

a, Einfluss von Δ^5 -Pregnen-3,20-dion-N,N'-äthylpyrrolidinbis-guanyldrazon (I) und Δ^5 -Pregnen-3 β -hydroxy-20-on-N,N'-äthylpyrrolidinmonoguanidylhydrazon (II) auf die Kontraktionsamplitude von isolierten Meerschweinchenherzen. Vorlauf gleich 100%; — (I) Zunahme in %, --- (II) Abnahme in %, dargestellt in den Regressionslinien und deren Streuung. b, Einfluss von (I) (—) und (II) (---) auf die Kaliumakkumulation in Kälteerythrocyten von Meerschweinchen (Methode EHMER et al.⁷). Regressionslinie und deren Streuung.

Wie aus der Konzentrationswirkungskurve hervorgeht (Figur), steigert das Bisguanyldrazonderivat (I) die Kontraktionskraft des isolierten Meerschweinchenherzes im Bereich von 2×10^{-6} – 10^{-5} g/ml, das Monoguanidylhydrazonderivat (II) dagegen wirkt ausschliesslich negativ inotrop. Beide Verbindungen hemmen aber die Kaliumaufnahme von Kälteerythrocyten in demselben Ausmass (Figur).

Die Eigenschaft einer Substanz, die Ionenpumpe zu hemmen, genügt offenbar nicht für eine gleichzeitige positiv inotrope Wirkung am Herzen. Ferner beschränkt sich die Fähigkeit, die Kaliumakkumulation in diesem Modellversuch zu unterdrücken, nicht auf die chemische Gruppe der Herzglykoside.

Summary. Δ^5 -Pregnen-3,20-dione-N,N'-ethylpyrrolidine-bisguanyldrazon and Δ^5 -pregnen-3 β -hydroxy-20-one-N,N'-ethylpyrrolidine-monoguanidylhydrazon inhibit the activity of the ionic pump of cold-stored erythrocytes of guinea-pigs. The contractile force of isolated guinea-pig auricles is decreased by the mono-derivate and increased by the bis-derivate in spite of the similar action upon the pumping mechanism.

G. KUSCHINSKY, H. LÜLLMANN
und U. WOLLERT

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz
(Deutschland), 26. Juni 1964.

⁷ A. EHMER, K. JAHR, G. KUSCHINSKY, H. LÜLLMANN, H. REUTER und U. WOLLERT, Arch. exp. Path. Pharmacol., im Druck.

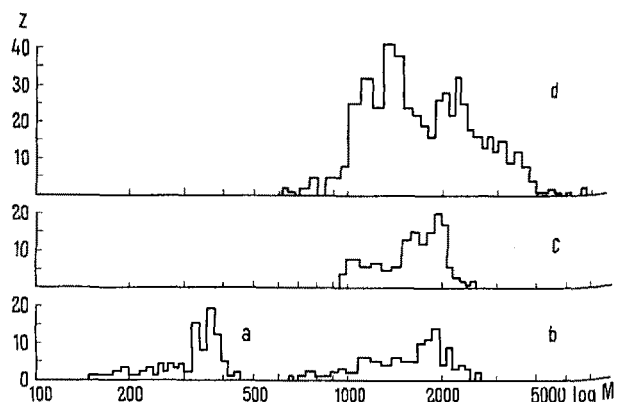
Zum DNS-Gehalt in Speicheldrüsenkernen mit «übergrossen Riesenchromosomen» von *Drosophila melanogaster*

Werden noch wachsende larvale Speicheldrüsen in das Abdomen adulter Weibchen implantiert, so erreichen nach einer Kulturdauer von rund 20 Tagen die Riesenchromosomen nicht nur die maximale larvale Grösse, sondern es entstehen in vielen Kernen auch übergrosse Chromosomen (HADORN et al.¹).

Nach diesen Ergebnissen musste interessieren, ob dieses extensive Wachstum lediglich auf einem Quellungs-effekt beruhen könnte oder ob tatsächlich der DNS-Gehalt und der Polytäniegrad – über das normale Ausmass hinausgehend – vermehrt wird. Speicheldrüsen 72 h alter Larven (aus 25°C Zuchten) werden in das Abdomen von adulten Weibchen implantiert. Diese Wirte werden zusammen mit Männchen bei 25°C ungefähr 3 Wochen gehalten. Dann werden die Implantate herausseziert, gequetscht und in 4% Formol fixiert. Die Bestimmung der DNS erfolgt nach der Methode von RUCH und BOSSHARD²; für die Färbung wird eine modifizierte Feulgenreaktion verwendet, wobei das Fuchsin durch einen fluoreszierenden Stoff ersetzt wird. Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes und eines Photometers wird der relative DNS-Gehalt ganzer Kerne bestimmt.

Figur d zeigt zunächst, dass der DNS-Gehalt im Adultmilieu, vom Implantatsstadium (a) ausgehend, so weit

ansteigt, dass die für Kontrollen (b, c) charakteristische Variabilität der «Endgrösse» erreicht wird. In einzelnen Kernen geht aber die Synthese weiter, so dass nun bis



Relative DNS-Menge (M) von Kernen aus dem sekretorischen Teil der Speicheldrüse von: a, 72 h (7 Drüsen); b, 96 h alten Larven (10 Drüsen); c, Vorpuppen (7 Drüsen) und d, Implantaten (24 Drüsen). Z = Zahl der gemessenen Kerne.

¹ E. HADORN, W. GEHRING und M. STAUB, Exper. 19, 530 (1963).

² F. RUCH und U. BOSSHARD, Z. wiss. Mikr. 65, 335 (1963).

3,5 mal mehr DNS gefunden wird als im Mittel in nicht-transplantierten Zellen des sekretorischen Teiles der Vorpendrüse.

Summary. Larval salivary glands of early third instar larvae were implanted into the abdomens of adult females. After a culture of 20 days, the nuclei show at least the normal maximal DNA content which is characteristic of full-grown larvae or prepupae. There are, however,

also nuclei in the implants with a DNA content that exceeds up to 3.5 times the average found in controls.

E. HADORN*, F. RUCH**
und M. STAUB*

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich und Institut für Allgemeine Botanik, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich** (Schweiz), 21. Juli 1964.*

Die Rouleau-Bildung der Rindererythrocyten¹

Die Rouleau(Geldrollen)-Bildung der nativen Pferdeerythrocyten ist seit mehr als 100 Jahren bekannt. Es ist auch schon lange bekannt, dass die Pferdeerythrocyten in unverdünntem, homologem Serum suspendiert – parallel mit ihrer Rouleau-Bildung – eine sehr rasche Senkung aufweisen. Die Rouleau-Bildung und die beschleunigte Senkung der menschlichen Erythrocyten wurde in vieltausend Arbeiten studiert, da diese von der Verschiebung der Plasma- bzw. Serum-Eiweisskörper beeinflusst sind und eine diagnostische Bedeutung besitzen. Demgegenüber konnte mit Rindererythrocyten weder eine Rouleau-Bildung noch eine beschleunigte Senkung beobachtet werden. Als Ursachen des negativen Befundes können die folgenden Umstände vermutet werden: (1) im Rinderserum fehlen die, die Rouleau-Bildung fördernden Eiweisskörper, (2) die nativen Rindererythrocyten sind für die Rouleau-Bildung ungeeignet.

In dieser Arbeit wurde die zweite Alternative experimentell untersucht. Wir nahmen an, dass die Rindererythrocyten zur Rouleau-Bildung deshalb ungeeignet sind, weil die Oberfläche ihrer Membran mit einer umfangreichen lockeren Proteinschicht bedeckt wird, die auch die Immunagglutination der nativen Rindererythrocyten sterisch hemmt.

In unserem ersten Versuch (Tabelle) wurden Trypsin (Armour) und Bromelin, Ficin, Papain (Mann, New York) verwendet. Die Erythrocyten wurden aus dem frischen, mit Glasperlen defibrierten Blut gewonnen, mit physiologischer NaCl-Lösung dreimal gewaschen und die gewaschenen Zellen in den proteolytischen Fermenten von verschiedenen Verdünnungen suspendiert. Alle hierbei zur Anwendung gelangenden Fermente wurden in physiologischem NaCl suspendiert. Die Verdauung wurde bei 37°C im Brutschrank (30 min) vorgenommen, wonach die Erythrocyten wiederum dreimal gewaschen wurden. Zur phasenkontrastmikroskopischen Untersuchung wurden 0,1 ml Erythrocytensediment zu 1,0 ml homologem, frischem Rinderserum und 1,0 ml physiologischem NaCl gegeben. Die Präparate wurden aus den umgeschüttelten Röhrchen sofort hergestellt, sie blieben aber mindestens 10 min in der feuchten Kammer, damit die Rouleaus ihre maximale Länge erreichten. Die Resultate sind der Tabelle zu entnehmen.

Die Resultate, die wir teilweise in der Tabelle zusammengefasst haben, bestätigen unsere Vermutung. Erst nach der Entfernung der lockeren Proteinhülle der Rindererythrocyten konnten diese mit dem homologen Serum typische Rouleaus bilden. Die besten Resultate wurden mit Trypsin erhalten. Zwei andere Trypsin-

präparate verhielten sich ähnlich. Von den pflanzlichen proteolytischen Fermenten war in den weiteren Versuchen das Bromelin etwas besser als das Ficin. Wir können es aber nicht erklären, weshalb eine Rouleau-Bildung mit Rindererythrocyten nicht zustande kam, wenn diese mit Papain vorbehandelt wurden. Ausser Papain Mann, wurden Papainpräparate von Merck, Difco und National Biochemical Corp. mit mehreren Rindererythrocyten und mit mehreren Rinderseren untersucht; nie erhielten wir eine deutliche Rouleau-Bildung. Diese gleichen Papainpräparate aktivierten die Rindererythrocyten gut zur Agglutination gegenüber menschlichem Mononukleose-serum. Es könnte angenommen werden, dass die Papainpräparate eine Verunreinigung enthalten, die, an der Erythrocytenoberfläche absorbiert, die Rouleau-Bildung hemmt. Deshalb wurden die Rindererythrocyten mit Papain und mit Trypsin doppelt fermentiert, wobei die Reihenfolge der Fermentation (a) Trypsin-Papain, (b) Papain-Trypsin war. In beiden Fällen konnte aber eine Rouleau-Bildung beobachtet werden.

Westergreen-Röhrchenversuche wurden nicht eingestellt, doch konnte ganz deutlich beobachtet werden, dass die papainisierten Rindererythrocyten – ebenso wie die nativen Blutzellen – kaum eine Sedimentation aufweisen, während die mit anderen proteolytischen Fermenten vorbehandelten Erythrocyten eine schnelle Senkung zeigten.

Die Rouleau bildende Fähigkeit der Eiweisskörper war in allen der untersuchten fünf Rinderseren zu beobachten,

Rouleau-Bildung der proteolytisch vorbehandelten Rindererythrocyten in homologem Rinderserum

Pflanzliche Fermente, Verdünnung 1:	Bromelin	Ficin	Papain	Trypsin	Verdünnung 1:	Rouleaus
200	+	bis ++	+	—	1000	++ bis +++
400	++	++	—	—	4000	++ bis +++
800	±	±	—	—	16000	+ bis ++
1600	—	—	—	—	64000	±

+++ Rouleaus mit 10 oder mehr Erythrocyten, ++ Rouleaus mit 5 bis 10 Erythrocyten, + Rouleaus mit 3 bis 5 Erythrocyten. ± Rouleaus nur hier und da mit 2 bis 3 Gliedern.

¹ Diese Arbeit wurde von der H.-Buss-Stiftung (Basel) unterstützt.