

The limited evidence indicates that kinetin also promotes red pigmentation in the detached wheat leaves like sucrose, [6, 8], purines and pyrimidines [9].

Acknowledgement is made to a Commonwealth Scholarship (1961—1963) from the Canadian Commonwealth Scholarship & Fellowship Committee and to Dr. E. R. WAYGOOD, Professor of Botany at the University of Manitoba, Winnipeg, Canada, for valuable suggestions and laboratory facilities.

Eingegangen am 24. Februar 1966

[1] KLEIN, A. O.: Ph. D. Thesis, Indiana University, U.S.A. (1959). — [2] BAMBERGER, E., and A. MAYER: Science 131, 1094 (1960). — [3] THIMANN, K. V., and B. S. RADNER: Arch. Biochem. Biophys. 59, 511 (1955). — [4] BACHELARD, E. P., and B. B. STOWE: Nature 194, 209 (1962). — [5] MILLER, C. O.: Ann. Rev. Plant Physiol. 12, 395 (1961). — [6] KLEIN, A. O., and C. W. HAGEN: Plant Physiol. 36, 1 (1961). — [7] MISHRA, D.: Ph. D. Thesis, University of Manitoba, Canada (1963). — [8] THIMANN, K. V., Y. H. EDMONDSON, and B. S. RADNER: Arch. Biochem. Biophys. 34, 305 (1951). — [9] THIMANN, K. V., and B. S. RADNER: Arch. Biochem. Biophys. (a) 74, 209 (1958); (b) 96, 270 (1962).

Histochemischer Nachweis der Phosphorylasenhemmung durch 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D) an Skelettmuskel und Leber der Ratte

R. HEENE

Anatomisches Institut der Universität, Würzburg

In-vivo-Versuche an 200—300 g schweren Wistar-Ratten haben den Hinweis auf eine Hemmung der Phosphorylasen durch 2,4-D ergeben. — Die In-vitro-Inkubation 10 μ dicker Kryostatschnitte von rasch tiefgefrorenem (flüssiger Stickstoff/Propan) Skelettmuskel- und Lebergewebe gesunder Ratten bei Zusatz von 2,4-D in verschiedenen Konzentrationen zur Inkubationslösung (nach TAKEUCHI; anschließende PAS-Färbung) zeigt: Glukose-Phosphorylase und Transglykosidase werden im Muskelschnitt noch durch Konzentrationen von $2-5 \cdot 10^{-4}$ M/l, im Leberschnitt noch durch etwa $8 \cdot 10^{-4}$ M/l 2,4-D gehemmt, die UDPG-Phosphorylase durch $1-2 \cdot 10^{-3}$ M/l. Am Muskel betrifft die Hemmung Typ I- und Typ II-Fasern, wobei die Färbung [1] erst bei höheren Hemmstoffkonzentrationen verblaßt. — Auf die Strukturverwandtschaft zwischen 2,4-D und *p*-Chlormercuribenzoessäure, einem Hemmstoff der Phosphorylasen [2], sei verwiesen. Möglicherweise beruht die Wirkung von 2,4-D sowohl auf das Pflanzenwachstum als auch auf die Kontraktilität des quergestreiften Muskels [3] auf einer Hemmung der Phosphorylasenaktivität. — Die ausführliche Darstellung der Befunde folgt in „Histochemie“. Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Eingegangen am 28. April 1966

[1] DUBOWITZ, V., u. A. G. E. PEARSE: Histochemie 2, 105 (1960). — [2] BROWN, D. H., u. C. F. CORI: The Enzymes, vol. 5, p. 207. New York-London: Academic Press 1961. — [3] EYZAGUIRRE, L., B. P. FOLK, K. L. ZIERLER u. J. L. LILIENTHAL jr.: Am. J. Physiol. 155, 69 (1948).

DNS-Synthese in Niere und Dünndarm hypophysektomierter Ratten nach partieller Hepatektomie

H. RABES

Pathologisches Institut der Universität, München

Zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Tiere [1] läßt sich eine Steigerung der Spermogenese nachweisen [2]. Auch an Niere und Dünndarm hypophysektomierter Ratten zeigen sich Veränderungen in der Proliferationsaktivität. Männliche Sprague-Dawley-Ratten (190 g) wurden transspheoidal hypophysektomiert. 30 Tage nach der Hypophysektomie wurden 66% der Leber reseziert. 41 Std danach erhielten die Tiere pro g Körpergewicht 2,9 μ C Thymidin-6-T (n), spez. Akt. 1,9 C/mM (Radiochemical Centre Amersham), in 1,5 ml Ringerlösung zwischen 10 und 11 Uhr intraperitoneal injiziert. Zum Vergleich dienten hypophysektomierte, nicht leber-resezierte Ratten. 60 min später wurden Niere und Dünndarm (oberes

Jejunum bis unteres Ileum) entnommen. Aus den homogenisierten Organen wurde die DNS extrahiert [3, 4], photometrisch gemessen [5] und ihre Aktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard 3214) in Dioxan-Szintillator bestimmt und mit einem inneren Standard korrigiert.

In der DNS-Syntheseaktivität von Niere und Dünndarm besteht wie bei unbehandelten Tieren auch bei hypophysektomierten Ratten eine starke Differenz. Die spezifische Aktivität der Dünndarm-DNS liegt nach Zuführung von markiertem Thymidin um mehr als das 50fache über dem Wert für die Niere (Tabelle).

Tabelle. Spezifische Aktivität der DNS (Zerfälle/min pro μ g DNS) in Niere und Dünndarm hypophysektomierter und hypophysektomiert-teilhypophysektomierter Ratten nach Injektion von Thymidin-6-T (n) sowie die Veränderung der DNS-Synthese durch Teilhepatektomie (n = Zahl der Ratten) Signifikanzberechnung nach STUDENT.

	Hypophys-ektomie	Hyp.ekt.+ Teilhepatekt.	DNS-Synthese nach Teilhepat.
Niere	100 \pm 35; n = 17	293 \pm 112; n = 13	+ 193%; P < 0,001
Dünndarm	5787 \pm 938; n = 15	4896 \pm 849; n = 12	- 15%; P < 0,02

Die zusätzlich zur Hypophysektomie vorgenommene partielle Hepatektomie wirkt sich an Niere und Darm unterschiedlich aus. An der Niere führt sie zu einem hochsignifikanten Anstieg in der spezifischen Aktivität der DNS, während die Inkorporation des markierten Thymidins in das Dünndarmgewebe nach Teilhepatektomie vermindert ist.

Die Anregung der Zellproliferation in der Leber durch eine partielle Hepatektomie ist von einer Aktivierung der DNS-Synthese in der Niere begleitet. Das gegensätzliche Verhalten von Niere und Darm nach der Leberresektion schließt eine Veränderung des DNS-Vorläufer-Pools durch die Operation als unspezifische Ursache für die Erhöhung der spezifischen Aktivität der Niere weitgehend aus. Während frühere Untersuchungen Hinweise für die Leberspezifität des „Regenerationsfaktors“ in vitro [6] und auch in Konfrontationskulturen [7] ergeben hatten, zeigen sich am hypophysektomierten Tier, offenbar wegen seiner besonders sensiblen Reaktionslage, nach Teilhepatektomie auch Wirkungen auf die DNS-Synthese anderer Organe. Mit autoradiographischen Methoden wird dieses Phänomen näher analysiert.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Eingegangen am 5. April 1966

[1] RABES, H., H. WRBA u. H. BRÄNDLE: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 120, 244 (1965). — [2] BRÄNDLE, H., H. WRBA u. H. RABES: Naturwissenschaften 53, 85 (1966). — [3] SCHMIDT, G., u. S. J. THANNHAUSER: J. Biol. Chem. 161, 83 (1945). — [4] HECHT, L. I., u. V. R. POTTER: Cancer Research 16, 988 (1956). — [5] DISCHE, Z.: Mikrochemie 8, 4 (1930). — [6] WRBA, H., u. H. RABES: Cancer Research 23, 1116 (1963). — [7] RABES, H., u. H. WRBA: Exptl. Cell Research 39, 669 (1965).

Verhalten einiger Purinderivate gegen Xanthinoxidase

DIETER WERNER und NARINDER K. KAPOOR

Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität, Heidelberg

Durch ihre Fähigkeit, Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure bzw. Adenin zu 2,8-Dihydroxyadenin [1] zu oxydieren, ist die Xanthinoxidase ein „Schlüsselenzym“ zur Erhaltung eines bestimmten Purinbasenverhältnisses in der Zelle [2]. Neben den genannten natürlichen Substraten werden außer Aldehyden und Pterinen verschiedene xenobiotische Purinderivate wie 6-Mercaptopurin [3], 6-Chlorpurin [4], 2- und 8-Aminopurin und deren Mono- sowie Dimethylaminoderivate [5] oxydiert. In unsere Untersuchungen über Oxydasen, die am Abbau von Puryl-6-derivaten biogener Amine und Aminosäuren beteiligt sind, wurde deshalb die Xanthinoxidase einbezogen.

Zum Nachweis der Oxydation wurde die unterschiedliche UV-Lichtabsorption der Ausgangsverbindungen ($\lambda_{\max} = 260$ bis 280 μ) und der 2,8-Dihydroxyverbindungen ($\lambda_{\max} = 305$ bis 335 μ) benutzt. Die verwendete Xanthinoxidase war ein Präparat der Fa. Boehringer u. Söhne, Mannheim. Reaktions-

medium war m/15 Phosphatpuffer vom pH 7.4. Es zeigte sich, daß die Puryl-6-Derivate des Histamins, Tryptamins, Iso-tryptamins [6], 5-Fluor-tryptamins*, L-Carnosins* und des 2- β -Äthylaminopyridins* als Substrate dienen konnten. Von 6-C-substituierten Purinderivaten wurde das 6-Methylpurin sowie die Puryl-6-carbonsäure oxydiert. Purin selbst wird von dem Enzym zur Harnsäure ($\lambda_{\max} = 290 \mu\mu$) und das 8-Azapyryl-6-histamin [7] zum entsprechenden 2-Hydroxy-derivat ($\lambda_{\max} = 250 \mu\mu$) oxydiert.

Nicht als Substrat verwertet wurden alle untersuchten Puryl-6-derivate von Aminosäuren* und zyklischen sekundären Amininen*, länger-kettige 6-C-substituierte Purinderivate* sowie Purinderivate, die in 9-Stellung einen Substituenten tragen (Äthylgruppe*, Tetrahydropyranylgruppe, Riboside, Ribotide).

Kinetische Messungen bezüglich der Reaktionsgeschwindigkeit ergaben, daß die verschiedenen Substrate wahrscheinlich nach zwei verschiedenen Mechanismen oxydiert werden. Die Prüfung weiterer Purinderivate auf ihre Substratfähigkeit ist in Arbeit.

Die Untersuchungen wurden durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft an Prof. LETTRÉ ermöglicht. Der eine von uns (N.K.K.) dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für ein Stipendium.

Eingegangen am 31. März 1966

* Die Beschreibung der Darstellung dieser Substanzen erfolgt an anderer Stelle.

[1] KLENOW, H.: Biochem. J. 50, 404 (1952). — [2] BERGEL, F., R. C. BRAY, A. HADDOW u. J. LEVIN, in: The Chemistry and Biology of Purines. London: J. & A. Churchill Ltd. 1957. — [3] SILBERMAN, H. R., u. J. B. WYNGAARDEN: Biochim. et Biophys. Acta 47, 178 (1961). — [4] ELION, G. B., S. BIEBER u. G. H. HITCHINGS: Ann. N.Y. Acad. Sci. 60, 297 (1954). — [5] BERGMANN, F., G. LEVIN, H. KWIETNY-GOVVIN u. H. UNGAR: Biochim. et Biophys. Acta 47, 1 (1961). — [6] SCHINDLER, W.: Helv. Chim. Acta 40, 2156 (1957). — [7] BALLWEG, H.: Liebigs Ann. Chem. 657, 141 (1962).

Interferenzmikroskopische Gewichtsbestimmungen an Zellen verschiedener Hypophysenadenome

HANS-JOACHIM SEHRBUNDT

Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Abteilung für Tumorforschung und experimentelle Pathologie, Köln-Lindenthal

Mit einem Interferenz-Mikroskop (Fa. C. Zeiss) wurden die Zell-trockengewichte an einem endokrin-inaktiven (chromophob) und an zwei endokrin-aktiven (eosinophil und basophil) Adenomen bestimmt. Das endokrin-aktive Mischtypadenom

Tabelle

	Endokrin-inaktiv		Endokrin-aktiv	
	chromophob	eosinophil	basophil	
Cytoplasmafl. μ^2	25,283	50,067	37,081	
Kernfläche	19,289	24,372	29,035	
Zellfläche	44,572	74,439	66,836	
Cyt.gewicht 10^{-12} g	26,70 \pm 11,0	78,12 \pm 30,0	23,94 \pm 7,0	
Kerngewicht	27,56 \pm 5,99	42,99 \pm 4,0	33,74 \pm 7,0	
Zellgewicht	54,26	121,11	57,86	
Cyt.gew./ μ^2	1,078 \pm 0,44	1,56 \pm 0,44	0,633 \pm 0,2	
Kerngew./ μ^2	1,430 \pm 0,2	1,76 \pm 0,14	1,16 \pm 0,19	
Zellgew./ μ^2	2,508	3,32	1,793	

wurde wegen des histologisch uneinheitlichen Bildes vorerst zurückgestellt [1, 2]. Das Einbettungsparaffin der Schnitte entfernten wir mit Xylol; entspanntes Wasser (Agepon) diente als Immersionsmedium. Von jedem Adenom wurden 60 Einzelzellen im Interferenzmikroskop ausgemessen; die zur Berechnung wichtigen Flächenwerte ermittelten wir durch Zeichnen (Wild-Zeichenmikroskop) und Planimetrieren. Die Werte der Trockengewichte errechneten wir nach den in der Interferenzmikroskopie üblichen Formeln für Cytoplasma und Kern [3—6].

Ergebnisse. Die relativen Trockengewichte für die chromophoben und die basophilen Adenomzellen sind annähernd

gleich. Die des eosinophilen Adenoms betragen etwa das Doppelte (1:2:1). Die auf μ^2 bezogenen Trockengewichte lassen die Zellen des eosinophilen Adenoms als die schwersten erkennen, es folgen die des chromophoben und basophilen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefaßt.

Setzt man Zellaktivität und Gewicht in Beziehung, so ergeben sich zwischen eosinophilen und chromophoben Adenomen Zusammenhänge. Die hohen Gewichtswerte für die Zellen des eosinophilen Adenoms beruhen auf der chemischen Zusammensetzung des somatotropen Hormons (Protein). Die niedrigen Gewichte des basophilen Adenoms können ihre Erklärung in der Untersuchungsmethode (Lösen von Glykoproteiden) oder in der Zelleigenart finden.

Eingegangen am 15. April 1966

[1] BRILMAYER, H., FR. MARGUTH u. W. MÜLLER: Acta Neuroveget. (Vienna) 15, 352 (1957). — [2] MÜLLER, W.: Deut. Z. Nervenheilk. 186, 190 (1964). — [3] DAVIES, H. G., in: General Cytochemical Methods, Bd. 1, S. 55—161. New York: Academic Press 1958. — [4] SANDRITTER, W., H. G. SCHIEMER u. W. ALT: Klin. Wochschr. 12, 590 (1960). — [5] GERZEL, G.: Riv. istochim. norm. e patol. 2, 53 (1963). — [6] SCHIEMER, H. G.: Acta Histochem. 9, 207 (1960).

Glucagon als Synergist des Insulins

H. G. LIPPMANN, M. KLENKE und G. MOHNIKE †

Institut für Diabetes „Gerhardt Katsch“, Karlsburg bei Greifswald

1955/56 wurde wahrscheinlich gemacht [1—3], daß dem Glucagon nicht nur die Eigenschaft eines Insulin-Antagonisten zukommt, sondern daß mit seinem hyperglykämisierenden Effekt auch eine erhöhte periphere Glukoseverwertung einhergeht, weil beim stoffwechselgesunden Menschen unter Glucagon eine Erhöhung der arterio-venösen Glukosedifferenz gemessen werden konnte.

Da das Glucagon noch immer als diabetogenes Hormon angesehen wird, wollten wir experimentell klären, ob es hinsichtlich der peripheren Glukoseutilisation den transmembranen Transportprozeß für Glukose insulinähnlich beeinflusst, was bei Anwesenheit verfügbarer Glykogendepots im intakten Organismus durch den (primär?) hyperglykämisierenden Effekt der direkten Beobachtung entgeht.

Versuchsmodell war das eviscerierte, nephrektomierte Kaninchen (mit funktioneller Leberausschaltung) unter kontinuierlicher Infusion einer Kochsalz-Glukose-Lösung (ausführliche Darlegung der methodischen Prinzipien s. bei [4]); untersucht wurde der Einfluß von Glucagon, Insulin* und beiden Hormonen zusammen auf die Eliminationsrate von Glukose aus dem Blut.

4 μ g Insulin ($\cong 0,1$ IE) pro kg Körpergewicht i. v. bewirken eine Erhöhung des Glukoseabstroms aus dem Blut (Tabelle), wie sie ähnlich von [5] beschrieben und als Aktivierung des transmembranen Transports für Glukose gedeutet wurde. Nach Verabreichung von 0,1 mg Glucagon pro kg Körpergewicht i. v. kommt es ebenfalls zur starken Aktivierung des Glukoseabstroms aus dem Blut (Tabelle) mit einem Maximum

Tabelle. Elimination von Glukose (D) aus dem Blut des eviscerierten nephrektomierten Kaninchens in mg pro 100 ml Blut 30, 60 und 90 min nach Injektion von 0,1 mg Glucagon (A), 4 μ g Insulin (B) bzw. beider Dosen zusammen (C) pro kg Körpergewicht i. v. Mittelwerte und deren mittlere Fehler; Versuche an insgesamt 15 Tieren

	30 min		60 min		90 min		
	n	D	$s_{\bar{x}}$	D	$s_{\bar{x}}$	D	$s_{\bar{x}}$
A	6	7,5	18,4	52,2	15,0	2,5	21,7
B	4	36,0	6,4	58,0	5,7	80,8	6,0
C	5	46,4	12,3	71,2	14,7	115,4	18,9

60 min post injectionem und rasch abklingender Wirkung, die sich vom Insulineffekt zunächst allein dadurch unterscheidet, daß sie, obwohl im Maximum der gleiche quantitative Effekt erreicht wird, später einsetzt und rascher abklingt. Bei gleichzeitiger Gabe beider Hormone scheint dem zeitlichen Verlauf nach die Insulinwirkung zu dominieren, und Glucagon führt nicht zu einem additiven Effekt, denn die Unterschiede zwischen den Werten der alleinigen Insulin-Wirkung und denen