

Streuung in der mit Desoxycorticosteronacetat behandelten Gruppe etwas grösser ist (Abb. 1).

Wesentliche Unterschiede ergeben sich zwischen den beiden Versuchsgruppen bei Bestimmung der täglichen Flüssigkeitsaufnahme (Abb. 2). Innerhalb von 5 Tagen nach der Operation verdoppelt sich zunächst bei allen Tieren die tägliche Trinkmenge. Während jedoch bei den mit Aldosteron behandelten Tieren dieser Wert bis zum Versuchsende annähernd konstant bleibt, nimmt die täglich aufgenommene Flüssigkeit unter Desoxycorticosteronacetat kontinuierlich zu und erreicht zu Versuchsende das Vierfache des Anfangswertes. Der gleiche Verlauf der Gewichtskurven in beiden Gruppen spricht jedoch dagegen, dass die gesteigerte Flüssigkeitsaufnahme mit vermehrter Wasserretention einhergeht. In weiteren Untersuchungen wird abzuklären sein, wie sich die Elektrolytkonzentration im Plasma und im Gewebe unter der Einwirkung der beiden Rindenwirkstoffe verhält und welche Auswirkungen die in dieser Hinsicht auftretenden Änderungen haben.

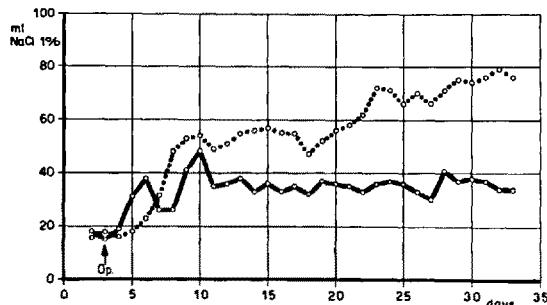


Abb. 2. Durchschnittliche tägliche Trinkmenge der mit Aldosteron (ausgezogene Linie) und der mit Desoxycorticosteronacetat (unterbrochene Linie) behandelten Tiere. – Op.: Zeitpunkt der Operation und Ersatz des Trinkwassers durch 1% Kochsalzlösung.

Bei den mit Desoxycorticosteronacetat behandelten Tieren waren histologisch vereinzelte perivaskuläre Granulombildungen im Myocard und besonders in Niere und Pankreas nachweisbar. Die Nieren weisen ausserdem rundzellige Infiltrate in der mittleren Rindenregion und homogene Zylinder auf. Diese Befunde entsprechen den bei Überdosierung von Desoxycorticosteron beobachteten Veränderungen, zeigten jedoch in ihrer Intensität noch nicht das schwere Bild der Desoxycorticosteron-Kochsalz-Intoxikation, was auf die verhältnismässig kurze Versuchsdauer zurückzuführen sein dürfte. Der Glykogengehalt der Leber war im Vergleich zu unbehandelten Tieren vermindert.

Bei den mit Aldosteron behandelten Tieren liessen sich weder im Myocard noch in der Niere perivaskuläre Granulome oder andere Gefässschädigungen feststellen. Ausser einer geringgradigen Ödembildung im Myokard waren keine pathologischen Veränderungen nachweisbar. Auffallend war das vollständige Fehlen von Glykogen in der Leber.

Obwohl diese bei länger dauernder Anwendung von Aldosteron an der Ratte erhobenen Befunde nur als präliminär anzusehen sind und noch keine endgültigen und verallgemeinernden Schlussfolgerungen über die nach chronischer Überdosierung auftretenden Symptome zulassen, kann doch festgehalten werden, dass Dosen von Aldosteron und Desoxycorticosteronacetat, die im Hinblick auf ihre Natrium-retinierende Wirkung als gleich wirksam anzusehen sind, nicht zu identischen Veränderungen führen. Während Desoxycorticosteronacetat Blutdruckanstieg, Gefäss- und Bindegewebsveränderungen und Nierenschäden hervorruft, bleibt unter

Aldosteron der Blutdruck unverändert und auch histologisch sind keine Schädigungen nachweisbar. In weiteren Versuchen wird abzuklären sein, welche Nebenwirkungen dem Aldosteron bei höherer Dosierung oder bei länger dauernder Anwendung zukommen und welche Beziehungen zu den nach Überdosierung von Desoxycorticosteron auftretenden Veränderungen bestehen.

F. GROSS, P. LOUSTALOT und R. MEIER

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba-Aktiengesellschaft Basel, den 28. Oktober 1954.

Summary

In the adrenalectomized and unilaterally nephrectomized rat an investigation has been carried out on the influence of a four weeks' treatment with aldosterone and desoxycorticosterone-acetate in doses which are equieffective concerning sodium retaining capacity. Desoxycorticosterone-acetate produced hypertension, perivascular granuloma and renal lesions, whereas under the influence of aldosterone the blood pressure remained normal and no histopathological alterations could be found. Towards the end of the experiment the animals treated with desoxycorticosterone-acetate took up twice as much drinking fluid as the animals treated with aldosterone. Although the results obtained so far are only of a preliminary character it is obvious that aldosterone in doses which are equieffective concerning sodium retention does not produce the same side effects as desoxycorticosterone-acetate.

Vergleich der Wirkung des Aldosterons auf das Fremdkörpergranulom der Ratte mit derjenigen von Cortexon, Corticosteron, Cortison und Hydrocortison

Nebennierenrindensterioide besitzen sowohl bei lokaler als auch allgemeiner Applikation eine Wirkung auf die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms¹. Cortison und Hydrocortison haben eine ausgesprochen hemmende Wirkung in den beiden Anwendungsformen, während Corticosteron und Cortexon eine hemmende Wirkung nur bei lokaler Applikation haben.

Nachdem in unseren Laboratorien die Isolierung eines neuen Nebennierensteroids, des Aldosterons², gelungen war, welches, obgleich etwa 25–30mal wirksamer als Cortexon³, in vieler Hinsicht diesem ähnliche Wirkungen besitzt, schien es von besonderem Interesse, die Wirkung dieses Hormons auf die Granulomentwicklung zu untersuchen. Es schien für die Prüfung der zur Verfügung stehenden kleinen Mengen besonders die lokale Anwendung geeignet. Es wurden solche Dosen des Hormons ausgewählt, von denen im Vergleich zur Wirksamkeit von Cortexon, Hydrocortison und Cortison eine Wirkung erwartet werden konnte, falls diese in analoger Weise wie bei den genannten Hormonen vorhanden wäre.

¹ R. MEIER, F. GROSS und P. DESAULLES, Klin. Wschr. 29, 653 (1951). – R. MEIER, F. GROSS, P. DESAULLES und B. SCHÄR, Bull. Schw. Akad. Med. Wiss. 8, 84 (1952).

² S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEIHER, J. V. EUW und T. REICHSTEIN, Exper. 9, 333 (1953).

³ P. DESAULLES, J. TRIPOD und W. SCHULER, Schw. med. Wschr. 83, 1088 (1953). – F. GROSS und H. GYSEL, Acta Endocrinol. 15, 199 (1954).

Substanz	Dosis mg pro Tier lokal	Tierzahl	Körpergewichtszunahme in g in 6 Tagen		Granulomgewebebildung (mg) nach 6 Tagen		
			absolut	Differenz	absolut	S.E.	Differenz
Aldosteron	Kontrolle	18	22	—	387 ± 23,0	—	—
	0,05	6	31	+ 9	431 ± 20,5	+ 44	
	0,10	6	29	+ 7	447 ± 23,6	+ 60	
	0,20	5	34	+ 12	398 ± 17,1	+ 11	
Cortexon (freier Alkohol)	Kontrolle	24	23,5	—	394 ± 19,7	—	—
	0,10	18	20	- 3,5	384 ± 19,0	- 10	
	1,0	18	28	+ 4,5	281 ± 16,8	- 113	
	5,0	8	31	+ 7,5	237 ± 18,9	- 157	
	10,0	8	27	+ 3,5	178 ± 12,1	- 216	
Corticosteron (freier Alkohol) . . .	Kontrolle	12	20	—	395 ± 24,0	—	—
	0,05	6	25	+ 5	406 ± 23,0	+ 6	
	0,10	6	30	+ 10	384 ± 15,3	- 11	
	1,0	6	26	+ 6	244 ± 12,2	- 151	
Cortison (freier Alkohol)	Kontrolle	18	23,6	—	396 ± 15,8	—	—
	0,05	12	22	- 1,4	376 ± 18,8	- 20	
	0,10	12	15	- 8,6	336 ± 23,5	- 60	
	1,0	12	12	- 11,4	241 ± 14,5	- 155	
Hydrocortison (freier Alkohol) . . .	Kontrolle	12	24,5	—	405 ± 24,3	—	—
	0,05	6	24	- 0,5	372 ± 14,9	- 33	
	0,10	6	19	- 5,5	291 ± 17,4	- 114	
	1,0	6	14	- 10,5	224 ± 13,4	- 181	

Methode. Die Versuche wurden an männlichen Ratten durchgeführt. Die Tiere wurden beidseitig 6 Tage vor Versuchsbeginn unter Ätherrausch epinephrektomiert und mit 1 mg/kg subkutan täglich Cortexon acetat (Per-corten Ciba) in Öl und 1 % Salzwasser als Trinkwasser am Leben erhalten. Ihr Gewicht betrug zu Versuchsbeginn 100–110 g. Für jede Versuchsgruppe wurden 6–18 Ratten benutzt. Zu Versuchsbeginn wurden beidseitig subkutan Wattepresslinge unter Ätherrausch implantiert, nach der von uns schon beschriebenen Technik¹.

Bei dieser Versuchsanordnung ist zu berücksichtigen, dass es sich um nebensinnelose Tiere handelt, die mit einer Erhaltungsdosis Cortexon acetat am Leben erhalten wurden. Es ist somit bei der Beurteilung des Wirkungstypus der geprüften Hormone zu beachten, dass diese ihre Wirkung unter diesen Umständen zum Teil als Synergisten bzw. Antagonisten des Cortexon ausüben, wodurch der Wirkungstypus in gewisser Weise bestimmt sein könnte.

Resultate. Die Resultate der Versuche sind in der obigen Tabelle zusammengestellt.

Die angewandten Dosen für die meisten Hormone liegen in einem identischen Dosenbereich; beim Cortexon wurden auch relativ höhere Dosen geprüft. Diese Dosenauswahl beruht für Cortexon auf der lokal geringeren Wirksamkeit der Substanz, für Aldosteron auf der kleinen verfügbaren Substanzmenge. Die Versuche zeigen erneut die bereits früher beschriebene ausgesprochene Granulomhemmung von Cortison und Hydrocortison². Cortison hat bereits bei 100 µg beginnend eine deutlich hemmende Wirkung, Hydrocortison ist noch wirksamer, und schon 100 µg zeigen etwa die gleiche Wirkung wie 1 mg Cortexon. Wie früher be-

schrieben¹, wirkt Cortexon lokal granulomhemmend. Es besitzt in Dosen von 100 µg eine geringe und von 1 mg eine ausgesprochene Granulomhemmung, ist aber weniger wirksam als Cortison und Hydrocortison. Corticosteron zeigt in dieser Versuchsanordnung eine etwas stärkere Wirkung als Cortexon, besonders bei der Dosis von 1 mg.

Im Gegensatz zu allen diesen Hormonen zeigt Aldosteron in den geprüften Dosen eine deutliche Granulomförderung. Verglichen mit Hydrocortison ist in einer Dosis von 100 µg, bei der Hydrocortison stark hemmt, eine deutliche Förderung bei Aldosteron vorhanden. Ähnlich liegt die Wirksamkeitsrelation bei Cortison und Corticosteron. Beim Vergleich mit Cortexon hat man die ca. 25 mal grössere Wirksamkeit des Aldosterons in anderen Testen zu berücksichtigen². Bei einer Dosis von 1 mg bewirkt Cortexon eine ausgesprochene Hemmung der Granulombildung, während Aldosteron bei einer 20fach kleineren Dosis eine Förderung derselben hervorruft, die bei dem Doppelten und Vierfachen dieser Dosis ebenfalls deutlich ist. Es ist nicht vollständig ausgeschlossen, dass Aldosteron bei noch höheren Dosen eine Hemmung des Granulomwachstums hervorrufen könnte.

Es geht aus diesen Befunden hervor, dass Aldosteron in diesem Test sich besonders in qualitativer Weise von anderen untersuchten Nebennierenrindensteroiden unterscheidet. Zur Ergänzung dieser Versuche wurden einzelne Befunde mit allgemeiner Applikation von Aldosteron erhoben, die zeigen, dass Aldosteron bei allgemeiner Applikation in der Dosis bis zu 1 mg/kg keine Wirkung auf das Granulomwachstum besitzt. Die Prüfung höherer Dosen ist beabsichtigt. Es scheint angezeigt, die beobachtete Wirkung des Aldosterons hinsichtlich des

¹ R. MEIER, W. SCHULER und P. DESAULLES, Exper. 6, 469 (1950).

² R. MEIER, F. GROSS, P. DESAULLES und B. SCHÄR, Bull. Schw. Akad. Med. Wiss. 8, 34 (1952). — P. DESAULLES und R. MEIER (im Druck).

¹ R. MEIER, F. GROSS, P. DESAULLES und B. SCHÄR, Bull. Schw. Akad. Med. Wiss. 8, 34 (1952).

² P. DESAULLES, J. TRIPOD und W. SCHULER, Schw. med. Wschr. 83, 1088 (1953). — F. GROSS und H. GYSEL, Acta Endocrinol. 15, 199 (1954).

Bindegewebswachstums bei der Auffindung klinischer Wirkungen zu berücksichtigen.

P. DESAULLES, W. SCHULER
und R. MEIER

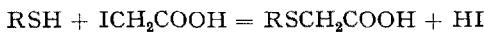
Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba-Aktiengesellschaft Basel, den 30. Oktober 1954.

Summary

Aldosterone applied locally in doses of 50–100 γ enhances slightly the growth of granuloma and in doses of up to 200 γ fails to inhibit such growth. In the doses, then, its action differs from that of hydrocortisone, cortisone, and cortexone.

The Toxic Action of Halogenated Alkylating Substances on Insects. Inhibition of Triosephosphate Dehydrogenase

In a previous paper¹ we have described the insecticidal action by contact of some alkylating substances (chloro-, bromo-, iodoacetic acids and their esters) on insects. With iodoacetic acid, nearly all iodine penetrated by contact into the insect was recovered as inorganic iodide. This seems to indicate a reaction of the following type:



since, as demonstrated by MICHAELIS and SCHUBERT², under physiological conditions, iodoacetic acid reacts with thiol groups, whereas it does not react with amino or hydroxyl groups.

As the toxic action of iodoacetic acid on vertebrates is due to the inhibition of thiol enzymes³, we have studied the effect of iodoacetic acid on the succinic dehydrogenase of insects *in vivo* and *in vitro*. As already published⁴, we found no evident inhibition of succinic dehydrogenase on the muscle tissue of *Periplaneta americana*, neither *in vitro* at a concentration of about 0.007 M, nor *in vivo* at doses highly above lethal.

In the course of recent studies, however, we have observed that triosephosphate dehydrogenase (TPD) is considerably inhibited by halogenated alkylating substances in *P. americana* and *Musca domestica*, *in vitro* as well as *in vivo*. We have developed a colorimetric method for dosage of TPD employing 2,6-dichlorophenolindophenol as hydrogen acceptor. In our *in vitro* experiments, iodoacetic acid at concentrations of 0.0005 M inhibits 80% of TPD.

For the experiments *in vivo* we have employed the following technique. One metathoracic leg has been cut off from females of *P. americana* (groups of 100 individuals each) at the level of the trochantin eliminating the femur and the other distal segments. The same individuals have then been injected with an aqueous solution of sodium iodoacetate, and after 60' the metathoracic leg of the opposite side was cut off in order to evaluate the eventual inhibition of TPD by the injected substance. At doses of 1 mg/g (the LD₅₀ for females *P. americana* being equal to 0.1 mg/g), a complete inhibition of the enzyme was reached.

¹ S. BETTINI and M. BOCCACCI, Riv. Parass. 13, 165 (1952).

² L. Michaelis and M. P. SCHUBERT. J. Biol. Chem. 106, 331 (1934).

³ E. S. GUZMAN BARRON, Advances in Enzymology 11, 201 (1951).

⁴ S. BETTINI and M. BOCCACCI, Rend. Ist. Sup. San. 17, 188 (1954).

TPD has also been determined on *M. domestica* extracts. Groups of 100 females belonging to the following strains have been used: Roman susceptible strain; Sardinian strain resistant to DDT and Chlordane. Both strains were found to be equally susceptible to chloroacetic acid.

The TPD activity of fly extracts of unpoisoned individuals proved to be equal for the two strains. In our toxicity tests, groups of houseflies have been placed in contact with filter paper treated with an olive oil solution of chloroacetic acid at concentrations varying from 0.25 to 6.0 g/sq.m.

The "kill"¹ percentage and the enzyme inhibition percentage have been determined for all groups. It was shown that inhibition and "kill", relative to the chloroacetic acid concentrations, have a parallel trend; the values of inhibition are lower than those of "kill" (Table). This could be explained either by supposing that, under the conditions described, a 100% inhibition is not essential to determine the death of individuals, or by assuming that these substances inhibit selectively the activity of certain vital organs.

Musca domestica ♀♀ (strain resistant to DDT and Chlordane, age 5 days) exposed to different concentrations of chloroacetic acid. "Kill" percentages and TPD inhibition percentages in fly extracts.

Chloroacetic acid g/m ²	"kill" %	TPD inhibition %
0.5	5	0
1.00	25	6
1.50	65	50
2.00	75	65
3.00	90	75

This second hypothesis is supported by our observations on the cardiac activity of *P. americana*. We have noted that the cardiac activity of roaches which have been injected with different doses of sodium iodoacetate ceased at least one hour before the insects showed any blocking of their voluntary muscles' activity. This blocking of the cardiac activity appears to be an irreversible phenomenon and death occurs after a few hours, according to the dose of the injected substance.

In order to determine whether resistance toward the halogenated alkylating substances could be induced in strains of *M. domestica*, groups of houseflies were taken from the two above-mentioned strains and the adults were exposed for 20 generations to chloroacetic acid by contact. Comparing these two selected strains with the original ones, a small increase in the LD₅₀ for chloroacetic acid (about twice), but no increase of TPD in the *in toto* extracts was observed.

Fuller details of this work will be published in the Rendiconti dell'Istituto Superiore di Sanità, Rome.

S. BETTINI and M. BOCCACCI

Departments of Parasitology and Biology, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy, September 18, 1954.

Zusammenfassung

Nachdem die Verfasser auf ihre früheren Aufsätze über die auf Insekten wirkenden alkylisierten halogenierten Stoffe hingewiesen haben, fassen sie die Er-

¹ We have considered "killed" all individuals knocked down, muriund or dead. Since the toxic action is an irreversible one, all knocked down individuals are destined to die.