

ab. Die Größe der Abgabe scheint sowohl von der Größe der Membranoberfläche, als auch von den chemisch-physikalischen Eigenschaften, die sich durch die Methode der Herstellung ergeben, von Bedeutung zu sein.

Literatur

1. Blomfield, J., McPherson, J., George, C. R. P.: Active uptake of copper and zinc during haemodialysis. Brit. med. J. 1969 II, 141.
2. Maher, J. F., Freeman, R. B., Schmitt, G., Schreiner, G. E.: Adherence of metals to cellophane membranes and removal by whole blood. A mechanism of solute transport during hemodialysis. Trans. Amer. Soc. artif. intern. Org. 11, 104 (1965).
3. Mansouri, K., Halsted, J. A., Gombos, E. A.: Zinc, copper, magnesium and calcium in dialyzed and nondialyzed uremic patients. Arch. intern. Med. 125, 88 (1970).
4. Meltzer, T. H., Gutfreund, K., Kulshrestha, V. K., Stake, A. M.: Optimized cellulose membranes for artificial kidney dialysis applications. Trans. Amer. artif. intern. Org. 14, 12 (1968).

Dr. J. Zazgornik
Dr. R. Kotzaurek, Oberarzt
Dr. P. Schmidt
I. Medizinische Universitätsklinik
Lazarettgasse 14
A-1090 Wien (Österreich)

Plasmalipide nach 12—24monatiger oraler Gabe von Ovulationshemmern*

H. LEHNERT, J. SCHNEIDER, W.-D. GASSEL, P. ZÖFEL**,
R. KARSZANIA, J. G. MEYER-BERTENRATH
und H. KAFFARNIK

Medizinische Poliklinik der Universität Marburg
(Kommiss. Direktor: Prof. Dr. D. Voß)

Universitäts-Frauenklinik Frankfurt a. M. (Direktoren: Prof.
Dr. H. Schmidt-Matthiesen, Prof. Dr. D. Taubert)
Zentrallabor des Stadt-Krankenhauses Hanau
(Chefarzt: Priv.-Doz. Dr. Dr. J. G. Meyer-Bertenrath)

Eingegangen am 14. August 1970

Plasma Lipid Levels After 12 to 24 Months Oral Administration of Contraceptives.

Summary. 41 healthy women aged 18 to 31 years were treated with different contraceptive agents for 12 to 24 months. Triglyceride, phospholipid, total and free cholesterol, and free fatty acid levels were determined in the plasma of these subjects. The women were divided into three groups: Group I received a drug at low doses of gestagen and estrogen. In group II several drugs with changing doses of estrogen were combined. Women who received different drugs with low and high dosage of gestagen and estrogen are found in group III. The results of all these three groups were pooled and in addition, findings observed in women who received a sequential preparation with high estrogen dose have also been included. — A number of non-treated women served as controls. No significant changes were observed in triglyceride, free cholesterol and free fatty acid levels. Especially in group I, triglyceride levels showed a tendency to decrease. In all groups the phospholipids were either significantly increased or showed a tendency to increase. Total cholesterol tended to increase in the pooled totals. No significant differences were found between groups I—III. The different types of contraceptives will have to be further examined in detail with respect to their varying amounts of gestagen and estrogen.

Zusammenfassung. Im Plasma von 41 gesunden Frauen im Alter von 18—31 Jahren untersuchten wir nach einer 12 bis 24monatigen oralen Behandlung mit verschiedenen Ovulationshemmern die Triglyceride, die Phosphatide, das gesamte und das freie Cholesterin sowie die freien Fettsäuren. Entspre-

* Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Graul zum 50. Geburtstag.

** Zentrale Rechenanlage der Universität Marburg.

chend der unterschiedlichen Zusammensetzung der Kontraceptiva wurden drei Gruppen gebildet: Gruppe I erhielt ein Präparat mit niedrigem Gestagen- und niedrigem Oestrogenanteil; Gruppe II Präparate mit wechselnden Oestrogenanteilen; Gruppe III Präparate mit niedrigen Gestagen- und niedrigen Oestrogenanteilen im Wechsel mit anderen Ovulationshemmern. Zusätzlich bildeten wir aus den drei Gruppen ein Gesamtkollektiv, in das auch ein 2-Phasenpräparat mit überwiegender Oestrogenwirkung aufgenommen wurde. Als Vergleich diente ein ovulationshemmerfreies Normalkollektiv. Die Triglyceride, das freie Cholesterin und die freien Fettsäuren zeigten keine signifikanten Änderungen. Die Triglyceride (besonders in der Gruppe I) weisen eine Tendenz zur Erniedrigung auf. Die Phosphatide waren in allen Gruppen entweder signifikant erhöht oder zeigten eine Tendenz zur Erhöhung. Für das Gesamtcholesterin konnte eine Erhöhungstendenz im Gesamtkollektiv nachgewiesen werden. Beim Vergleich der Gruppen I—III untereinander ließen sich statistisch keine Unterschiede sichern. Die Befunde lassen es notwendig erscheinen, die einzelnen Gruppen von Ovulationshemmern noch detaillierter und getrennt zu untersuchen.

In einer früheren Arbeit berichteten wir über die Ergebnisse, die wir bei vorher nicht kontrazeptiv behandelten Frauen nach 6monatiger Gabe von oralen Ovulationshemmern gewinnen konnten [17]. Im folgenden möchten wir unsere Befunde nach 12—24monatiger Dauerbehandlung mit verschiedenen Ovulationshemmern mitteilen.

Untersuchte Personen und Methodik

Wir untersuchten 41 Frauen im Alter von 18—31 Jahren, bei denen weder ein Leberschaden noch ein manifester Diabetes mellitus oder eine stärkergradige Hyperlipidämie vorlag. Am Tag der Untersuchung standen die Versuchspersonen 12—24 Monate unter Ovulationshemmern. In der Mitte des Cyclus wurde den 12—14 Std nüchternen Probanden Blut durch Venenpunktion entnommen, heparinisiert, zentrifugiert und das Plasma bis zur Aufarbeitung sofort tiefgekühlt gelagert. Die Blutentnahme erfolgte nach einer 30minütigen Ruheperiode.

Als Vergleichskollektiv zogen wir die Werte von 19 gleichaltrigen, stoffwechselgesunden Frauen, die keine Kontraceptiva einnahmen, heran. Das Blut wurde ebenfalls nach 30 min Ruhe entnommen und in gleicher Weise aufgearbeitet.

Wir bestimmten die Triglyceride, die Phosphatide, das gesamte und freie Cholesterin sowie die freien Fettsäuren.

Bestimmungen von:

Triglyceride und Phosphatide: Extraktion wie in [12] angegeben.

Triglyceride nach [14].

Phosphatide: Veraschung nach [1].

Bestimmung des Lipidphosphors wie bei [3] beschrieben und Multiplikation der erhaltenen Werte mit 25 [26].

Gesamtcholesterin nach [22], modifiziert wie in [20].

Freies Cholesterin nach [22], modifiziert wie in [16].

Freie Fettsäuren: Leicht modifiziert [9] nach [11].

Statistik

Mann-Whitney-Test [18]. Ist $\alpha \leq 5$, dann liegt beim Vergleich von 2 unabhängigen Stichproben Signifikanz vor.

Präparate

Die Versuchspersonen benutzten folgende Präparate:

Gruppe I. Eugynon® (0,5 mg Norgestrel = di-13-Äthyl-17 α -Äthinyl-17 β -hydroxy-4-gonen-3-on und 0,05 mg Äthinyl-oestradiol.)

Gruppe II. Aconcen® (3 mg Chlormadinonacetat = 6-Chlor-6-dehydro-17 α -acetoxypogestron und 0,1 mg Mestranol = 17 α -Äthinyl-oestradiol-3-methyläther),

Lyndiol® (2,5 mg Lynestrenol = 17 α -Äthinyl- δ -4-Oestren-17 β -ol und 0,075 mg Mestranol) und

Noracyclin® (5 mg Äthinyl-oestrenol = 19-Nor-17 α -pregn-4-en-20-in-17-ol und 0,15 mg Mestranol).

Die genannten Präparate wurden teils allein, teils im Wechsel eingenommen.

Gruppe III. Eugynon® im Wechsel mit Aconcen®, Anovlar® (4 mg Norethisteronacetat = 17 α -Äthinyl-19-nor-Testosteron und 0,05 mg Mestranol), und Ovulen® (1 mg

Ethynodioldiacetat = 17 α -Äthinyl-4-oestren-3 β , 17 β -diol-diacetat und 0,1 mg Mestranol).

Beim Gesamtkollektiv wurden noch zusätzlich Frauen, die das 2-Phasenpräparat Estirona® (2 mg Chlormadinonacetat und 0,08 mg Mestranol) teils allein, teils im Wechsel mit Aconcen®, Anovlar®, Eugynon® eingenommen hatten, berücksichtigt.

Ergebnisse

Die Ergebnisse haben wir in einer Übersicht (Tabelle) zusammengestellt.

Tabelle. Mittelwerte der Plasmalipidfraktionen bei den einzelnen mit Ovulationshemmern behandelten Versuchsgruppen und dem Normalkollektiv. Das Signifikanzniveau bezieht sich auf die ovulationshemmerfreie Vergleichsgruppe (Normalkollektiv)

PL	NK (n=19)	GKO (n=41)	I (n=12)	II (n=10)	III (n=14)
TG	161 \pm 27	150 \pm 36	145 \pm 46	158 \pm 32	148 \pm 38
α		15,3	9,2	90,2	27,4
Phos.	190 \pm 33	224 \pm 45	214 \pm 47	217 \pm 49	221 \pm 39
α		0,6	7,4	9,0	4,7
Ges. Chol.	182 \pm 37	201 \pm 35	194 \pm 38	190 \pm 36	203 \pm 34
α		6,4	40,6	58,8	10,1
F. Chol.	61 \pm 16	58 \pm 14	53 \pm 15	55 \pm 10	60 \pm 12
α		34,8	13,9	24,8	61,0
FFS	264 \pm 117	260 \pm 84	245 \pm 52	290 \pm 95	269 \pm 100
α		41,3	59,1	39,2	44,7

Dimension: mg/100 ml, FFS mval/l.

PL	= Plasmalipide
NK	= Normalkollektiv
GKO	= Gesamtkollektiv Ovulationshemmer: Gruppe I—III, Estirona® allein und im Wechsel mit Aconcen®, Anovlar®, Eugynon®.
I	= Gruppe I Ovulationshemmer: Eugynon®
II	= Gruppe II Ovulationshemmer: Aconcen®, Lyncyclin®, Noracyclin®.
III	= Gruppe III Ovulationshemmer: Eugynon® im Wechsel mit Aconcen®, Anovlar®, Ovulen®.
TG	= Triglyceride
Phos.	= Phosphatide
Ges. Chol.	= Gesamtcholesterin
F. Chol.	= Freies Cholesterin
FFS	= Freie Fettsäuren
α	= Signifikanzniveau

Die Triglyceride zeigen keine signifikanten Änderungen, im Gesamtkollektiv und in der Gruppe I erkennt man im Vergleich zum Normalkollektiv eher eine Tendenz zu niedrigeren Werten. Die Phosphatide sind im Gesamtkollektiv ($\alpha=0,6$) und in der Gruppe III ($\alpha=4,7$) signifikant erhöht, Gruppe I ($\alpha=7,4$) und Gruppe II ($\alpha=9,0$) zeigen mindestens eine Tendenz zur Erhöhung.

Das Gesamtcholesterin steigt zwar in allen Gruppen mäßig an. Dieser Befund läßt sich jedoch statistisch nicht sichern. Eine statistische Tendenz zur Vermehrung findet sich beim Gesamtkollektiv ($\alpha=6,4$) und in der Gruppe III ($\alpha=10,1$). Für das freie Cholesterin und die freien Fettsäuren ergeben sich keine signifikanten Änderungen.

Beim Vergleich der Gruppen I—III untereinander liegen die Werte zwischen 22 und 80. Da somit keine signifikanten Unterschiede nachzuweisen sind, wurden diese Zahlen nicht in die Tabelle aufgenommen.

Diskussion

Über das Verhalten der Plasmalipide unter oraler Antikonzeption liegen immer noch widersprüchliche Meinungen vor. Während mehrere Autoren Vermehrungen der Triglyceride, der Phosphatide, des Cholesterins, der Lipoproteine niedriger Dichte oder der freien Fettsäuren mitteilten [2, 6, 7, 13, 23—25], berichteten andere von einem fehlenden Anstieg [5, 19]. Zum Teil konnte erst 2 Jahre nach Beginn der Behandlung mit Ovulationshemmern eine Cholesterinvermehrung festgestellt werden [13]. Beschrieben wurden auch durch Kontrazeptiva induzierte Lipidanstiege bei Hyperlipidämien [21,

27]. Während Dalderup und Doornbos ein unterschiedliches Verhalten des Cholesterins fanden [8], zeigte sich bei uns ein differierendes Verhalten der Einzelwerte bei den Triglyceriden, den freien Fettsäuren, den Phosphatiden und dem Gesamtcholesterin [17]. Bottermann et al. [4] stellten ein differierendes Verhalten der freien Fettsäuren nach der Gabe von Glucose fest. Eine Signifikanz war nicht zu eruieren.

Keine eindeutigen Änderungen fanden wir nach einer 12 bis 24monatigen Behandlung bei den Triglyceriden, dem freien Cholesterin und den freien Fettsäuren. Die unter Ovulationshemmern gegenüber der Vergleichsgruppe sogar leicht verminderten Triglyceridwerte lassen sich statistisch nicht eindeutig sichern.

Eine signifikante Vermehrung ergibt sich im Gesamtkollektiv für die Phosphatide. Als Tendenz läßt sich dies auch in den Gruppen I, II und III verfolgen. Gleiche Befunde zeigten sich bereits bei Frauen, die vor und 6 Monate nach Beginn der kontrazeptiven Behandlung untersucht wurden [17]. Da die Phosphatide häufig ein dem Cholesterin paralleles Verhalten zeigen, wundert es nicht, daß auch das Gesamtcholesterin im Gesamtkollektiv eine Tendenz zur Vermehrung erkennen läßt. Eine statistisch eindeutige Sicherung gelingt jedoch nicht.

In der Gruppe I haben wir einen Ovulationshemmer mit einem niedrigen Gestagen- und einem niedrigen Oestrogenanteil erfaßt. Diesem wurden (Gruppe II) Präparate mit wechselnden Oestrogenanteilen gegenübergestellt. Die Gruppe III umfaßt Versuchspersonen, die im Wechsel Präparate der Gruppe I und II eingenommen hatten. Im Gesamtkollektiv wurde zusätzlich ein 2-Phasenpräparat aufgenommen, das eine überwiegende Oestrogenwirkung zeigt [10].

Die drei Gruppen lassen im Vergleich untereinander keine sicheren Unterschiede erkennen.

Techn. Assistenz: Frau U. Otte, Herr H. A. Jakob.

Literatur

- Allen, R. J. L.: The estimation of phosphorus. *Biochem. J.* **34**, 858 (1940).
- Aurell, M., Cramer, K., Rybo, G.: Serum lipids and lipoproteins during long-term administration of an oral contraceptive. *Lancet* **1966 I**, 291.
- Barlett, G. R.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. biol. Chem.* **234**, 466 (1959).
- Bottermann, P., Dieterle, P., Hochheuser, W., Horn, K., Kopetz, K., Schleypp, K., Schwarz, K., Scriba, P. C.: Zur Frage der endokrinen Nebenwirkungen von Ovulationshemmern. *Münch. med. Wschr.* **109**, 685 (1967).
- Brody, S., Högdahl, A. M., Nilsson, L., Svanborg, A., Vikrot, O.: The effect of some ovulation inhibitors on the lipid metabolism. *Acta med. scand.* **179**, 501 (1966).
- Kerstell, J., Nilsson, L., Svanborg, A.: The effects of some ovulation inhibitors on the different plasma lipid fractions. *Acta med. scand.* **183**, 1 (1968).
- Burger, H., Florian, H. J., Holzmann, G.: Über die Beeinflussung der Serumlipide gesunder Frauen durch Ovulationshemmer. *Z. Geburtsh. Gynäk.* **170**, 1 (1969).
- Dalderup, L. M., Doornbos, R.: Oral contraceptives and serum cholesterol. *Lancet* **1968 I**, 755.
- Dieterle, P., Wulfert-Heldprich, C., Henner, J., Schwarz, K.: Erfahrungen mit einer kolorimetrischen Methode zur Bestimmung der nicht veresterten Fettsäuren im Serum. *Z. klin. Chem.* **6**, 153 (1968).
- Döring, K. G.: Differenzierter Einsatz von Ovulationshemmern. *Dtsch. Ärztl. Z.* **67**, 1360 (1970).
- Duncombe, W. G.: The colorimetric microdetermination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. chim. Acta* **9**, 122 (1964).
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, D. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
- Gershberg, H., Hulse, M., Javier, Z.: Hypertriglyceridemia during treatment with estrogen and oral contraceptives. *Obstet. and Gynec.* **31**, 186 (1968).
- Handel, E. van, Zilvermit, D. B.: Micromethod for the direct determination of serum glycerides. *J. Lab. clin. Med.* **50**, 152 (1957).
- Hazzard, W. R., Spiger, M. J., Bagdade, J. D., Bierman, E. L.: Studies of the mechanism of increased plasma triglyceride levels induced by oral contraceptives. *New Engl. J. Med.* **280**, 471 (1969).

16. Hoeflmar, J., Fried, R.: Eine rasch durchführbare Methode zur Bestimmung des freien Cholesterins. *Med. Welt* **1964**, 2015.
17. Kaffarnik, H., Lehnert, H., Meyer-Bertenrath, J. G., Zöfel, P., Karsznia, R.: Untersuchungen der Plasmalipide vor und nach 6monatiger oraler Behandlung mit Ovulationshemmern. *Klin. Wschr.* **48**, 439 (1970).
18. Kreyszig, E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 1965.
19. Pincus, G.: In: The control of fertility. New York and London 1965. Zit. nach 24.
20. Richterich, R., Lauber, K.: Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum. VIII. Mitt. über Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium. *Klin. Wschr.* **40**, 1252 (1961).
21. Smith, R. B. W., Prior, I. A.: Oral-contraceptive opposition to hypocholesterolemic action of clofibrate. *Lancet* **1968 I**, 750.
22. Watson, D.: A simple method for the determination of serum cholesterol. *Clin. chim. Acta* **5**, 637 (1960).
23. Wynn, V., Doar, J. W. H.: Some effects of contraceptives on carbohydrate metabolism. *Lancet* **1966 I**, 715.
24. — — Mills, G. L.: Some effects of oral contraceptives on serum lipid and lipoprotein levels. *Lancet* **1966 II**, 720.
25. — — — Stokes, T.: Fasting serum triglyceride, cholesterol, and lipoprotein levels during oral-contraceptive therapy. *Lancet* **1969 II**, 756.
26. Zöllner, N., Kirsch, K.: Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipoproteide. I. Mitteilung: Methodik und Identifizierung der Fraktion. *Z. ges. exp. Med.* **134**, 1028 (1960).
27. Zorrilla, E., Hulse, M., Hernandez, A., Gershberg, H.: Severe endogenous hypertriglyceridemia during treatment with estrogen and oral contraceptives. *J. clin. Endocr.* **28**, 1793 (1968).

Priv.-Doz. Dr. H. Kaffarnik
Dr. H. Lehnert
Dr. J. Schneider
Dr. W.-D. Gassel
Medizinische Univ.-Poliklinik
BRD-3550 Marburg
Robert Koch-Str. 7a
Deutschland

Dr. R. Karsznia
Univ.-Frauenklinik
BRD-6000 Frankfurt a. M.
Ludwig Rehn-Str.
Deutschland

Priv.-Doz. Dr. Dr. J. Meyer-Bertenrath
Stadtkrankenhaus, Zentral-labor
BRD-6450 Hanau
Leimenstr.
Deutschland

Kombinierte autoradiographisch-enzymhistochemische Untersuchungen an Blutzellen

Beschreibung einer Methode

M. OEHMICHEN

Institut für Hirnforschung der Universität Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. med. J. Peiffer)

Eingegangen am 28. September 1970

Combined autoradiographic Enzyme-Histochemical Studies on Blood Cell Types: Description of a Method.

Summary. A histological method is described allowing to demonstrate enzymes (naphthol-AS-D-chloracetate-esterase, α -naphthyl-acetate-esterase, naphthol-AS-acetate-esterase), and ^3H -thymidine activity in the same cell types of blood smears and bone marrow crush preparations. The smears were obtained from tritiated thymidine-treated rabbits. Autoradiographic processing followed after the demonstration of enzymes with methods applied in clinical hematology. Enzyme activity and reduced silver bromide were found in the same cell types. No spontaneous reduction of silver bromide by staining agents and no loss of coloring intensity were noted nor was there any remarkable loss of activity of the isotopes in the slides. These facts show the suitability of this method in basic hematological research.

Zusammenfassung. Es wird eine histologische Methode beschrieben, die im Rahmen hämatologischer experimenteller Untersuchungen ermöglicht, an gleichen Blutzellen in Ausstrich- und Knochenmarksquetschpräparaten sowohl die Aktivität von Enzymen (Naphthol-AS-D-Chloracetat-Esterase, α -Naphthyl-Acetate-Esterase, Naphthol-AS-Acetate-Esterase) als auch die Aktivität von tritiummarkiertem Thymidin nachzuweisen. Dazu wurden zunächst die Enzyme in Ausstrich- und Quetschpräparaten von mit ^3H -Thymidin behandelten Kaninchen mit Methoden dargestellt, wie sie in der klinischen Hämatologie üblich sind. Nach dieser Vorfärbung erfolgte die autoradiographische Bearbeitung der gleichen Präparate. Dabei konnte eine spontane Reduktion von Silberkörnern durch die angewendeten Farbstoffe ebensowenig wie ein wesentlicher Farbverlust oder ein wesentlicher Verlust an Isotopenaktivität nachgewiesen werden. Es wird auf neue methodische Möglichkeiten im Rahmen der hämatologischen Grundlagenforschung hingewiesen.

Tritiummarkiertes Thymidin hat sich bei der Beobachtung der Zellkinetik, besonders in schnell proliferierenden Geweben, bewährt [3, 4, 6, 14], da es ausschließlich in DNS eingebaut wird [12]. So ist es naheliegend, die Kinetik besonders der relativ schnell proliferierenden Blutzellen mit ^3H -Thymidin zu verfolgen. Es konnte das „turn over“ der Zellrasen des Blutes bestimmt werden [8—10, 17]. Dabei wandte sich in der letzten Zeit das Interesse besonders den Blutmonocyten zu [3, 11, 31, 32], da deren Genese angesichts der bestehenden Hypothesen Naeglis (myeloische Herkunft) und Schillings (reticuloendotheliale Herkunft) immer noch als zweifelhaft angesehen wird [5, 13, 20, 21, 24].

Andererseits werden zunehmend histochemische Methoden zur Klärung der Genese von Blutzellen herangezogen. Diese Darstellungsweise ist inzwischen im Rahmen der hämatologischen Diagnostik von Leukämien zur Routine geworden [22, 27, 29]. Dabei beruht die Histochemie in der Hämatologie im wesentlichen auf der Erkenntnis, daß sich verschiedene Zellrasen weitgehend elektiv darstellen lassen, so z.B. myeloische Zellen mit Naphthol-AS-DCl-Acetate (=N-AS-DCl-A [19, 23] und Monocyten mit α -Naphthyl-Acetate (= α -N-A) bzw. mit Naphthol-AS-Acetate (=N-AS-A) [22].

In der hämatologischen Grundlagenforschung wird mit gleichen Methoden versucht, zur Genese von Blutzellen Stellung zu nehmen [20, 21, 24]. Auch hier gilt das Interesse vorwiegend den Monocyten (Lit. s. [20, 24]).

Im bisher vorliegenden autoradiographischen Schrifttum zu diesen und ähnlichen Fragen werden parallel laufende fermentcytochemische Darstellungen nicht beschrieben. Bisher wurden die Blutaussstriche und Knochenmarksquetschpräparate nahezu ausschließlich nach Fixierung mit Methanol [3] bzw. 95%igem Alkohol [16] mit Emulsion nach der Stripping-Film-Technik [16] oder nach der Dipping-Methode [8] überzogen, exponiert, entwickelt, fixiert und nach Lufttrocknung mit Leishman-Giemsa [3, 16], nach May-Grünwald [2, 3], nach Pappenheim (eigene Erfahrungen) oder mit Hämatoxylin-Eosin [1] gefärbt. Spezielle, in der Hämatologie gebräuchliche Färbungen werden ausschließlich von Popp et al. ([26] s. a. [32]) — Peroxidase-Darstellung — und von Klein et al. [15] — PAS-Reaktion — beschrieben.

Im Rahmen einer experimentellen autoradiographischen Untersuchung an Kaninchen waren wir darauf angewiesen, eine weitgehend elektive Färbung der Monocyten und Granulocyten zu erreichen. Zur Darstellung der Monocyten verwendeten wir α -N-A [25] und N-AS-A [22] und zur Darstellung der Granulocyten N-AS-DCl-A [19]. Es erwies sich als beste Technik für eine gleichzeitige autoradiographisch-enzymhistochemische Darstellung der genannten Blutzellen die folgende Behandlung.

Methode

Blutaussstriche und Knochenmarksquetschpräparate von Kaninchen, denen 1—3 $\mu\text{Ci/g KG}$ ^3H -Thymidin (spezifische Aktivität 5,0 Ci/mM) intravenös appliziert worden war, werden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion mit vorher entfetteten Objektträgern hergestellt. Noch im feuchten Zustand werden die Präparate in einer Tiefkühltruhe bei -70°C gelagert. Die zur Darstellung der α -N-A-Esterase und der N-AS-A-Esterase vorgesehenen Objektträger werden 1 bis 2 Std luftgetrocknet und dann inkubiert. Die zur Behandlung mit N-AS-DCl-A vorgesehenen Präparate werden zunächst 15 min in gepuffertem 4%igem Formalin fixiert, da dadurch