

data). We suspect that both lymphoreticular proliferation as well as impaired delayed-type hypersensitivity are required for elevated EBV antibody titers.

KANE and NYE<sup>19</sup> have recently confirmed our preliminary report that the EBV antibody titers in Crohn's disease patients in England are also normal. It would be of interest to correlate the titers of anti-EBV antibody in this group of Crohn's disease patients with Kveim reactivity. We suspect that those patients with Crohn's disease who are Kveim positive will have higher levels of anti-EBV antibody than Kveim negative patients.<sup>20</sup>

**Zusammenfassung.** Die Häufigkeit und der Antikörpertiter gegen Epstein-Barr-Virus (EBV) wurde in Patienten mit Ulkus-Colitis und Crohn's Krankheit, eine granulomatöse Abnormalität ähnlich zur Sarkoidose, untersucht und normale Häufigkeit und Antikörpertiter gegen EBV bei ihnen gefunden.

H. W. GROTSKY<sup>21</sup>, Y. HIRSHAUT<sup>22</sup>,  
C. SOROKIN, D. SACHAR, H. D. JANOWITZ  
and P. R. GLADE<sup>23</sup>

Division of Infectious Diseases, Department of Pediatrics,  
Division of Gastroenterology, Department of Medicine,  
The Mount Sinai School of Medicine of the City University  
of New York, 3 East 100th Street, New York, (N.Y. 10029,  
USA), and Division of Cell Biology, Sloan Kettering  
Institute for Cancer Research, New York (N.Y., USA),  
14 June 1971.

<sup>19</sup> S. P. KANE and F. J. NYE, Lancet 1, 233 (1971).

<sup>20</sup> Supported by Research Contract No. NIH-69-2078 within the Special Virus Cancer Program of the National Cancer Institute, National Institutes of Health, USPHS, National Institutes of Health Grant No. AM 05126 and the National Foundation for Ileitis and Colitis, Inc., New York, New York.

<sup>21</sup> Dr. GROTSKY is a recipient of a National Institutes of Health Graduate Training Grant in Gastroenterology, No. Am 05126.

<sup>22</sup> Dr. HIRSHAUT is a recipient of a National Cancer Institute Grant No. CA 08748 an a grant from the New York Cancer Research Institute.

<sup>23</sup> Dr. GLADE is a recipient of a Research Career Development Award No. A1-46371 of the USPHS.

## Über eine Synthese von Ecdyson-<sup>3</sup>H und Ecdysteron-<sup>3</sup>H aus Cholesterin-<sup>3</sup>H in geschnürten Abdomina von *Mamestra brassicae*-Raupen

In einer früheren Untersuchung hatte sich ergeben, dass die Prothoracaldrüsen durch das Gehirnhormon bzw. den Aktivationsfaktor erwartungsgemäß zwar zu erhöhter RNS-Synthese stimuliert wurden, dass aber entgegen den Erwartungen das Häutungshormon Ecdyson bzw. Ecdysteron nicht nachzuweisen war<sup>1</sup>. Statt dessen trat eine signifikante Erhöhung an ungesättigten Fettsäuren im Vergleich zu nicht-stimulierten Drüsen auf.

Im Hinblick auf die allgemein angenommene Vorstellung von der Bedeutung der Prothoracaldrüse als Bildungsstätte des Häutungshormons<sup>2</sup> ist zunächst die Annahme zur Erklärung des unerwarteten Ergebnisses am wahrscheinlichsten, dass die hier produzierte Hormonmenge unter der mit der angewandten Technik erfassbaren Nachweisgrenze liegt. Generell muss aber auch die Denkmöglichkeit in Betracht gezogen werden, dass die Bildung des Häutungshormons nicht allein in der Prothoracaldrüse stimuliert wird. Für eine solche Schlussfolgerung lassen sich die Befunde von PIEPHO<sup>3</sup> an *Galleria mellonella* und von CHADWICK<sup>4</sup> an *Periplaneta americana* anführen. Bei beiden Objekten erfolgten auch nach experimenteller Exstirpation der Prothoracaldrüsen weitere Häutungen, in einigen Fällen sogar bis zur Imago. Diese Befunde standen bisher stets am Rande der Diskussionen, weil sie sich schwer in das allgemeine Vorstellungsschema einordnen ließen und weil daher eine gewisse Skepsis gegenüber der in den Experimenten erzielten totalen Exstirpation der Drüsen bestand.

Eigene Nachuntersuchungen sowohl an *Galleria mellonella* als auch an *Periplaneta americana* führten an einem verhältnismässig umfangreichen Material zur uneingeschränkten Bestätigung der genannten Ergebnisse. Von 158 operierten Raupen von *Galleria mellonella* häuteten sich 44 trotz der Drüsenexstirpation zur Puppe, wovon sich weiterhin 4 darüber hinaus zum Falter entwickelten. Von 187 operierten Larven von *Periplaneta americana*, die die Exstirpation gut überstanden, entwickelten sich 76 zu Imagines. Von diesen durchliefen dabei 23 Tiere zunächst eine Larven- und dann später die Imaginalhäutung, bei einem Tier gingen der Imaginalhäutung

zwei Larvenhäutungen voraus, und 52 Larven häuteten sich direkt zur Imago. Von den übrigen 111 Larven durchschritten 23 eine Larvenhäutung, ein Tier sogar 4 Larvenhäutungen, während sich 87 nach der Drüsenexstirpation nicht mehr häuteten<sup>5</sup>. Auf Grund der älteren und dieser Ergebnisse erschien eine weitere experimentelle Überprüfung der Funktion der Prothoracaldrüse in ihrer Beziehung zu den Häutungsprozessen und somit die Frage des Produktionsortes des Häutungshormons erwägenswert.

**Material und Technik.** Als Material wurden Raupen von *Mamestra brassicae* verwendet. Vor der kritischen Periode des 5. Stadiums wurde den Tieren eine Ligatur zwischen Thorax und 1. Abdominalsegment angelegt. 10 Tage danach wurde jeweils 5 Halbpuppen in das Hinterende 30 µC Cholesterin-<sup>3</sup>H (spez. Aktivität 3,6 Ci/mM, The Radiochemical Centre, Amersham) in 10% Äthanol enthaltender Ringer-Lösung appliziert. 6 Tage nach der Injektion wurden die Hämolymphe und die hämolympfreien Hinterenden mit Äthanol extrahiert und die Extrakte dünnenschichtchromatographisch (Kieselgel G Merck, Darmstadt) aufgetrennt. Die mittels reinem, unmarkiertem Ecdyson bzw. Ecdysteron gekennzeichneten Bereiche der Häutungshormone wurden extrahiert und wiederholt chromatographiert. Nacheinander wurde mit den Laufmitteln Chloroform/Äthanol (36:9), Chloroform/Methanol/25%iger Ammoniak/Wasser (24:14:2:1) und Chloroform/Äthanol/Eisessig (6:3:1) chromatographiert. Die Radiochromatogramme wurden mit dem

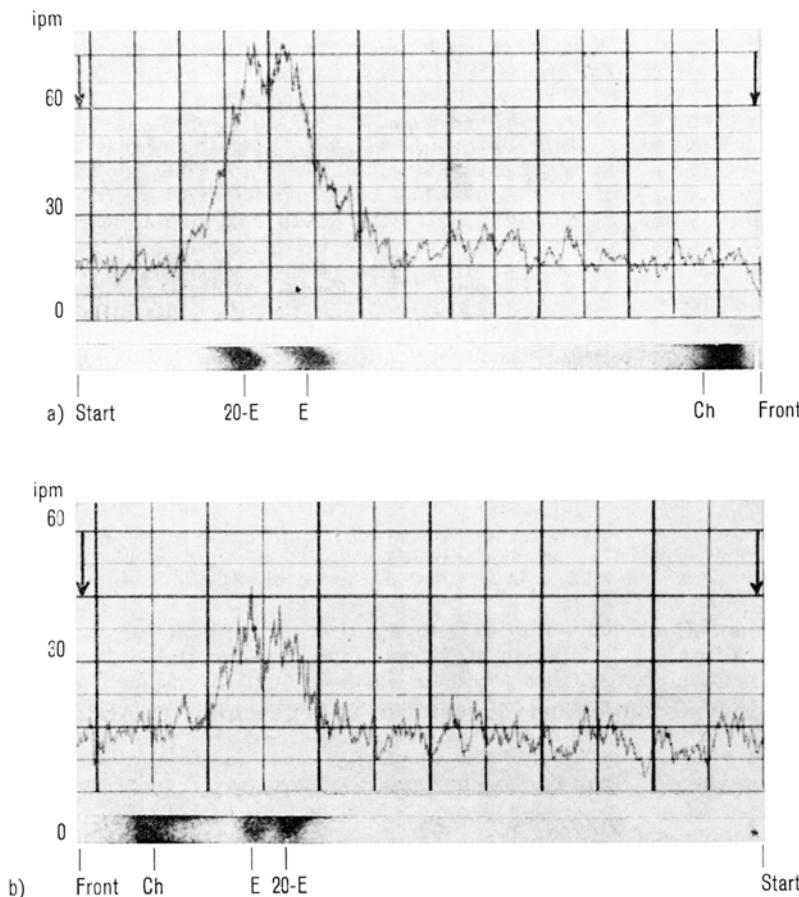
<sup>1</sup> M. GERSCH und J. STÜRZEBECHER, J. Insect Physiol. 16, 1813 (1970).

<sup>2</sup> M. GERSCH, Vergleichende Endokrinologie der wirbellosen Tiere (Akademische Verlagsgesellschaft, Gust und Portig G.m.b.H., Leipzig 1964).

<sup>3</sup> H. PIEPHO, Naturwissenschaften 35, 94 (1948).

<sup>4</sup> L. E. CHADWICK, J. exp. Zool. 131, 291 (1956).

<sup>5</sup> M. GERSCH, noch unveröffentlicht.



Radio- und Dünnschichtchromatogramme von Ecdyson-<sup>3</sup>H und Ecdysteron-<sup>3</sup>H aus hämolymphfreien Abdomina von *Mamestra brassicae* nach Applikation von Cholesterin-<sup>3</sup>H. a) Laufmittel: Chloroform/Methanol (36:4, 3maliger Durchlauf), b) Laufmittel: Chloroform/Äthanol/25%iger Ammoniak (6:5:1). Zur Orientierung wurden unmarkiertes Cholesterin (Ch), Ecdyson (E) und Ecdysteron (20-E) mit aufgetragen.

Dünnschicht-Scanner (Berthold/Frieske GmbH) aufgenommen. Die Anfärbung erfolgte mit Vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nach STAHL<sup>6</sup>.

**Ergebnisse und Diskussion.** Das Ergebnis des wiederholten Versuches ist der Abbildung zu entnehmen. Nach der dreimaligen dünnschichtchromatographischen Trennung konnten aus dem Extrakt der hämolymphfreien Hinterenden die <sup>3</sup>H-markierten Häutungshormone Ecdyson und Ecdysteron isoliert werden. Sie waren soweit gereinigt, dass die nachfolgenden Rechromatogramme nur noch parallel zur Färbung mit Vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Radioaktivität zeigten. Die Anwendung unterschiedlicher Laufmittel und die jeweilige Deckung der Flecken einerseits und der Aktivitätsgipfel andererseits lassen auf chromatographische Reinheit der <sup>3</sup>H-Häutungshormone schliessen. Der Überschuss an Cholesterin-<sup>3</sup>H ebenso wie andere markierte Produkte sind vollständig abgetrennt.

In der Hämolymphe konnten demgegenüber markiertes Ecdyson bzw. Ecdysteron nicht oder nur mit ganz geringen Aktivitäten nachgewiesen werden.

Die Befunde zeigen, dass in den Abdomen von *Mamestra brassicae* eine Synthese von Ecdyson und Ecdysteron aus Cholesterin stattfindet, wobei auf Grund der vorgenommenen Schnürung die Prothoracaldrüsen nicht beteiligt sind. Somit deutet das Ergebnis auf die Möglichkeit einer Bildung der Häutungshormone zumindest auch außerhalb der Prothoracaldrüsen hin. Die Befunde von WEIR<sup>7</sup> mit geschnürten Raupen von *Calpodes ethlius* sprechen ebenfalls gegen eine alleinige Beteiligung der Prothoracaldrüse bei den Häutungsprozessen.

Die Tatsache, dass in der Hämolymphe die Häutungshormone nicht oder nur mit geringer Aktivität festzustellen

waren, lässt darauf schliessen, dass sie zu einem grossen Teil in Geweben des Abdomens fixiert vorliegen und vermutlich erst bei Bedarf in die Hämolymphe abgegeben werden<sup>8,9</sup>.

**Summary.** After application of cholesterol-<sup>3</sup>H in ligated abdomina of 5th larva stages of the caterpillar *Mamestra brassicae* ecdyson-<sup>3</sup>H and ecdysteron-<sup>3</sup>H was demonstrated in the abdomina 6 days after injection. The results show that in this case the synthesis of the moulting hormones from cholesterol occurs without participation of the prothoracic glands.

M. GERSCH und J. STÜRZEBECHER

Sektion Biologie – Tierphysiologie – der Friedrich-Schiller-Universität, Erbertstrasse 1,  
DDR-69 Jena, 7. Juni 1971.

<sup>6</sup> E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie* (Springer Berlin, Heidelberg, New York 1967).

<sup>7</sup> S. B. WEIR, Nature, Lond. 228, 580 (1970).

<sup>8</sup> Ecdyson und Ecdysteron wurden uns dankenswerterweise von Professor Dr. H. GIBIAN, Schering AG, Berlin, und Professor Dr. TAKEMOTO, Sendai, Japan, zur Verfügung gestellt. Für technische Unterstützung danken wir Frau R. MEISSNER und Frau A. TILZ.

<sup>9</sup> Durchgeführt mit Mitteln des Ministeriums für Wissenschaft und Technik der DDR und mit Unterstützung durch die Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig.