

observed, however, that the interference must act on a mechanism which is required for the establishment of two different stages of infection, i.e. for the phage penetration into the cells and for its release from the infected bacterial cells.

Riassunto. Un nuovo antibiotico, la Distamicina, inibisce selettivamente lo sviluppo del batteriofago T1 in *E. coli* K12 pur non esercitando alcuna azione sullo svil-

luppo del microorganismo ospite. L'antibiotico può inibire sia la penetrazione del batteriofago nelle cellule batteriche sia la sua liberazione.

A. DI MARCO, M. GHIONE,
A. SANFILIPPO, and E. MORVILLO

Farmitalia, Laboratori Ricerche Microbiologiche e Chemo-terapiche, Milano (Italy), October 19, 1962.

Die Wirkung von Eiweissfraktionen normaler menschlicher Sera auf die Thrombocytenzahl der Maus

Immer mehr Angaben sprechen dafür, dass in der Regulation der Thrombopoese ein – oder mehrere – humorale Faktoren eine Rolle spielen. Einen humanen, höchstwahrscheinlich spezifischen thrombopoetischen Serumfaktor haben als erste 1958 KELEMEN et al.¹ beschrieben. Sie waren es auch, die an einem grösseren hämatologischen Krankengut die Thrombocytose verursachende Eigenschaft des Serums untersuchten und in gewissen Fällen – namentlich bei pathologisch veränderter Thrombopoiese – das Serum im Mäusetest als wirksam befanden. Nur bei zwei von 31 hämopoetisch normalen Personen zeigte das Serum bei gleichartiger Untersuchung eine mässige Aktivität². SCHULMAN et al.³ berichteten 1960 über klinische Beobachtungen, auf Grund derer sie annehmen, dass das normale Plasma einen die Thrombopoiese stimulierenden Faktor enthält.

Bei der eingehenderen Untersuchung einiger thrombopoetisch wirksamer Sera beobachteten wir, dass die Aktivität unter den mittels Papier- bzw. Stärke-Gel-Elektrophorese getrennten Eiweissfraktionen an die β -Globuline gebunden ist bzw. mit diesen wandert^{1,4}.

In der vorliegenden Mitteilung berichten wir über die Wirkung von mittels kontinuierlicher Elektrophorese separierten Eiweissfraktionen humaner Sera auf die kri-sende Thrombocytenzahl weisser Mäuse.

Experimenteller Teil. Gegenstand der Untersuchungen waren die Blutsära hämatologisch gesunder Personen. Die Proteine aus 20–30 ml nach spontaner Gerinnung gewonnenem Serum wurden in einem selbstbereiteten kontinuierlichen Elektrophoreseapparat vom Typ GRASSMAN separiert. Verwendet wurde 30 × 30 cm Whatman-Filterpapier Nr. 3, Natrium-Veronalacetatpuffer vom pH 8,6 mit einer Ionenkonzentration (μ) von 0,03. Stromquelle: 450–500 V Gleichstrom. Laufdauer ungefähr 16 h bei maximal +10°C. Die erhaltenen Fraktionen wurden mittels Immunelektrophorese mit der Scheideggerschen Modifikation der von GRABAR und WILLIAMS eingeführten Technik kontrolliert. Als Antigen dienten einzelne Fraktionen und gemischte Humanära und als Antikörper Anti-Human-Immunserum. Wir benutzten Veronalpuffer mit einem pH von 8,4 und einer Ionenstärke (μ) von 0,05. Die Spannungsdifferenz betrug 5–6 V/cm. Nach dem Trocknen wurden die Präparate mit Fuchsin gefärbt.

Bei Anwendung dieser Methode erhielten wir gewöhnlich neben den Albumin- und den γ -Globulinfaktionen zwei verschiedene α - und β -Globulinfaktionen. Zunächst

¹ E. KELEMEN, I. CSERHÁTI und B. TANOS, Acta haemat. (Basel) 20, 350 (1958).

² K. RÁK, D. LEHOCZKY, F. KRIZSA, I. CSERHÁTI und E. KELEMEN, Folia haemat. N.F., im Druck.

³ I. SCHULMAN, M. PIERCE, A. LUKENS und Z. CURRIMBOY, Blood 16, 943 (1960).

⁴ K. RÁK, I. CSERHÁTI und E. KELEMEN, Med. exp. 1, 125 (1959).

Die Wirkung von mittels Elektrophorese getrennten Eiweissfraktionen menschlicher normaler Sera auf die Thrombocytenzahl der Maus. Es sind die Mittelwerte der Ausgangs- und der am 5. Tage gefundenen Thrombocytenzahlen angegeben, in Klammern die Zahl der untersuchten Mäuse.

Nr.	Vollserum	Albumin	α -Globuline	β -Globuline	γ -Globuline
1.	610 ^a → 570 (4) 80 ^b 27 -7% negativ	— 42 -6% negativ	645 → 605 (2) 18 16 +15% mässig positiv	600 → 680 (4) 22 35 -5% negativ	640 → 605 (4) 22 35
2.	— 620 → 700 (3) 85 67 +12% negativ	560 → 560 (5) 74 95 0% negativ	660 → 830 (5) ^c 92 80 +25% mässig positiv	710 → 690 (5) 57 86 -3% negativ	
3.	— 650 → 590 (3) 92 81 -9% negativ	— — —	543 → 724 (11) 43 31 +33% positiv	580 → 600 (4) 92 81 +3% negativ	
4.	540 → 610 (3) 76 52 +13% negativ	640 → 615 (5) 60 48 -4% negativ	660 → 850 (2) 28 14 +29% mässig positiv	560 → 850 (7) 24 15 +52% positiv	590 → 790 (4) 61 34 +34% positiv
5.	640 → 660 (4) 19 40 +3% negativ	600 → 590 (4) 48 42 -2% negativ	600 → 620 (4) 91 47 +3% negativ	500 → 660 (6) 14 80 +32% positiv	560 → 640 (3) 60 42 +14% negativ

^a Thrombocyten × 1000. ^b Standard Deviation. ^c Isoliertes Globulin mit β_2 -Mobilität.

trachteten wir, die vier Haupttypen im Sinne der elektrophoretischen Mobilität (Albumin, α -, β - und γ -Globulin) gesondert zu studieren und haben dementsprechend an vier – bzw. zusammen mit dem als Ausgangsstoff fungierenden Vollserum maximal an fünf – Mäusegruppen die Eiweissfraktionen der einzelnen Sera untersucht. Nicht hinreichend separierte, gemischte Eiweissfraktionen wurden nicht verwendet bzw. nicht ausgewertet.

Die einzelnen Gruppen enthielten 2–11, in der Regel 4–5 Mäuse. Verwertbare Untersuchungen wurden insgesamt an 92 Mäusen durchgeführt. Das Untersuchungsmaterial wurde in Mengen von 0,2–0,5 ml intraperitoneal injiziert. Quantitative Eiweissbestimmungen fanden nicht statt. Thrombocytenzählungen wurden vor der Behandlung und am 5. Tage danach mit der direkten phasenkontrastmikroskopischen Methode von FISCHER und GERMER⁵ aus dem Schwanzblut der Tiere vorgenommen. (Die maximale Erhöhung der Thrombocytenzahl ist erfahrungsgemäß um den fünften Tag zu erwarten.) Die am fünften Tage nach der Einspritzung beobachtete Veränderung der Thrombocytenzahl wurde auch in Prozent der Ausgangswerte angegeben. Wie bisher wurden auch hier Abweichungen über + 30% als positives, zwischen + 15 und + 30% als mässig positives und unter + 15% als negatives Ergebnis gewertet.

Eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse enthält die Tabelle. Die Vollsera und die Albuminfraktionen waren in jedem Falle, die α - und γ -Globulinfraktionen – mit Ausnahme eines Serums – unwirksam. Die β -Globuline erwiesen sich in jedem untersuchten Falle als wirksam, in zwei Fällen allerdings nur mässig. Die α - und γ -Globulinfraktionen des Serums mit den am ausgesprochensten positiv wirksamen β -Globulinen erwiesen sich ebenfalls als positiv bzw. mässig positiv. Das β -Globulin des Serums Nr. 2 enthielt isoliert ein Eiweiss mit β_2 -Motilität (Figur 1). Die übrigen β -Globulinfraktionen enthielten sowohl β_1 - als auch β_2 -mobiles Eiweiss, wie z.B. das β -Globulin des Serums Nr. 5 (Figur 2).

Besprechung. Eine thrombocytopoetische Serumaktivität im Mäusetest haben wir bisher – von geringen Ausnahmen abgesehen – nur im Falle von veränderter Throm-

bocytopoese beobachtet, eine beträchtliche – vorübergehende – Erhöhung der Thrombocytenzahl aber sahen wir bei zwei chronisch ITP- (Werlhof-Syndrom-) Kranken nach Einführung von normalem Vollblut bzw. Plasma⁶.

SCHULMAN et al.⁸ erreichten bei einem thrombocytopenischen Kinde durch Blut- und Plasmaintusion eine 2–3 Wochen anhaltende Remission und nahmen an, dass dieses Mädchen an kongenitalem Mangel des im normalen Blute sonst anwesenden thrombocytopoetischen Faktors leidet. Diese Autoren teilten später auch Angaben über einen inhibitorischen Faktor im normalen Plasma mit, der etwas weniger thermostabil ist als der stimulierende Faktor⁶. STEINBERG et al.⁷ haben ebenfalls die hämocytopoetische Aktivität des normalen menschlichen Plasmas in Kaninchenversuchen studiert und bei gewissen Fraktionen – nicht gesetzmässig – eine geringgradige (10- bis 25%ige) thrombocytenzahlerhöhende Wirkung feststellen können.

Die vorliegenden Untersuchungsdaten bekräftigen die Annahme, dass auch das normale Serum über eine die Thrombopoese stimulierende Aktivität verfügt, welche Eigenschaft aber bei der Untersuchung von Vollserum – wenigstens in dem benutzten Mäusetest – meistens nicht nachweisbar ist. Wahrscheinlich ist die Aktivität an die β -Globuline, in erster Linie an die Proteine mit β_2 -Mobilität gebunden, ebenso wie die thrombopoetische Wirksamkeit der früher untersuchten pathologischen Sera. Wahrscheinlich ist ferner, dass im Falle des normalen Vollserums auch ein – mit irgendeiner anderen Eiweissfraktion wandernder – inhibitorischer Effekt zur Geltung kommt und die Wirkungslosigkeit nur die Folge der Anwesenheit eines – oder mehrerer – Hemmfaktoren ist. Wirksam kann aber das Plasma – Menschen in grossen Gaben verabreicht – *in vivo* sein; hierfür sprechen die erwähnten klinischen Beobachtungen. Die in dem benutzten Mäusetest nachweisbare Aktivität des Vollserums bedeutet höchstwahrscheinlich eine Verschiebung des Stimulator/Inhibitor-Gleichgewichtes zugunsten des ersteren. Dies ist der Fall bei gewissen hämatologischen Erkrankungen bzw. bei der experimentellen plötzlichen und hochgradigen Belastung des Thrombocytensystems⁸.

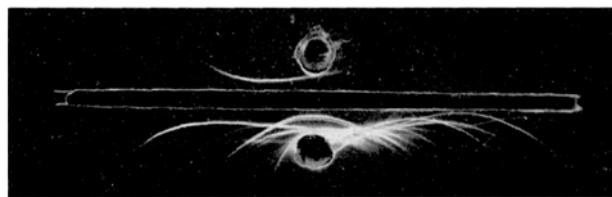


Fig. 1. Immunoelektrophoresebild der β -Globulinfraktion des Serums Nr. 2 (Globulin mit β_2 -Motilität).

Summary. We investigated the thrombocytosis-producing activity of different protein-fractions of human sera in mice. The whole sera, the albumin, α - and γ -globulins were ineffective, whereas the β -globulins caused a more or less exact thrombocytosis in mice. The effectiveness of the thrombopoietic activity present in normal human sera is probably inhibited by a factor connected with another protein-fraction.

K. RÁK, L. VARGA, F. KRIZSA und I. CSERHÁTI



Fig. 2. Immunoelektrophoresebild der β -Globulinfraktion des Serums Nr. 5 (Globuline der β_1 - und β_2 -Motilität).

I. und II. Innere Klinik der Medizinischen Universität Szeged (Ungarn), 8. Oktober 1962.

⁵ W. FISCHER und W. D. GERMER, Röntgen-Lab. Praxis 10, 49 (1957).

⁶ C. F. ABILGAARD et al., Amer. J. Dis. Children 102, 443 (1961).

⁷ B. STEINBERG, A. A. DIETZ und R. A. MARTIN, Acta haemat. (Basel) 21, 78 (1959).

⁸ F. KRIZSA, I. CSERHÁTI und K. RÁK, Med. exp. 7, 32 (1962).