

Summary

The effects of three dyes with carboxyl groups are been studied on the developing eggs of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*. Uranin and rose Bengal are both some derivative of the xanthene. Chrome violet CG is a carboxyl derivative of pararosolic acid. In dilute solutions these three dyes induce the development of radial larvae. At higher concentration, uranin and rose Bengal are very effective animalizing agents. Rose Bengal is more active than uranin. Rose Bengal differs from uranin by the fixation of halogens on the molecule of dye which increase the acidity of the carboxyl group. It appears that animalizing activity runs parallel with acidity. The results of these experiments are discussed in relation to the animalizing effects of various acid sulfonated dyes. The possible significance of the combinations between acid dyes and basic components of the cells in the animalization is considered.

Über die Stoffwechselwirkung eines Lipopolysaccharids aus *Escherichia coli*

Zahlreiche Mitteilungen der letzten Jahre weisen darauf hin, dass eine Injektion von Bakterienlipopolysacchariden Wirkungen hervorruft, die weit über den Temperaturanstieg hinausgehen¹. Dabei ist aber auch der Mechanismus der Temperaturerhöhung selbst bei weitem noch nicht geklärt.

In unseren Versuchen befassten wir uns mit der eventuellen Stoffwechselwirkung eines Lipopolysaccharids, das wir aus *E. coli*, Stamm ATCC Nr. 9492, gemäss dem Verfahren nach WESTPHAL *et al.*² isolierten. Die minimale

¹ E. EICHENBERGER, M. SCHMIDHAUSER-KOPP, H. HURNI, M. FRICSSAY und O. WESTPHAL, Schweiz. med. Wschr. 85, 1190, 1213 (1955). — R. MEIER, H. J. BEIN und R. JAQUES, Exper. 12, 235 (1956). — E. FRITZE, P. DOERING, H. MANECKE und R. SCHOEN, Schweiz. med. Wschr. 83, 783 (1953). — D. A. McGINTY, M. MC-WILSON und G. RODNEY, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 70, 334 (1949).

² O. WESTPHAL, O. LÜDERITZ, E. EICHENBERGER und W. KEIDERLING, Z. Naturf. 7B, 536 (1952).

pyogene Dosis dieses Stoffes beträgt für Kaninchen (intravenös) 0,0042 γ/kg und die DL₅₀ für Mäuse (intravenös) 9,9 mg/kg.

Methodik. Die Gewebsatmung von Schnitten aus Kaninchenleber und Niere wurde im Warburgapparat untersucht. Als Medium haben wir entweder Krebs-Ringer-Lösung mit Glukose oder homogenes Serum benutzt. Auch das Lipopolysaccharid wurde in diesen Medien gelöst. Falls Serum benutzt wurde, inkubierten wir die Pyrogenlösung vor dem eigentlichen Experiment 1 h bei 37°. Die Menge des Lipopolysaccharids, die in den Seitenarm des Gefäßes kam, betrug 0,002 γ. In einer anderen Versuchsreihe wurde das Pyrogen den Kaninchen injiziert (0,01 γ/kg intravenös), die Tiere nach 1 1/2 h bei hohem Fieber getötet und der Sauerstoffverbrauch der Leber bestimmt. Bei anderen Tieren wurde der Blutzuckergehalt nach der Methode von KING und GARNER³ und die Blutmilchsäure nach SUMMERSON und BARKER⁴ vor und nach der Pyrogenverabreichung gemessen.

Resultate. Die genauen Daten über die Wirkung auf den Glukose- und Milchsäuregehalt sind der Tabelle I zu entnehmen.

Tabelle I

Einfluss von Pyrogen auf den Blutzucker- und Milchsäuregehalt im Kaninchenvenenblut

| Versuchsanordnung | Zahl der Tiere | Gehalt | | p |
|-------------------|----------------|------------|--------------|----------|
| | | vor | nach Pyrogen | |
| Glukose in mg% | 30 | 93,6 ± 8,9 | 120 ± 9,7 | p < 0,02 |
| Milchsäure in mg% | 30 | 42,9 ± 4,2 | 25 ± 3,3 | p < 0,02 |

Tabelle II stellt die Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch der Leber und der Niere dar.

³ E. J. KING, *Microanalysis in Medicine and Biochemistry* (London 1951).

⁴ S. BARKER und W. H. SUMMERSON, J. biol. Chem. 138, 535 (1941).

Tabelle II
Wirkung von Pyrogen auf den Sauerstoffverbrauch der Leber- und Nierenschnitte

| Nr. | Versuchsanordnung | Zahl der Versuche | O ₂ -Verbrauch in Mikroliter pro 1 mg Trockengewicht während 2 h | p |
|-----|--|-------------------|---|---|
| 1 | Leber, Kontrolle im Krebs-Ringer | 24 | 1,59 ± 0,07 | |
| 2 | Leber + 0,002 γ Pyrogen in Krebs-Ringer | 31 | 1,50 ± 0,1 | p gegenüber Versuch 1 < 0,2 |
| 3 | Leber, Kontrolle im Serum | 24 | 1,82 ± 0,08 | p gegenüber Versuch 1 < 0,01 |
| 4 | Leber + 0,002 γ Pyrogen im Serum inkubiert | 20 | 2,18 ± 0,11 | p gegenüber Versuch 1 < 0,01 p gegenüber Versuch 3 < 0,02 |
| 5 | Leber von Kaninchen, denen 0,01 γ/kg Pyrogen injiziert wurde, nach 1 1/2 h getötet | 32 | 2,55 ± 0,05 | p gegenüber Versuch 1 < 0,001 p gegenüber Versuch 3 < 0,01 |
| 6 | Niere, Kontrolle im Krebs-Ringer | 20 | 6,19 ± 0,17 | |
| 7 | Niere, Kontrolle im Serum | 25 | 7,24 ± 0,12 | p gegenüber Versuch 6 < 0,001 |
| 8 | Niere + Pyrogen 0,002 γ im Serum inkubiert | 26 | 6,55 ± 0,12 | p gegenüber Versuch 7 < 0,01 |

Besprechung der Ergebnisse. Mehrere Forscher befassten sich mit der Frage, ob der Temperaturanstieg nach bakteriellen Pyrogenen primär auf einer Verminderung der Wärmeabgabe oder auf einer Stoffwechselsteigerung beruht⁵. Die schon von anderen Autoren beschriebene⁶, hyperglykämisierende Wirkung der Pyrogene sowie die Senkung des Milchsäurespiegels sind statistisch signifikant und weisen auf eine Aktivierung des Stoffwechsels hin. Es ist dabei an die Arbeit von HAMRICK *et al.*⁷ zu erinnern, in welcher über eine Beschleunigung des Stoffwechsels im Splanchnicusgebiet berichtet wird.

Unsere in dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen zeigen, dass der Sauerstoffverbrauch der Leber nach Pyrogengaben signifikant vergrößert wird und zwar nicht nur *in vivo*, was unter Umständen ein Sekundäreffekt sein könnte, sondern auch *in vitro*, was mit Sicherheit auf einen primären Angriffspunkt hinweist. Besonders interessant erscheint uns, dass der Sauerstoffmehrverbrauch nur stattfindet, wenn Serum mit Pyrogen inkubiert wurde. Wir vermuten, dass, wie schon andere Forscher annahmen⁸, die Pyrogene an Bluteiweißkörper gebunden werden und damit die eigentlichen, endogenen Pyrogene entstehen. Das Fehlen einer ähnlichen Wirkung auf die Niere oder sogar eine Verminderung der Atmung ist vorläufig schwer zu erklären. Die von uns erzielten Resultate weisen in der Richtung, dass der Stoffwechselsteigerung eine wesentliche und primäre Rolle beim Temperaturanstieg zukommt.

J. VENULET und ANNA DESPERAK

Anstalt für Pharmakologie, Arzneimittelforschungsinstitut, Warschau, den 3. Juni 1957.

Summary

It has been established that pyrogen causes hyperglycemia and diminution of the lactic acid level in the blood. In *in vitro* investigations, oxygen requirements of the liver slices show marked increase. The results are regarded as showing a primary action of the pyrogens on metabolism.

⁵ E. EICHENBERGER, M. SCHMIDHAUSER-KOPP, H. HURNI, M. FRICSSAY und O. WESTPHAL, Schweiz. med. Wschr. 85, 1213 (1955). – R. GRANT und W. J. WHALEN, Amer. J. Physiol. 173, 47 (1955). – H. SIEDEK und H. HÄUSLER, dtsch. med. Wschr. 80, 1128 (1955).

⁶ P. B. BEESON, J. exper. Med. 86, 29 (1947).

⁷ L. W. HAMRICK jr. und J. D. MYERS, J. Lab. clin. Med. 45, 568 (1955).

⁸ R. GRANT und W. J. WHALEN, Amer. J. Physiol. 173, 47 (1955). – V. MENKIN, J. Lab. clin. Med. 46, 423 (1955).

Über die Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Herzglykoside

Aus den Untersuchungen von FLECKENSTEIN *et al.*¹ geht hervor, dass bei Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Zellmembranen unter der Einwirkung von Atmungs-, Glykolyse- und Phosphorylierungsgiften gleichzeitig eine Erschöpfung des Zellvorrates an energiereichem Phosphat (Adenosintriphosphat,

Kreatinphosphat) eintritt. Da die Herzglykoside und deren Aglycone den aktiven Kalium-Natrium-Austausch durch die Erythrozytenmembran blockieren², wurde zur weiteren Klärung ihres Wirkungsmechanismus die Frage geprüft, ob auch diese Hemmung auf eine energetische Insuffizienz der Zelle zurückzuführen ist.

Methoden. Menschliches defibriniertes Frischblut oder «Kälteblut» (nach HARRIS³ 6 Tage bei 4°C aufbewahrt) wurden nach Zusatz von Glucose (500 mg%) und Testsubstanz in gleichem Gesamtvolume aller Ansätze (4,8 ml Blut + 0,2 ml Lösungsmittel) bei 37°C inkubiert. Nach der Inkubation wurde das Blut zentrifugiert und das Serum durch Absaugen entfernt. Nach zweimaligem Waschen mit isotonischer MgCl₂-Lösung wurden die Erythrozyten mit quarzdestilliertem Wasser hämolysiert und der Kalium- und Natriumgehalt des Hämolsats flammenphotometrisch bestimmt. Außerdem wurde für jede Inkubationszeit der Hämatokritwert gemessen. Die Analyse der energiereichen Phosphatverbindungen erfolgte nach dem von FLECKENSTEIN *et al.*⁴ angegebenen Verfahren, wobei die Erythrozyten von 1 ml Blut bei 0°C nach Abzentrifugieren des Serums zweimal mit isotonischer NaCl-Lösung gewaschen und anschliessend 10 min mit 1,5 ml 5%iger Trichloressigsäure extrahiert wurden. Eine weitere Modifikation bestand darin, dass bei der Chromatographie nach dem Trennungsgang im ersten Lösungsmittel das Papier in grösserem Abstand (8 cm) von der Startlinie abgeschnitten wurde. Dadurch konnte die 2,3-Diphosphoglycerinsäure (2,3-DPGS) nach Anwendung des zweiten Lösungsmittels ebenfalls lokalisiert und bestimmt werden.

$$Q = \frac{\text{meq Na/l}}{\text{meq K/l}}$$

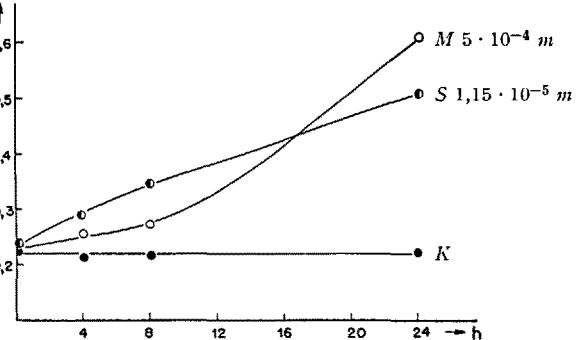


Abb. 1. Hemmung des aktiven Kationentransportes bei Inkubation von Frischblut. Ordinate: Q gibt das Verhältnis Natriumgehalt/Kaliumgehalt der Erythrozyten an, gemessen in Milliäquivalenten pro Liter Zellen. Abszisse: Inkubationszeit in Stunden. K = Kontrollansatz, M = Monojodacetat $5 \cdot 10^{-4} \text{ m}$, S = k -Strophanthosid $1,15 \cdot 10^{-5} \text{ m}$ (10^{-5} g/ml).

Resultate. Bei der Inkubation von Frischblut (Abb. 1) bleibt der normale Elektrolytgehalt der Erythrozyten während 24 h unverändert erhalten. Durch aktiven Transport wird also dauernd Natrium nach aussen und Kalium nach innen befördert. Bei Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Monojodessigsäure (MJE) oder k -Strophanthosid überwiegen die «passiven» Ionenverschiebungen entsprechend dem Konzentrations-

¹ A. FLECKENSTEIN, *Der Kalium-Natrium-Austausch* (Springer-Verlag, Berlin 1955). – E. GERLACH, Arch. exp. Path. Pharmakol. 228, 128 (1956). – A. FLECKENSTEIN, E. GERLACH und J. JANKE, Schweiz. med. Wschr. 86, 1041 (1956).

² H.-J. SCHATZMANN, Helv. physiol. Acta 11, 346 (1953).

³ J. E. HARRIS, J. biol. Chem. 141, 579 (1941).

⁴ A. FLECKENSTEIN, *Der Kalium-Natrium-Austausch* (Springer-Verlag, Berlin 1955). – E. GERLACH, A. FLECKENSTEIN und K. J. FREUND, Pflügers Arch. ges. Physiol. 263, 682 (1957).