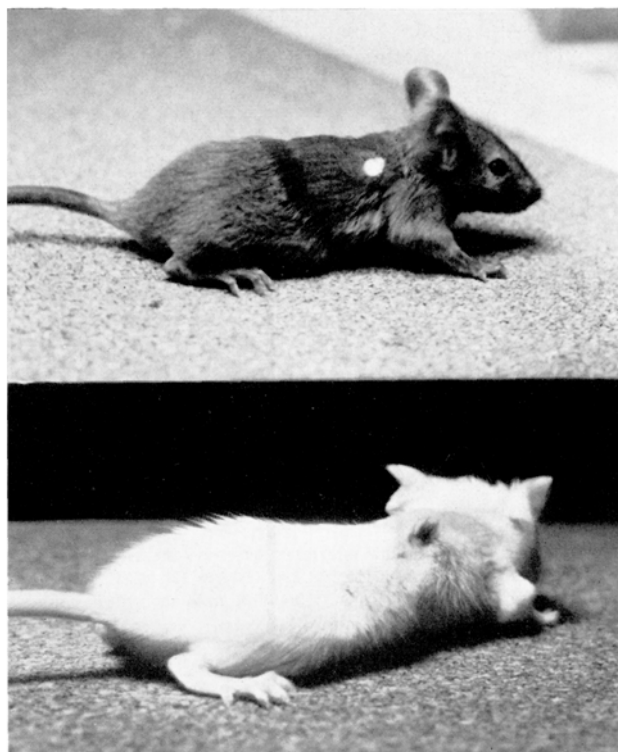


Weiterführung der Medikation mit 100 mg/kg ab Tag +1 wirkte bei der Hälfte der Tiere deutlich; möglicherweise verhinderte in den anderen Fällen die hochdosierte Vorbehandlung das primäre normale Einwachsen der Transplantate. Mit 300 mg/kg ab Tag +1 liess sich ein klarer Effekt erzielen. In der Kombination $CBA\delta \leftarrow A\delta$ verlängerte hierbei das Mittel die Überlebenszeit von 9,5 Tagen bei den Kontrollen auf über 29,5 Tage. Am 30. Tag, 13 Tage nach dem Absetzen des Stoffes waren 2 von 6 Transplantaten noch intakt (Figur). Auch in der genetisch allerdings nahe verwandten Kombination $CBA\delta \leftarrow C_3H\delta$ zeigten die Transplantate 45 Tage nach der Transplantation noch keine Zeichen der Abstossung, bei einer Überlebenszeit der Kontrolltransplantate von 21,4 Tagen. Wohl auch als Folge der cytotoxischen Eigenschaften der Methylhydrazine wiesen die genügend lange überlebenden Transplantate teilweise nur subnormalen Haarwuchs auf. Immerhin konnten sich selbst in der genetisch stark diskrepanten Paarung $C-\delta$ (albino) $\leftarrow C_3H\delta$ (agouti) Büschel spender-spezifisch pigmentierter Haare ausbilden (Figur). Wurden die Mäuse nur vorbehandelt, so verlängerte dies die Überlebenszeit der Transplantate nicht.



Oben: $CBA\delta \leftarrow A\delta$, 300 mg/kg, Tag +1 bis +17; 30 Tage nach der Transplantation. Unten: $C-\delta \leftarrow C_3H\delta$, 300 mg/kg Tag -9 bis -1, 100 mg/kg Tag +1 bis +17; 25 Tage nach der Transplantation. Das C_3H -Hauttransplantat hat einen kräftigen Büschel dunkler Haare auf der Albino-Empfängermaus hervorgebracht.

Diskussion. Applikation von Methylhydrazinderivat nach der Transplantation hatte einen dosisabhängigen Effekt: 100 mg/kg wirkten nur schwach, 300 mg/kg hatten eine beträchtliche Verlängerung der Überlebenszeit zur Folge. Vorbehandlung der Mäuse mit 100 mg/kg ab Tag -9 führte zu ähnlichen Verlängerungen wie Behandlung mit 300 mg/kg nur nach der Transplantation. Beiausschliesslich vorbehandelten Tieren waren jedoch die Überlebenszeiten der Hauttransplantate nicht verlängert. Dies steht im Gegensatz zu Befunden mit heterologen Tumortransplantaten, deren Angehen durch alleinige Vorbehandlung mit niedrigeren Dosen des gleichen Stoffes ermöglicht wurde³. Dieser Unterschied kann als Ausdruck der geringeren Intensität oder auch einer qualitativen Verschiedenheit der Immunreaktion gegen Tumortransplantate gesehen werden. Die Lymphopenie und die Involution der lymphatischen Strukturen nach 8 mal 300 mg/kg genügen nicht, um zur Toleranz für Normaltransplantate zu führen. Die Annahme, dass lymphocytäre Elemente in der Frühphase der Homotransplantatreaktion eine wesentliche Rolle spielen, lässt sich durch diese Befunde nicht stützen. Die Abhängigkeit der Intensität der Immunreaktion vom Grad der genetischen Histokompatibilität zeigt sich in unseren Versuchen nur teilweise (zum Beispiel längere Überlebenszeit bei $C_{57}Br\delta \leftarrow CBA\delta$ als bei $C-\delta \leftarrow C_3H\delta$). In der Kombination zweier Stämme mit verschiedenen H_2 -Histokompatibilitätsantigenen ($CBA \leftarrow A$) konnten durch 300 mg/kg längere Überlebenszeiten bewirkt werden als in der am Gen des «starken» H_2 -Locus nicht differierenden Kombination $C_{57}Br \leftarrow CBA$.

Bei Mäusen ist die Hauthomotransplantatreaktion besonders resistent gegenüber pharmakologischer Beeinflussung. Corticosteroide sind hier nahezu wirkungslos und unter einer grösseren Anzahl geprüfter Cytostatica fanden wir einzig für Cyclophosphamid (Endoxan) in der hohen Dosierung von 40 mg/kg/Tag eine dem Ro 4-6467/1 vergleichbare Wirkung. Die Methylhydrazinderivate stellen daher eine willkommene neue Möglichkeit dar, die Immunreaktion gegen Organtransplantate und – wie anzunehmen ist – andere Formen zellulärer Immunität vom verzögerten Typ herabzusetzen.

Summary. Extended survival of skin homografts in mice was obtained by treatment with a methylhydrazine derivative (1-methyl-2-*p*-(isopropylcarbonyl)-benzylhydrazine hydrochloride), representative of a new class of cytotoxic agents. Administration of 100 mg/kg prior to and continuously after the transplantation led to similar survival times as when 300 mg/kg was given daily only after the transplantation. In mice, the compound seems to be more effective than most of the drugs so far known to suppress transplantation immunity.

G. L. FLOERSHEIM

Pharmakologische Anstalt der Universität, Basel (Schweiz), 30. August 1963.

PRO EXPERIMENTIS

Messung der Kapillarität in engsten Röhrchen¹

Wird ein enges, gleichmässiges, luftenthaltendes Glasröhrchen plötzlich senkrecht in Wasser eingetaucht, so beobachtet man ein Ansteigen der Flüssigkeit in demselben. Die Steiggeschwindigkeit dh/dt nimmt mit der Anstiegshöhe h ab und wird nach einer bestimmten Zeit

$t_m = 0$. Zu dieser Zeit ist Gleichgewicht zwischen der Kapillarität und dem Gewicht der bis h_m = der maximalen Anstiegshöhe aufgestiegenen Flüssigkeitssäule eingetreten. Ursache für diese Erscheinung ist die Oberflächenspannung, deren Auswirkung von der Form des Meniskus abhängt.

¹ Meinem Freunde A. v. MURALT zum 60. Geburtstag.

Es sei M eine kugelförmige Grenzfläche (Meniskus) in der Kapillare K . Der Krümmungsmittelpunkt sei O' , der Krümmungsradius $= R$ und der Randwinkel $= \varphi$ (vgl. Figur 1, ausgezogene Linie). Bei gekrümmten Oberflächen entsteht infolge der Oberflächenspannung σ ein Druck $\pm p = 2\sigma/R$, der sich bei konvexem Meniskus als Druck $+p$, bei konkavem Meniskus als Zug $-p$ geltend macht. Auf das Flächenelement df wirkt demnach die Kraft $p \cdot df$, deren Projektion in Richtung der Rohrachse $p \cdot df \cdot \cos \alpha$ ist. α stellt den Winkel zwischen R und der Röhrenachse dar.

Auf den Gesamtmeniskus wirkt in vertikaler Richtung also die Kraft

$$\int p \, df \cos \alpha = \int \frac{2\sigma}{R} \, df \cos \alpha.$$

Da

$$R = \frac{r}{\cos \alpha} \quad (\text{vgl. Figur 1}) \quad \text{und} \quad \int df \cos \alpha = \pi r^2,$$

haben wir

$$\int \frac{2\sigma}{R} \, df \cos \alpha = \frac{2\sigma}{r} \cos \varphi \int df \cos \alpha = \frac{2\sigma}{r} \cos \varphi \pi r^2.$$

Zur Zeit t_m hält die Kapillarkraft dem Gewichte der gehobenen Flüssigkeitsmenge das Gleichgewicht. Es ist demnach:

$$\frac{2\sigma}{r} \cos \varphi \pi r^2 = p \pi r^2$$

und daraus

$$p = \frac{2\sigma}{r} \cos \varphi$$

Ist die Wand vollständig benetzt (vgl. Figur 1, gestrichelte Linie) also $\varphi = 0$ so wird:

$$p = \frac{2\sigma}{r} \quad \text{bzw.} \quad h_m = \frac{2\sigma}{r g \varrho} \quad (1)$$

und

$$\sigma = \frac{h_m r g \varrho}{2} \quad (2)$$

Diese Beziehung zwischen Kapillarität und Oberflächenspannung wird als ein allgemein gültiges Gesetz betrachtet. Die Formeln 1 und 2 werden zum Beispiel ohne Bedenken zur genaueren Analyse beliebiger Kapillarsysteme benützt. In den Lehr- und Handbüchern der entsprechenden Disziplinen vermisst man aber Angaben, die auf Messungen der Kapillarität in wirklichen Kapillaren, also in Einzelröhrchen mit Durchmessern unter 100μ ($\mu = 1/10000 \text{ cm}$) hindeuten. Es ist möglich, dass derartige Messungen nicht oder selten unternommen wurden, weil die gewöhnlich benützte Methode die Ermittlung der Anstiegshöhe, hier versagte. Bei einer Kapillare mit einem Durchmesser von 20μ zum Beispiel ist h_m theoretisch $= 147 \text{ cm}$ und die Einstellzeit $t_m = 12 \text{ Stunden}$.

Für den Physiologen, der sich bei den verschiedensten Vorgängen die Frage stellen muss, ob bei Milieüänderungen auch entsprechende Grenzflächenspannungsänderungen auftreten oder in Membranen Kapillarkräfte wirksam werden, sind gerade diese Untersuchungen besonders wichtig. Wir haben uns deshalb bemüht, eine Methode zu entwickeln, die derartige Messungen ermöglicht.

Durch Ausziehen von Pyrexglasröhrchen bei gegebener Temperatur können Kapillaren mit Durchmessern von μ und weniger hergestellt werden. Diese Kapillaren sind allerdings konisch. Gewöhnlich darf aber das Ende in einer Länge von einigen hundert μ als zylindrisch angesehen werden. Es musste deshalb eine Methode gefunden werden, die die Kapillaritätsmessung ohne merkliche

Flüssigkeitsverschiebung gestattete. Hierzu eignet sich die Druckmessung bei Umkippen des Meniskus von der Ebene mit dem Randwinkel $\varphi = 90^\circ$ in die Kugelform mit $\varphi = 0$ oder umgekehrt.

Figur 2 zeigt die Apparatur halbschematisch. Ma ist ein Manometer mit sehr hohem Volumelastizitätsmodul $\Delta P/\Delta V$. Me_1 ist die Manometermembran, deren Ausschläge circa eine Million mal vergrößert registriert werden. K stellt das in eine Kapillare ausgezogene Glasröhrchen dar. H_1 ist ein Dreiweghahn mit vorgelagertem Filter. Er dient der Füllung des Manometers und der Einstellung auf O-Druck. Das Manometer enthält ausserdem eine zweite Membran Me_2 . Sie kann unter Atmosphärendruck stehen (bei offenem H_2) oder aber durch entsprechende Stellung der Hähne H_3 und H_4 mit den Druckreservoirs R_2 bzw. R_1 in Verbindung gesetzt werden. Damit kann das Manometer-Innenvolumen geändert werden. St ist ein 80μ dicker Stab aus inoxidablem Stahl, der mit Hilfe einer Mikrometerschraube hin und her geschoben werden kann.

Ist die Füllung des Manometers mit reiner Flüssigkeit luftfrei erfolgt, gestaltet sich die eigentliche Messung der Kapillarität sehr einfach. Man stellt das Niveau von G auf Höhe der Kapillarspitze, schliesst das Manometer durch Drehung von H_1 ab, öffnet H_3 und setzt damit Me_2 in Verbindung mit R_2 , in dem ein geeigneter Unterdruck

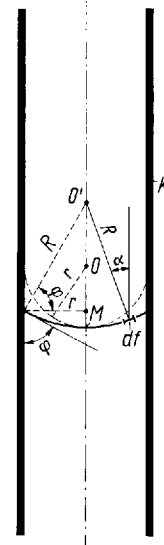


Fig. 1

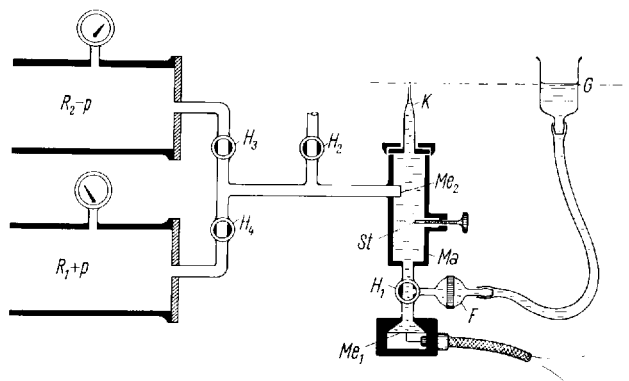


Fig. 2

hergestellt ist (vgl. Figur 3, oberer Pfeil). Die Membran Me_2 verschiebt sich nach aussen, bewirkt eine Zunahme des Manometerinnenraumes und erzwingt so das Umkippen des Meniskus. Die Kapillarität macht sich voll wirksam und verursacht den Druckabfall (vgl. Figur 3, unterer Pfeil). Es stellt sich ein Gleichgewicht her zwischen Kapillarität und Manometerdruck $2\sigma/r = -p$. Die Messung kann beliebig wiederholt werden. Unter gleichen Bedingungen erhält man immer wieder die gleiche Druckkurve.

Das Verfahren kann auch umgekehrt angewandt werden. Es kann durch geeignete Me_2 -Stellung bzw. R_2 -Unterdruck der kugelförmige Meniskus mit $\varphi = 0$ hergestellt werden. Durch Umstellung von R_2 auf R_1 erfolgt eine Verschiebung von Me_2 nach innen. Der Meniskus geht dabei in eine Ebene über und das Manometer schlägt nach

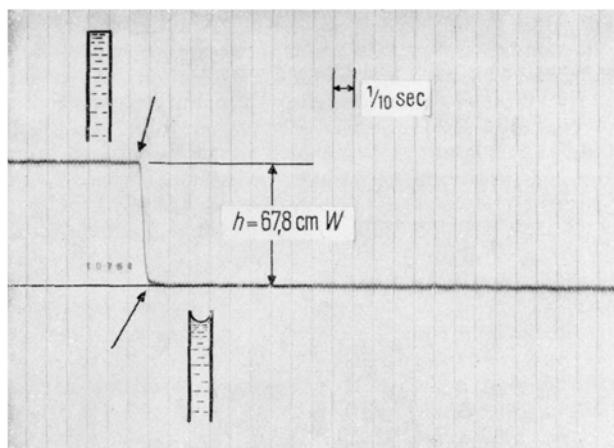


Fig. 3. Druckänderung bei Umkippen des Meniskus aus der Ebene in die Kugelform. – Die bei diesem Versuche benützte Kapillare hatte die Länge $l = 0,753$ cm. Der Radius der oberen Öffnung war $r = 0,00226$ cm, der mittlere Radius, aus dem Durchfluss berechnet, $\bar{r} = 0,00221$ cm. Die Druckhöhe betrug $h = 67,8$ cm. Daraus ergab sich für σ von Wasser bei 18°

$$\sigma = \frac{67,8 \times 0,002235 \times 981 \times 1}{2} = 74,3 \text{ dyn/cm}.$$

Das zu diesem Versuche benützte Manometer besass den Volumelastizitätsmodul $\Delta P/\Delta V = 1,25 \times 10^{10}$ dyn/cm⁵. Beim Einpressen eines Volumens von $0,000001$ cm³ trat eine Druckerhöhung von $12,7$ cm auf.

oben aus. Der negative Kapillardruck steigt zum O-Druck an. Diese Messungsart kann bei konischer Kapillare zur Messung des Durchmessers benützt werden. Der Stab St erlaubt unter mikroskopischer Kontrolle eine genaue Einstellung des Meniskus.

Die Überprüfung der Methode geschah durch Berechnung der Oberflächenspannung σ von Wasser nach Formel 2. Benützt wurden circa 1 cm lange, möglichst regelmässige Kapillaren² mit Innendurchmessern von 30 bis 80 μ . Die Enden dieser Röhrchen wurden mit einem speziellen Verfahren derart geschliffen, dass sie glatte, ebene auf die Achse senkrecht stehende Kreisringe darstellen. Länge und Öffnungsdurchmesser wurden mikroskopisch gemessen. Ferner wurde der mittlere Radius aus dem Durchfluss unter Anwendung der Hagen-Poiseuille'schen Formel berechnet. Unter Benützung verschiedener Kapillaren ergaben sich Werte für σ (Wasser bei 18°), die zwischen 71 und 76 dyn/cm lagen (Kohlrausch gibt 72,8 an). Diese relativ grosse Streuung ist auf die begrenzte Messgenauigkeit des Kapillardurchmessers zurückzuführen.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass die Oberflächenspannung auch bei Benützung von Kapillaren mit Durchmessern bis zu 30 μ aus der Kapillaritätsmessung nach Formel 2 berechnet werden kann – Tastversuche mit Kapillaren mit Durchmessern von circa 10 μ deuten darauf hin, dass die Formel auch für diese gültig bleibt. – Da die beschriebene Methode sehr empfindlich und die Einstellzeit sehr kurz ist, eignet sie sich vorzüglich zur Ermittlung von Oberflächen- und Grenzflächenspannungsänderungen bei Milieuänderungen. Über diese Untersuchungen soll später berichtet werden.

Summary. The present paper describes a new method, which permits an accurate determination of capillarity in very narrow and very short capillaries.

A. MÜLLER

Physiologisches Institut der Universität Fribourg (Schweiz), 23. Juli 1963.

² Die Siemens-Werke hatten uns freundlicherweise eine grosse Zahl von Quarzröhrchen, die bei ihrem Elektrokardiographen-Direkt-schreiber verwendet werden, zur Verfügung gestellt. Sie besaßen Längen bis zu 30 cm. Aus diesen konnten sehr gleichmässige Stücke herausgeschnitten werden.

Chromosome Preparations from the Intestinal Mucosa

Techniques for chromosomal analysis have been successfully applied both to the study of different experimental tumours¹⁻³ and to the field of human pathology, especially with regard to some haematological disorders where various chromosomal abnormalities have been observed⁴⁻⁸. In these latter researches chromosomal investigations have been performed mainly on peripheral blood or on bone marrow samples or, in some cases, on the spleen and lymph-nodes also⁹⁻¹¹: that is parenchymatous organs which are easily dissociable into the single cell elements for chromosomal analysis. Other organs have not yet been used extensively for chromosomal studies owing to their structural characteristics. This is the case

of the intestinal tract which quite recently some authors¹² have studied with regard to the chromosome complement of some solid tumours immediately after their surgical excision.

Since the intestinal mucosa is a renewal system with high mitotic index¹³⁻¹⁵ and its involvement during experimental or therapeutic treatment with cytostatic drugs is remarkable, we have examined the possibilities of chromosomal analysis of the intestinal cells. The greatest difficulties which occur during the chromosome preparations from the intestinal mucosa are the removal of the mucous coating of the villi, and the homogeneous separation of the cells. We have observed that a brief treatment with oxidizing substances enables one to remove the mucous coating of the intestinal surface. The villi are easily broken when the oxidizing action is prolonged.