

(*Cyprinus*) und Amphibien (*Rana nigromaculata*) nachgewiesen worden ist¹.

M. VISCONTINI², H. SCHMID³ und
E. HADORN³.

Chemisches Institut der Universität und Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich,
den 11. Juli 1955.

Summary

We succeeded in isolating three fluorescent substances from *Astacus fluviatilis* (crayfish) which were recently found also in *Drosophila melanogaster*. These compounds are Isoxanthopterin (2-amino-6,9-dioxypterin), 2-amino-6-oxypyterin and HB₂.

¹ S. NAWA, M. GOTO, S. MATSUURA, H. KAKIZAWA und Y. HIRATA, J. Biochem. (Japan) 41, 657 (1954). – T. HAMA, Exper. 9, 299 (1953).

² Chemisches Institut der Universität.

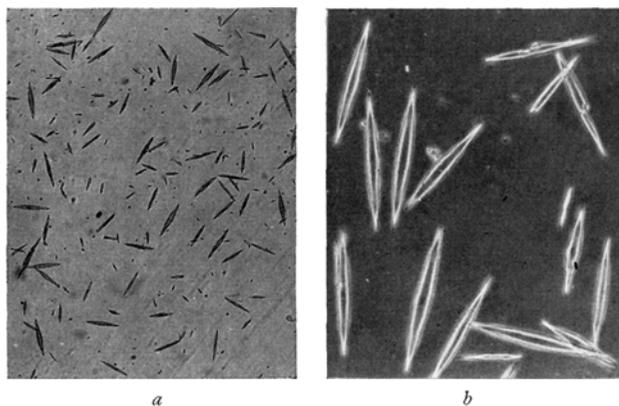
³ Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich.

Isolierung von Charcot-Leydenschen Kristallen¹

Die 1853 von CHARCOT und ROBIN² im Blut und 1872 von v. LEYDEN³ im Sputum erstmals beobachteten Kristalle sind schon lange als Produkt eosinophiler Granulozyten bekannt. Ihre Genese und pathogenetische Bedeutung stand aber bis in jüngste Zeit immer noch zur Diskussion. Durch AYRES⁴ konnte erstmals mit Sicherheit nachgewiesen werden, dass ihre Entstehung an die Zytolyse eosinophiler Leukozyten gebunden ist. ESSELLIER, MARTI und MORANDI⁵ haben gezeigt, dass es sich um ein unbeständiges Zwischenprodukt beim Zerfall einer sehr labilen Substanz aus Zellkern oder Zytoplasma der Eosinophilen handelt. Die chemische Natur der Kristalle ist bis heute nicht eindeutig abgeklärt. Auf Grund histochemischer Untersuchungsmethoden wird schon seit langem angenommen, dass die Kristalle aus Eiweiss oder einem eiweissartigen Stoff bestehen müssen (NEUMANN⁶). Voraussetzung für weitere Untersuchungen ist aber eine Isolierung der Kristalle, die bis heute nicht möglich war. AYRES⁴ und uns⁵ ist es mit verschiedenen Methoden gelungen, Charcot-Leydensche Kristalle auf dem Objektträger aus Eosinophilen zu erzeugen. Die derart erhaltenen Mengen sind aber sehr klein, und eine Abtrennung der Kristalle war bisher unmöglich, da Kristalle und Zellen in bezug auf Grösse und spezifisches Gewicht allzu geringe Unterschiede aufweisen.

Wir haben deshalb einen anderen Weg beschritten, indem wir die Zellen und Zelltrümmer durch Fermente und oberflächenaktive Stoffe auflösen, wobei die Kristalle selbst nicht verändert werden. Wir benutzen hierzu folgende Arbeitsmethode: Ein an Eosinophilen reiches Ausgangsmaterial (Plasma, Pleuraexsudat, Ascites

menschlicher Herkunft) wird zur Verhinderung der Gerinnung im Verhältnis 1:5 mit 3,5%iger Na-Citrat-Lösung gemischt und bei +4°C so lange aufbewahrt, bis sich reichlich Kristalle gebildet haben. In der Regel sind dazu mehrere Wochen bis Monate erforderlich, während welcher Zeit das Material regelmässig kontrolliert werden muss. Aus dem zellreichen Sediment entsteht im Verlauf der Autolyse eine gallertige Masse, welche die Kristalle in sich schliesst. Sobald sich massenhaft und vor allem grosse Kristalle gebildet haben, deren Grösse ein Vielfaches der Zellgrösse der Eosinophilen betragen soll, wird die Masse mit einem Streptokinase- und Streptodornase-Präparat (etwa 0,1 mg Varidase [Lederle]/2 cm³) versetzt und 12 h bei +37°C inkubiert. Während dieser Zeit verflüssigt sich das Material, ohne dass die Kristalle zerstört werden.



Isolierte Charcot-Leydensche Kristalle in Aqua dest. a) Vergr. 1:63; b) mit Phasenkontrastoptik, Vergr. 1:250.

Dann wird durch wenig Watte filtriert, um allfällige grössere, nicht aufgelöste Bestandteile zu entfernen. Kristalle und Zellreste werden zunächst 4mal mit Tyrode III gewaschen (4 min bei 2000 U./min zentrifugiert; Zentrifuge Christ UJ2). Schliesslich werden die noch verbleibenden Zellen und Zelltrümmer durch einen oberflächenaktiven Stoff vollständig lysiert (Zusatz eines linsengrossen Stückes Aerosol MA = Dihexyl-Na-sulfosuccinat (American Cyanamid Co.) je 5 cm³). Die Kristalle lassen sich daraufhin durch mehrmaliges Waschen und Zentrifugieren (4 min bei 2000 U./min) bis 90–95% anreichern (vgl. Abb.). Die Kristallsuspensionen sind unbeständig, da die Kristalle fermentativ weiter abgebaut werden (ESSELLIER, MARTI und MORANDI¹). Alle Untersuchungen der Kristalle müssen deshalb unmittelbar nach deren Anreicherung vorgenommen werden.

A. F. ESSELLIER, R. L. JEANNERET
und H. R. MARTI

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 12. Juni
1955.

Summary

A method is described for isolation of Charcot-Leyden crystals from high eosinophil-count blood specimens or from eosinophil rich exudates. Once the crystals have been formed, isolation is accomplished by lysing the blood cells with an enzyme and a wetting agent.

¹ A. F. ESSELLIER, H. R. MARTI und L. MORANDI, Klin. Wschr. (im Druck).

¹ Die vorliegenden Untersuchungen wurden durch ein Stipendium des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht.

² J. M. CHARCOT und C. ROBIN, C. r. Soc. Biol. 5, 44 (1853).

³ E. v. LEYDEN, Virchows Arch. path. Anat. 54, 324 (1872).

⁴ W. W. AYRES, Blood 4, 595 (1949).

⁵ A. F. ESSELLIER, H. R. MARTI und L. MORANDI, Klin. Wschr. (im Druck).

⁶ A. NEUMANN, Hdb. allg. Haematol. 1, 354 (Urban & Schwarzenberg, Berlin 1932).