

Tableau II

	Radioactivité due aux acides nucléiques				Radioactivité due aux protéines			
	1 h d'incubation	12 h d'incubation	% A.R.N.	Radioactivité spécifique relative	1 h d'incubation	12 h d'incubation	Extinction	Radioactivité spécifique relative
Cytoplasme . . .	90	236	10	90	30	79	0,530	57
Vésicule germinative . . .	35	90	—	—	65	166	0,410	159
Nucléole	4400	4200	5	8800	1900	1800	0,325	5850

activité spécifique relative de l'acide nucléique dans le nucléole et le cytoplasme.

D'autre part, des mesures microspectrophotométriques de la concentration en protéines des différentes régions de la cellule ont été effectuées suivant la méthode de MAZIA¹ sur des oocytes ayant séjourné pendant 1 h dans une solution de glycolle marqué. Les extinctions relatives indiquées au Tableau II nous ont permis de calculer la radioactivité spécifique due aux protéines.

Il semble donc que, pour des durées brèves d'incubation, l'incorporation du glycolle soit considérablement plus rapide dans le nucléole que dans le cytoplasme, tant au niveau des protéines que des acides nucléiques; ce phénomène s'atténue dans le cas des incubations prolongées, pour lesquelles un état de régime semble s'établir.

Il est intéressant de constater que la méthode autoradiographique, tout en permettant de localiser cette activité dans le nucléole, confirme les résultats obtenus par l'analyse chimique de noyaux entiers isolés à partir d'organes traités *in vivo* par le ³²P (JEENER et SZAFARZ², BARNUM et HUSEBY³, MARSHAK⁴).

(M^{me}) A. FICQ

Laboratoire de morphologie animale, Université de Bruxelles, le 15 mai 1953.

Summary

An autoradiographic method, based on the observation of individual particles, was used to determine the relative specific radioactivity of RNA and of the proteins in the different parts of the oocytes of *Asterias rubens*.

The nucleolus incorporates glycine in both fractions about 100 times more rapidly than the cytoplasm.

¹ D. MAZIA, P. BREWER et M. ALFERT, Biol. Bull. 104, 57 (1953).
² R. JEENER et D. SZAFARZ, Arch. Biochem. 26, 54 (1950).
³ C. P. BARNUM et R. A. HUSEBY, Feder. Proc. 8, 182 (1949).
⁴ A. MARSHAK et F. CALVET, J. cell. comp. Physiol. 32, 381 (1948); 34, 451 (1949).

Über die Ausscheidung und Speicherung von radioaktiv indizierten Xylanschweifelsäureestern

II. Dauer der Speicherung, Kumulierung, Vergleich mit Heparin

Wie aus der 1. Mitteilung¹ hervorgeht, lässt sich die Ausscheidung und Speicherung von blutgerinnungshemmenden Polysaccharidschweifelsäureestern durch Indizierung mit S³⁵ ermitteln. Die Versuche ergaben eine mit steigendem Polymerisationsgrad zunehmende Speicherung, insbesondere in Leber, Niere und Milz.

¹ E. HUSEMANN, E. G. HOFFMANN, R. LÖTTERLE und M. WIEDERSHEIM, Exper. 8, 153 (1952).

Nach eingehender Ausarbeitung der Methode¹ wurden weitere Versuche unternommen zur Klärung folgender für die therapeutische Anwendbarkeit der Substanzen wichtigen Fragen: Wie lange verweilt die gespeicherte Substanz im Organismus? Findet bei mehrfacher Injektion eine Kumulierung statt? Nimmt Heparin als körpereigene Substanz eine Sonderstellung ein, oder verhält es sich wie ein Xylanester gleichen Schwefelgehaltes?

Zur Untersuchung der beiden ersten Fragen verwendeten wir einen Xylanschweifelsäureester mit einem η -Wert von 0,02 – das entspricht einem Polymerisationsgrad von 90² und 14,7 % S (XSI).

Zur Bestimmung der Verweildauer der gespeicherten Substanz wurden 2 Kaninchen 100 mg/kg von XSI in physiologischer Kochsalzlösung intravenös injiziert und der Gehalt der Organe an Schweifelsäureester durch Messung der Aktivität nach 48 h bzw. 3 Wochen ermittelt.

Table I
Verweildauer von Xylanschweifelsäureester XSI in den Organen

Organ	Spezifische Aktivität nach		Anteil der verabfolgten Aktivität in %	
	48 h	3 Wochen	48 h	3 Wochen
Leber. .	0,51	0,69	3,72	6,3
Niere . .	2,14	1,78	4,29	2,7
Milz . .	0,755	0,58	0,08	0,08

Man sieht aus der Tabelle, dass der Gehalt an Xylanester in drei Wochen in den meisten Organen nur unwesentlich absinkt, in der Leber sogar deutlich ansteigt. Gespeicherte Substanz wird also äusserst langsam wieder abgegeben.

Table II
Vergleich der Gehalte von Xylanschweifelsäureester nach 1-, 5- und 14maliger Injektion von 100 mg/kg

Organ	Spezifische Aktivität Zahl der Injektionen			Anteil der verabfolgten Aktivität in % Zahl der Injektionen		
	1	5	14	1	5	14
Leber. . . .	0,51	4,95	6,51	3,72	8,44	3,51
Niere	2,14	8,14	11,68	4,29	2,48	1,27
Milz	0,78	5,64	20,6	0,08	0,09	0,12

¹ E. G. HOFFMANN, E. HUSEMANN, R. LÖTTERLE, M. WIEDERSHEIM und W. HERTLEIN, Makromolekulare Chemie (im Druck).
² Nach osmotischen Messungen von B. PFANNMÜLLER liegt der K_m -Wert bei $3 \cdot 10^{-4}$. Die bei der 1. Mitteilung mit 6,2 berechneten Polymerisationsgrade sind also entsprechend umzurechnen.

Zur Prüfung auf eine eventuelle Kumulierung injizierten wir einem Kaninchen 5 Tage lang jeweils 100 mg/kg, einem anderen 14 Tage lang die gleiche Dosis und arbeiteten die Organe 48 h nach der letzten Injektion auf. Die Tabelle II zeigt die Ergebnisse.

Ein Vergleich der spezifischen Aktivitäten zeigt, dass der Gehalt an Xylanester bei mehrmaliger Injektion erheblich ansteigt. In der Leber erhöht er sich nach 5 Tagen auf das 10fache und nach 14 Tagen auf das 13fache des Wertes nach einmaliger Gabe. Die letzte Zahl deutet auf eine beginnende Sättigung. In der Milz ist der Anstieg noch erheblicher: nach 5 Tagen wird der 7fache und nach 14 Tagen der 25fache Wert erreicht. Diese Befunde über die Verweildauer der gespeicherten Substanz und die Kumulierung lassen eine wiederholte Anwendung derartiger Stoffe als bedenklich erscheinen.

Bei der Synthese blutgerinnungshemmender Schwefelsäureester dient stets das körpereigene Heparin als Vorbild. Wir indizierten daher diese Substanz¹ ebenfalls mit S³⁵ und untersuchten ihr Schicksal im Organismus auf die gleiche Art. Ausserdem stellten wir zum Vergleich einen Xylanester her, der in Schwefelgehalt und Viskositätszahl mit dem Heparin möglichst übereinstimmte. (Heparin: $Z\eta = 0,0057$, $S = 12,8\%$, XS II: $Z\eta = 0,0047$, $S = 12,2\%$).

Tabelle III

Vergleich der Aktivitäten der Organe nach 1- bzw. 5maliger Injektion von XS I, XS II und Heparin

Organ	Spezifische Aktivität					
	XS I		XS II		Heparin	
	1	5	1	5	1	5
Leber	0,51	4,95	0,11	0,34	0,093	0,27
Niere	2,14	8,15	0,33	2,0	0,78	3,4
Milz	0,78	5,6	0,35	1,3	0,56	1,2

Die Werte von XS II und Heparin liegen übereinstimmend niedriger als die von XS I. Wie ein Vergleich mit den Werten nach einmaliger Injektion zeigt, ist die Kumulierung wesentlich geringer als bei XS I.

Auch in der Verweildauer der gespeicherten Substanzen ist ein deutlicher Unterschied zu erkennen. Aus der Tabelle IV sieht man, dass nach 3 Wochen die Aktivität in den Organen im Gegensatz zu XS I (vgl. Tab. I) erheblich abgenommen hat.

Tabelle IV

Verweildauer von XS II und Heparin in den Organen

Organ	XS II		Heparin	
	Spezifische Aktivität nach			
	48 h	3 Wochen	48 h	3 Wochen
Leber. . . .	0,107	0,068	0,093	0,052
Niere	0,33	0,185	0,78	0,33
Milz	0,35	0,20	0,065	0,062

Aus unseren bisherigen Ergebnissen folgern wir, dass der Schwefelgehalt entscheidend ist für die Dauer der Speicherung und die Kumulierung. Das körpereigene Heparin nimmt keine Sonderstellung ein, sondern ver-

hält sich innerhalb der Fehlergrenze ebenso wie ein Xylanester gleichen Schwefelgehaltes.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie der Dr.-Wander-GmbH., Bern und Säckingen, danken wir sehr herzlich für die Unterstützung der Arbeit.

E. HUSEMANN, B. PFANNEMÜLLER und W. HERTLEIN

Aus dem Staatlichen Forschungsinstitut für makromolekulare Chemie und dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br., den 28. März 1953.

Summary

The storage of anticoagulant Xylane sulfuric acid esters, as tested by the radioactivity of compounds containing S³⁵, is of an extremely long duration. After three weeks the quantity found in the liver is the same as that found after 48 h. Additional dosage results in further accumulation. Heparin is no exception since it behaves as Xylane sulfuric acid ester of the same viscosity and sulfur content.

La migration de l'hémoglobine additionnée au sérum humain lors de l'électrophorèse sur papier

Pour étudier l'influence de l'hémolyse sur l'électrophorogramme du sérum humain obtenu selon la technique de GRASSMANN et HANNIG¹, nous avons fait cheminer ensemble une solution à 4% d'hémoglobine humaine, non dénaturée, et un sérum humain de référence, choisi au hasard. L'appareil à électrophorèse était le Elphor H (tampon: véronal sodique/acétate/acide chlorhydrique, ph. 8,6, $\mu = 0,1$).

Pour l'hémoglobine pure nous avons toujours obtenu une seule tache (tache H) à mobilité de β -globuline (Fig. 1a). Ceci correspond aux observations de MOORE² qui utilise l'électrophorèse selon TISELIUS. Par contre, si après avoir appliqué 10 μ l d'une solution à 4% (0,4 mg) d'hémoglobine, nous ajoutons sur la même ligne 10 μ l du sérum humain choisi, nous observons après la migration et avant toute coloration, deux taches «hémoglobiques» nettement démarquées (taches h et H) (Fig. 1b). En réduisant à 1 μ l la quantité d'hémoglobine (0,04 mg), tout en maintenant le volume du sérum à 10 μ l, nous ne retrouvons que la tache h, à mobilité légèrement plus élevée que celle d'une β -globuline (Fig. 1c).

La coloration à l'amido schwarz 10B révéla que le sérum humain utilisé présentait une nette élévation des α_2 -globulines (1,0%). Dans une première série de contrôles, nous avons ajouté 0,4 mg d'hémoglobine à 10 μ l de sérums de diverses concentrations en α_2 -globuline. L'intensité de la tache h se révéla parallèle à la concentration en α_2 -globuline, la tache H restant d'intensité sensiblement constante. Dans une deuxième série, nous avons ajouté des quantités croissantes d'hémoglobine à 10 μ l d'un même sérum (α_2 -globuline: 1,7%). A partir de 0,24 mg d'hémoglobine, la tache h semble atteindre une intensité constante tandis que la tache H, nette à partir de ce volume, s'intensifie encore pour des quantités d'hémoglobine plus élevées.

¹ W. GRASSMANN et K. HANNIG, *Naturwissenschaften* 37, 496 (1950); Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 290 (1952). – W. GRASSMANN et L. HÜBNER, *Naturwissenschaften* 40, 272 (1953).
² H. MOORE, J. B. ROBERTS, M. COSTELLO et T. W. SCHONBERGEN, *J. Biol. Chem.* 180, 1147 (1949).

¹ Der Deutschen Hoffmann-La-Roche-AG. danken wir auch an dieser Stelle für die Überlassung von 2 g Heparin.