf des Prozentsatzes überlebender Mäuse in 30 Tagen nach einmaliger Röntgenbestrahlung (800 r), allein und unter Vorbehandlung mit Librium. K 1, K 2: Kontrollreihen von jeweils 10 Tieren, I: 7,5 mg/kg Librium (10 Tiere, $\chi^2 = 8,69$, $P > 0,001$, $< 0,01$), II: 8,75 mg/kg (8 Tiere, $\chi^2 = 12,85$, $P \leq 0,001$), III: 10 mg/kg (10 Tiere, $\chi^2 < 1$, nicht signifikant), IV: 12,5 mg/kg (10 Tiere, $\chi^2 = 4,00$, $P \sim 0,05$). (χ^2 -Test für den 30. Tag).

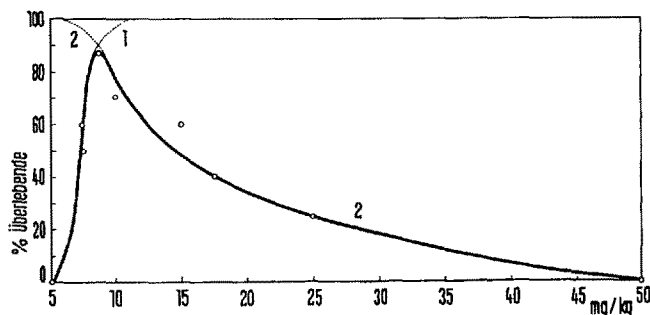


Fig. 2. Beziehung zwischen % Überlebenden (bei 800 r) und der Dosis von Librium. Beobachtungszeit: 15 Tage. Die unterbrochenen Linien deuten, als Fortsetzung der experimentellen Kurven, die einander entgegengesetzten Vorgänge (1: Schutzwirkung, 2: toxische Wirkung) an.

wendete Librium «Roche» (7-Chlor-2-methylamino-5-phenyl-3H-1,4-benzodiazepin-4-oxyl-hydrochlorid) wurde auf diese Wirkung hin noch nicht untersucht. Obwohl es sich in seinen psychischen Effekten von anderen Tranquillizern unterscheidet³, zeigt es mit diesen Gemeinsamkeiten im Wirkungsmechanismus, z. B. in der Senkung der Körpertemperatur⁴.

Zur Prüfung von Librium auf Strahlenschutzwirkung verwendeten wir männliche Mäuse im Durchschnittsgewicht von 15 g (Laborzucht), die mit Röntgenstrahlen (190 kV, 8 mA, 2 mm Al-Filter, FA 40 cm) in der Dosis von 800 r (Dosisrate 40 r/min) ganzbestrahlt wurden. Neben mehreren Kontrollreihen wurden jeweils 8–10 Tiere mit verschiedenen Librium-Dosen 15 min vor Beginn der Bestrahlung i.p. injiziert. Einige repräsentative Ergebnisse (mit statistischen Daten) gibt Figur 1: es zeigte sich, dass innerhalb des Zeitraums von 30 Tagen die Libriumdosis von 8,75 mg/kg ein 75%-Überleben (im Vergleich zu 100% Mortalität in den Kontrollreihen) hervorruft. Dass dennoch die Schutzwirkung des Libriums nicht sehr beträchtlich ist, geht aus den Unterschieden der Ergebnisse zwischen gleichen Versuchsreihen hervor: so ergab eine Wiederholung der Reihe mit 7,5 mg/kg (10 Tiere) nur 30% Überlebende ($\chi^2 = 2,67$, $P > 0,05$, insignifikant) (vgl. mit Figur 1). Auch gewisse Unregelmässigkeiten in der Wirkung kommen vor; so sind 10 mg/kg weniger wirksam als 12,5 mg/kg.

Die Figur 2 lässt erkennen, dass der aktive Dosisbereich von Librium eng ist und zwischen 7,5 und 12,5 mg/kg liegt; höhere und niedrigere Dosen haben eine geringere oder keine Schutzwirkung. Dieser Befund eines schmalen wirksamen Dosisbereichs steht im Einklang mit Beobachtungen an Serotonin⁵, dessen Strahlenschutzeffekt für Mäuse ein Optimum bei der Dosis 50 mg/kg hat, also einer etwa 10fach höheren Dosis als bei Librium. Hier dürfte es sich um die Superposition zweier Vorgänge handeln, von denen offenbar der eine, nämlich die Verminderung des Schutzes bei Libriumdosen über 12,5 mg/kg, mit der zunehmenden toxischen Wirkung der Substanz selbst (deren LD_{50} i.p. etwa 75 mg/kg = $\sim 1/10$ LD_{50} oral sein dürfte) im Zusammenhang steht.

¹ E. H. BETZ, D. J. MEWISSEN und J. CLOSON, Arch. int. Pharmacodyn. 121, 134 (1959). – S. M. KUSKIN, S. C. WANG und R. RUGH, Amer. J. Physiol. 196, 1211 (1959).

² H. J. MELCHING und M. LANGENDORFF, Naturwiss. 44, 377 (1957). – Th. J. HALEY, A. M. FLESHER und L. MAVIS, Nature 192, 1309 (1961).

³ L. O. RANDALL, Dis. nerv. Syst. (USA) 21, 7 (1960).

⁴ A. LOCKER und E. KOFFER, Exper. 18, 28 (1962).

⁵ D. B. HOPE, Biochem. Soc. Symp. 17, 93 (1959).

Es ist möglich, dass die Strahlenschutzwirkung des Libriums ursächlich auf die Senkung der Körpertemperatur⁴ und die Hemmung des Zellstoffwechsels⁶ und Gesamtstoffwechsels (unveröffentlicht) zurückgeht. Soweit bisher ersichtlich, hat Librium auf den Abfall des Körpergewichts nach der Bestrahlung keinen Einfluss⁷. Eine ausführliche Darstellung (Probit-Transformation der Dosis-Mortalitätsbeziehungen ohne und mit Librium) erfolgt an anderer Stelle⁸.

Summary. Librium 'Roche' (7-Chlor-2-methylamino-5-phenyl-3 H-1,4-benzodiazepin-4-oxyd-hydrochlorid) increases significantly the percentage of survival of

lethally X-irradiated male mice in the dose range between 7.5 and 12.5 mg/kg.

A. LOCKER und H. ELLEGAST

Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie (Institut für Biologie und Landwirtschaft des Reaktorzentrum Seibersdorf-Wien) und I. Medizinische Klinik der Universität Wien (Österreich), 11. Mai 1962.

⁶ A. LOCKER, Z. ges. exp. Med., im Druck.

⁷ A. LOCKER, Physikal. Verhdlg. 4, 175 (1962).

⁸ Librium-Reinsubstanz wurde uns von der Fa. Hoffmann-La Roche, Wien, zur Verfügung gestellt.

Leucine Aminopectase in the Spleen

Leucine aminopeptidase (LAP) has been demonstrated by quantitative and histochemical methods in many tissues in which it participates in the disintegration and also, to some extent, the synthesis of proteins. The enzyme reacts with certain peptides and amides containing an N-terminal amino acid with an aliphatic sidechain¹. LAP has been demonstrated in the spleen by quantitative methods, and NACHLAS reported that he demonstrated it in the spleen, also, by histochemical methods². He did not, however, describe its localisation more accurately. In the present work the occurrence of LAP in mouse and rat spleen was studied histochemically.

The material comprised 40 white rats and mice of both sexes. The animals ranged in age from 1 day to 10 months. They were killed by rapid decapitation and 20 μ sections were cut immediately with a freezing microtome from the spleen which was removed intact. Some of the sections were stained with toluidine³, or by a modification of Wolbach's Giemsa staining technique⁴, for the control study. In the other sections LAP was determined histochemically by the method of NACHLAS et al.². Acetate buffer (pH 6.5) or Sörensen's phosphate buffer (pH 6.6) was used in the incubation fluid. The preparations were incubated for 15 min to 4 h at 37° or 24°C.

The positive LAP reaction in the spleen of adult animals corresponded in intensity to the reaction produced by splenic tissue found in the same sections. According to the quantitative determination performed by GREEN⁵, the LAP activity of the spleen is 12 and that of the pancreas 11 if the activity of the kidney is denoted by the value 100. The most pronounced positive reaction in mouse was established in the walls of the central arteries of the spleen, and a slightly weaker reaction in the reticulum cells of the lymphatic tissue around these arteries. The nature of the lymph nodes encountered in mouse spleen varies from one individual to another, obviously according to the functional status of the spleen⁶. Large pale cells containing chromatin debris occurred in the middle of some of the nodes. Disintegration of lymphocytes obviously occurs in these reaction centres⁶. The reaction was relatively pronounced in these places. There were basophilic lymphocytes displaying numerous mitotic figures in the middle of another type of node. Formation of new lymphocytes occurred in these germinal centres⁶. These nodules gave a weaker reaction. The two lymph node types could be confused at times. The 'perifollicular collar' is generally poorly developed in the mouse^{6,7}. Some preparations showed a partly open 'collar' formed by a few reticulum cell layers giving a positive reaction.

The lymphocytes are negative, as is also the case elsewhere in the organism^{8,9}.

A positive LAP reaction was generally not demonstrable in the area of red pulp. However, when phosphatase buffer was used a very faint reaction was elicited in the reticulum cells even outside the lymph nodes, but it was probably due to diffusion. Mast cells, which are encountered in the spleen of some mouse strains⁶, were not found at all in the preparations examined. Extramedullary hematopoiesis is



Fig. 1. In the black and white pictures the contrast does not correspond fully to the degrees of intensity of the colour reaction. The spleen of a rat ♀, aged 8 months, phosphate buffer, incubation for 90 min. Positive reaction in lymphatic tissue (a) around which is seen a more faintly reacting 'perifollicular halo', (b) at the outer margin of which there is a circle, (c) formed by reticulum cells which give a stronger reaction. The area (d) of red pulp is negative ($\times 50$).

¹ M. DIXON and E. G. WEBB, *Enzymes* (Longmans, London 1958), p. 642.

² M. M. NACHLAS, D. T. CRAWFORD, and A. M. SELIGMAN, J. Histochem. Cytochem. 5, 264 (1957).

³ C. F. A. CULLING, *Handbook of Histopathological and Museum Technique* (Butterworth & Co., London 1957), p. 179.

⁴ J. BRONTE-GATENBY and H. W. BEAMS, *The Microtome's Vade-Mecum* (11. Edit. J. & A. Churchill, London 1950), p. 865.

⁵ M. N. GREEN, K.-C. TSOU, R. BRESSLER, and A. M. SELIGMAN, Arch. Biochem. Biophys. 57, 458 (1958).

⁶ T. B. DUNN, J. of Nat. Canc. Inst. 14, 1281 (1954).

⁷ D. SNELL, *Biology of the Laboratory Mouse* (Dover Publ. Inc., New York 1941), p. 96.

⁸ G. A. ACKERMAN, J. Histochem. Cytochem. 8, 386 (1960).

⁹ L. K. KORHONEN and S. RUPONEN, Acta anat., in press.