

Behringwerke) verwendet. Jedes Tier der Gruppen II bis IX wurde initial mit einer simultanen intraperitonealen Injektion von 6 mg Rinderserumalbumin, gelöst in 0,25 cm³ physiologischer Kochsalzlösung, und 0,5 cm³ einer inaktivierten Pertussis-Keimsuspension ($2 \cdot 10^9$ Bakterien/cm³ der Op. Nr. 36)¹⁴ sensibilisiert. 72 h später erfolgte die nochmalige simultane intraperitoneale Injektion der gleichen Menge von Proteinantigen und Pertussisorganismen. Die Tiere der als negative Kontrolle fungierenden Gruppe I hatten keine Pertussisorganismen erhalten. Ein tödlicher anaphylaktischer Schock wurde nur dann als Todesursache angenommen, wenn der Exitus nach vorausgegangenem Schocksyndrom bis zu 60 min nach der intravenösen Erfolgsinjektion eintreten war.

Endoxan wurde i. p. oder i. m. zu unterschiedlicher Zeit verabfolgt, bezogen auf den Tag der ersten sensibilisierenden Injektion, der mit Tag «0» bezeichnet wird. Die vorausgehenden Tage werden mit dem Vorzeichen - (minus), die der ersten sensibilisierenden Injektion folgenden Tage mit dem Vorzeichen + (plus) versehen.

Ergebnisse. Unsere Befunde sind tabellarisch in den Tabellen I und II zusammengefasst. Aus Tabelle I ist klar ersichtlich, dass die intramuskuläre oder intraperitoneale Injektion von 4 mg Endoxan den tödlichen anaphylaktischen Schock der Maus verhindert. Dabei ist es gleichgültig, ob das Endoxan einen Tag vor der ersten sensibilisierenden Injektion in Form einer einzigen Dosis von 4 mg oder aber in 4 sukzessiv verabfolgten Einzeldosen von je 1 mg injiziert wird. Zu einer kompletten Unterdrückung des tödlichen anaphylaktischen Schocks kam es auch dann noch, wenn am vierten Tag nach der ersten sensibilisierenden Injektion eine einmalige Dosis von 4 mg appliziert worden war. Es ist weiterhin aus der Tabelle I ersichtlich, dass die am Tage +11 (Gruppe VIIa) bzw. am Tage +13 (Gruppe IXa) injizierte Endoxandosis von 4 mg nicht mehr in der Lage ist, den anaphylaktischen Schock der Maus komplett zu unterdrücken. Wie Tabelle II zeigt, sind bei den letztgenannten Tiergruppen (Gruppe VIIIb und IXb) auch humorale Antikörper nachweisbar, während das bei den Gruppen IIIb bis VIIb nicht der Fall ist. Die Ergebnisse lassen also den Schluss zu, dass sich die Wirkung von Endoxan auf die Immunitätsreaktionen des Organismus von der des Cortisons und dem durch Röntgenstrahlen erzielbaren

Depressionseffekt deutlich unterscheidet, und zwar dadurch, dass der Depressionseffekt auch dann zur Ausbildung kommt, wenn das Endoxan erst nach der Sensibilisierung appliziert wird. Dabei macht der Verlauf in den Gruppen VIII und IX deutlich, dass die volle Depressionswirkung durch Endoxan erst nach einem Mindestzeitraum von 6-7 Tagen erreicht wird. In unserem Material verstarben auch die während der Versuchsdauer verlorenen Tiere 5-8 Tage nach der ersten Endoxaninjektion. Aus dem Befund, dass sich nach intravenöser Erfolgsinjektion Schocksymptome nur dann auslösen liessen, wenn in den korrespondierenden Versuchsserien humorale Antikörper nachgewiesen werden konnten, darf nicht ohne weiteres geschlossen werden, dass der anaphylaktische Schock der Maus allein vom spezifischen humoralen Antikörper abhängig ist. Vielmehr erhebt sich die Frage nach der Bedeutung gewebsgebundener Antikörper für den anaphylaktischen Schock von Ratte und Maus, zumal durch histologische und elektronenoptische Untersuchungen gezeigt worden ist, dass die Injektion hoher Endoxandosen zu einer beträchtlichen Schädigung des lymphoretikulären Gewebes führt^{15,16}.

Summary. The effect was investigated of 'Endoxan' (cyclophosphamide) on anaphylactic shock in mice, induced with the aid of pertussis organisms. A complete inhibition by a dose of 4 mg/mouse can be proved. The formation of antibodies in the Endoxan-treated mice is depressed.

H. FINGER

Hygiene-Institut und Medizinaluntersuchungsamt,
Justus-Liebig-Universität, Giessen (Deutschland),
29. Oktober 1964.

¹⁴ Für die Überlassung der Pertussis-Keimsuspension sind wir den Behringwerken, Marburg, zu Dank verpflichtet.

¹⁵ H. ST. STENDER, D. RINGLEB, D. STRAUCH und H. WINTER, Sdbd. Strahlentherapie 43, 392 (1959).

¹⁶ H. ST. STENDER, D. STRAUCH, H. WINTER und W. TEXTOR, Arzneimittelforsch. 13, 1031 (1963).

Tumorgewebe kombiniert mit Milz-, Lymphknoten- oder Thymusgewebe von Ratten in Diffusionskammern

In früheren Versuchen wurde das Überleben von Rattentumorgewebe¹, Rattenlungen- und -lebergewebe², Rattenmilz-, -lymphknoten- und -thymusgewebe³ in Diffusionskammern nach i. p. Implantation in Ratten gesichert und bei Kombination von Walker-Carcinom(WCA)- oder Jensen-Sarkom(JSA)-Gewebe mit normalem Rattenleber- und -lungengewebe ein Überleben der Tumorzellen unter gleichzeitigem Zugrundegehen der Normalgewebe festgestellt. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass das Wachstum von Tumorzellen in Diffusionskammern durch das Eindringen einer kleinen Anzahl immunologisch kompetenter Wirtszellen tumorresistenter oder normaler Ratten nicht sichtbar beeinflusst wird. Hingegen wurden

bei Verwendung grossporiger Membranfilter, die das Eindringen dieser Wirtszellen in grösserem Umfang gestatten, Tumorzellen in Diffusionskammern, die resistent gemachten Ratten implantiert wurden, auf Grund immunologischer Prozesse vernichtet. In grösseren Mengen eingedrungene Lymphzellen normaler Ratten hatten im gleichen Zeitraum nicht diese Wirkung aufzuweisen⁴. Es ergab sich die Frage nach dem Verhalten von WCA und JSA kombiniert mit Milz-, Lymphknoten- und Thymusgewebe normaler Ratten in Diffusionskammern.

¹ B. TEICHMANN und G. WITTIG, Z. Naturforschg. 19b, 54, 58 (1964).

² B. TEICHMANN und G. WITTIG, Naturwissenschaften 50, 673 (1963).

³ B. TEICHMANN, unveröffentlicht.

⁴ B. TEICHMANN, Exper. 20, 327 (1964).

Methodik. Unter den bereits beschriebenen Bedingungen^{1,5} und Verwendung von Membranfiltern MF 30 (Porengrösse max. ca. 500 m μ , durchschnittlich 300 m μ)⁶ erhielt in 3 Gruppen zu je 16 Wistarratten jedes Tier 3 Diffusionskammern, die WCA im Verhältnis 1:1 kombiniert mit Milz-, axillärem Lymphknoten- oder Thymusgewebe von 8 Monate alten normalen Wistarratten enthielten, i.p. implantiert. Die Kammern wurden nach unterschiedlichen Implantationszeiten entfernt, ein Teil

Ergebnis der Virulenzprüfung der Tumorzellen durch Erzeugung identischer Tumoren nach isologer Weitertransplantation der Kammerinhalte

Gruppe	Anzahl Tiere (Kammern)	Kammerinhalt	Kammerentnahme		Virulent
			Anzahl Kammern	Tage nach Implantation	
I	16 (48)	Walker-Carcinom und Milz	12	7	10
			12	14	9
			12	20	5
			12	30	1
II	16 (48)	Walker-Carcinom und Lymphknoten	12	7	12
			12	14	8
			12	20	5
			12	30	–
III	16 (48)	Walker-Carcinom und Thymus	12	7	10
			12	14	11
			12	20	10
			12	30	10
IV	12 (36)	Walker-Carcinom	9	7	7
			9	14	6
			9	20	9
			9	30	7

jedes Kammerinhalts auf unvorbehandelte Wistarratten weitertransplantiert und der Rest histologisch untersucht. Als Kontrolle dienten 12 Ratten mit je 3 Kammern, die nur mit WCA versehen waren.

Ergebnisse. In allen Fällen konnte das Überleben der mitimplantierten Normalgewebe, bei Milz schon makroskopisch, festgestellt werden. Die Virulenz des Tumorgewebes in Kombination mit Milz oder Lymphknoten nahm mit steigender Implantationsdauer ab, wie durch isologe Weitertransplantation der Kammerinhalte und Vergleich der Anzahl erzeugter identischer Tumoren mit der Tumorrare der von den Kontrollen stammenden Transplantate nachgewiesen wurde (Tabelle). Dies wird auf die Wirkung immunologischer Prozesse zurückgeführt und angenommen, dass die Tumorzellen eine gegen sich selbst gerichtete Abwehrleistung in Milz- und Lymphknotengewebe induzierten. Bei der Kombination von WCA mit Thymusgewebe konnte ein solcher Effekt im beobachteten Zeitraum nicht nachgewiesen werden. Mit JSA wurden entsprechende Ergebnisse erhalten.

Summary. In diffusion chambers, which were implanted into Wistar rats, Walker carcinoma tissue lost its virulence when combined with spleen or lymphnode tissue of normal 8-month-old Wistar rats, in consequence of immunological processes. In contrast to this, Walker carcinoma tissue, in combination with thymus tissue of the same donors, remained virulent.

B. TEICHMANN

Robert-Rössle-Klinik der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin-Buch (DDR),
2. Juli 1964.

⁵ B. TEICHMANN und G. WITTIG, Z. Naturforschg. 18b, 526 (1963).
⁶ Nach Angaben der Membranfilter-GmbH Göttingen.

Über eine neue Bestimmungsmethode von Testosteron im Urin¹

Es ist uns gelungen, mit Hilfe einer einfachen Technik Testosteron aus dem Urin zu isolieren. Testosteron wird als farbiges Dinitrophenylhydrazon dünnschichtchromatographisch isoliert und in Chloroform kolorimetrisch bestimmt.

100 ml filtrierter Urin werden zweimal mit Äther vorgereinigt, mit 1000 Fishman-Einheiten β -Glucuronidase versetzt und für 48 h bei pH 4,62 inkubiert. Das Hydrolysat wird dreimal mit dem gleichen Volumen Äthyläther extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden eingeeengt, mit 1 N NaOH und mit destilliertem Wasser gewaschen. Der in 0,1 ml Äthanol gelöste Extrakt wird mit 0,2 ml 2, 4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH)-Lösung (20 mg DNPH + 10 ml Äthanol + 0,15 ml konz. HCl) versetzt, für 15 min im Wasserbad von 60°C erwärmt und anschliessend zur Trockne gebracht. Der in 0,1 ml Chloroform gelöste Extrakt wird auf die Platte gebracht. Zu beiden Seiten des Extraktes wird ein Hydrazonstandard aus Testosteron und Ätiocholanolon aufgetragen. Verwendet wird das System Chloroform-Aceton (9:1) in Verbindung mit Kieselgel G nach Stahl (Schichtdicke:

0,30 mm). Nach dem Lauf wird der charakteristisch gefärbte Testosteronhydrazonfleck in Halbmikroküvetten (Hellma, Müllheim (Baden): Schichttiefe 10 mm, innere Breite 4 mm) überführt, die 1,0 ml Chloroform enthalten. Kolorimetriert wird bei 410 nm gegen einen kieselgel-freien Chloroform-Leerwert.

Bei unbefriedigender chromatographischer Trennung ist ein zweiter Lauf zu empfehlen. Aus Mischurinen mit einem Testosterongehalt von 6,1 μ g/100 ml konnten wir bei Zugabe von 3–6 μ g Testosteron/100 ml etwa 70% wiedergewinnen.

Summary. An outline is given for the estimation of testosterone in human urine with the help of dinitrophenylhydrazones of testosterone and thin layer chromatography.

Z. SZEREDAY² und L. SACHS

Universitäts-Frauenklinik Kiel (Deutschland),
24. August 1964.

¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Alexander-von-Humboldt-Stiftung.
² Frauenklinik der Universität Szeged (Ungarn).