

Zur Abklärung der Frage der Spezifität der beschriebenen Azetylcholinwirkung haben wir einerseits Cholin, anderseits Atropin untersucht. *Cholin* führt in einer Konzentration von  $5 \cdot 10^{-6}$  m nicht zu einer Wirkungssteigerung von Adrenalin und Noradrenalin, während im gleichen Versuch Azetylcholin schon in 10mal geringeren Konzentrationen die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen deutlich

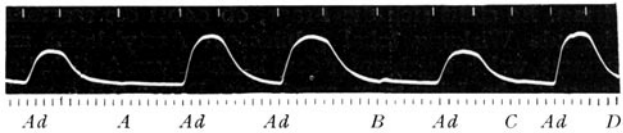


Abb. 2. Kaninchendilatator, chronisch denerviert. Verstärkung der durch Adrenalin hervorgerufenen Kontraktionen unter Azetylcholin. Jedesmal bei Ad: L-Adrenalin  $2,5 \cdot 10^{-8}$  m. Von A-B und von C-D: unter A. Ch.  $5 \cdot 10^{-7}$  m. *t* = Minuten.

verstärkt. In höheren Konzentrationen von  $5 \cdot 10^{-5}$  m hingegen kann auch nach Cholin eine verstärkte Adrenalin- und Noradrenalinwirkung beobachtet werden. Der Cholineffekt ist wie der Azetylcholineffekt leicht auswaschbar und im gleichen Versuch repetierbar. In Gegenwart von *Atropin* ( $10^{-7}$ – $10^{-6}$  m) hat Azetylcholin keine sensibilisierende Wirkung gegenüber Adrenalin und Noradrenalin, während es im gleichen Versuch vor der Zugabe von Atropin die Adrenalin- und Noradrenalin-kontraktionen deutlich verstärkt. Ausserdem haben Adrenalin und Noradrenalin nach Atropinisierung eine schwächere Wirkung als ohne Atropin<sup>1</sup>.

Tabelle I. Verstärkte Adrenalin- und Noradrenalin-kontraktionen unter Azetylcholin (A.Ch.).

Isolierter Kaninchendilatator	Serie	Kontraktionen durch Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Mittelwerte der Spannungszunahmen in mg ohne Nachwaschen von A.Ch.	Verstärkungsfaktor	Anzahl Versuche*
normal	1	(N) 10 (N) 17 (N) 8	$1,9 \times$	6
	2	(A) 11 (A) 17 (A) 9	$1,7 \times$	5
chronisch denerviert	3	(N) 11 (N) 18 (N) 9	$1,8 \times$	3
	4	(A) 10 (A) 18 (A) 9	$1,9 \times$	4

Pro Versuch 6–15 Kontraktionen durch dieselbe Konzentration Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Um vor Zugabe des Azetylcholins einheitliche Kontraktionen entsprechend etwa 10 mg Spannungszunahme zu erhalten, waren folgende Konzentrationen notwendig: 1. Serie:  $2,5 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-6}$  m; 2. Serie:  $2,5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-7}$  m, 3. und 4. Serie:  $2,5 \cdot 10^{-8}$ – $10^{-7}$  m. Azetylcholin in Schwellenkonzentrationen (für Eigenwirkung) beim normalen Dilator  $5 \cdot 10^{-6}$  bis  $5 \cdot 10^{-5}$  m, beim denervierten Dilator  $5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-6}$  m.

\* 18 Präparate von 10 Kaninchen (nicht inbegriffen sind 6 Präparate von 4 Kaninchen ohne Wirkungsverstärkung).

Es bleibt offen, auf welche Weise die azetylcholinbedingte Wirkungsverstärkung zustande kommt. Die von uns am isolierten Kaninchendilatator unter übersichtlichen Versuchsbedingungen gefundene Beziehung zwischen Azetylcholin und Adrenalin bzw. Noradrenalin lässt sich mit ähnlichen Befunden an andern Organen weiterer Tierarten vergleichen. Eine Verstärkung der Adrenalin- und Noradrenalinwirkung durch Azetyl-

cholin ist auch an der Mäusepupille<sup>1</sup>, an der Nickhaut<sup>2</sup>, am isolierten Darm<sup>3</sup> und am perfundierten Herzen<sup>3</sup> festgestellt worden.

J. C. RÜEGG<sup>4</sup> und H. LANGEMANN

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich, den 2. August 1955.

Summary

Radial strips of the isolated iris of rabbits were suspended in streaming Tyrode's solution and their contractions were registered isometrically. The contractions produced by adrenaline or noradrenaline were increased after the administration of eserine or neostigmine. Acetylcholine in a concentration  $5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-6}$  M enhanced the effect of adrenaline and noradrenaline on both, the normal and the chronically denervated dilator muscle. Acetylcholine did not enhance the contractions by adrenaline and noradrenaline in the presence of atropine. Choline in a concentration of  $5 \cdot 10^{-6}$  M had no effect whereas concentrations of  $5 \cdot 10^{-5}$  M were slightly effective.

<sup>1</sup> A. W. FORST und R. DEININGER, Arch. exper. Path. Pharmacol. 215, 378 (1952).

<sup>2</sup> A. ENGELHARDT, K. GREEFF, P. HOLTZ und R. v. LUECKEN, Arch. exper. Path. Pharmacol. 221, 506 (1954).

<sup>3</sup> R. J. S. Mc DOWALL, J. Physiol. 106, 1 (1947).

<sup>4</sup> Gegenwärtige Adresse: Department of Biochemistry, University of Cambridge, England.

Ein 24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte

Nachdem schon ÅGREN und seine Mitarbeiter<sup>1</sup> an weissen Ratten trotz gleichmässiger Nahrungszufuhr den Glykogengehalt der Leber zwischen 0,33 und 10 % schwanken sahen, konnte schliesslich FORSGREN<sup>2</sup> nachweisen, dass der Glykogengehalt der Kaninchenleber einem ganz bestimmten 24-Stunden-Rhythmus mit je einem Maximum um 2 h und 16 h und je einem Minimum um 10 h und 20 h folgt. In diesem Rhythmus wechselt also jeweils eine vorwiegend assimilatorische mit einer vorwiegend dissimilatorischen Phase ab. Diese grundlegenden Erkenntnisse FORSGRENS wurden später an Hand umfangreicher Versuchsreihen nachgeprüft und für die Leber des Kaninchens<sup>3</sup>, der Ratte<sup>4</sup> sowie der Maus<sup>1</sup> grundsätzlich bestätigt. Lediglich die Zeitpunkte der jeweiligen Maxima und Minima zeigen bei den einzelnen Tierarten gewisse Unterschiede, doch bleibt die grundsätzliche Tatsache des 24-Stunden-Rhythmus durchaus eindeutig bestehen. Dabei wurde auch die ebenfalls bereits schon von FORSGREN<sup>2</sup> beobachtete weitgehende Unabhängigkeit des Leberglykogenrhythmus von der Nahrungsaufnahme bestätigt<sup>1</sup>. In den folgenden Jahren wurden schliesslich auch in anderen Organen<sup>5</sup>, darunter in der Skelettmuskulatur<sup>1</sup>, ähnliche rhythmische Schwankungen des Glykogengehaltes nach-

<sup>1</sup> G. ÅGREN, O. WILANDER und E. JORPES, Biochem. J. 25, 777 (1931).

<sup>2</sup> E. FORSGREN, Scand. Arch. Physiol. 55, 144 (1929); Klin. Wschr. J, 1110 (1929); Dtsch. med. Wschr. 21, 737 (1938).

<sup>3</sup> H. v. EULER und A. HOLMQUIST, Pflügers Arch. Physiol. 234, 210 (1934). – T. NORDENSKJÖLD und Mitarbeiter, Pflügers Arch. Physiol. 240, 427 (1938).

<sup>4</sup> G. ÅGREN, O. WILANDER und E. JORPES, Biochem. J. 25, 777 (1931). – H. HOLMGREN, Morph. Jb. 81, 653 (1932). – A. HOLMQUIST, Z. mikrosk.-anat. Forsch. 25, 30 (1931).

<sup>5</sup> A. JÖRES, Erg. inn. Med. 48, 574 (1935).

<sup>1</sup> E. SACHS und P. HEATH, Arch. Ophthalm. 24, 142 (1940).

gewiesen. Nachdem endlich REIN<sup>1</sup> die enge Kopplung von Milz und Leber zu einem für den Herzmuskel besonders bedeutsamen Funktionssystem erkannt hatte, erschien es uns unbedingt erforderlich, die Frage eines eventuellen Glykogenrhythmus auch für Herzmuskel und Milz zu klären. Denn ihre Lösung ist natürlich für alle Aussagen und Schlüsse wichtig, die aus dem Glykogengehalt dieser beiden Organe unter den jeweiligen besonderen Bedingungen gezogen werden.

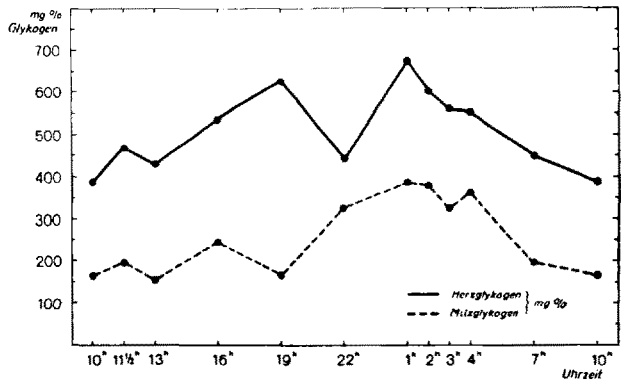
Wir bestimmten daher das Herzglykogen nach der seinerzeit besonders von SCHUMANN<sup>2</sup> in Anlehnung an das Pflügersche Prinzip entwickelten Methode, die sich allgemeiner Anerkennung erfreut und auch heute noch zweifellos als die exakteste hinsichtlich der im lebenden Organ tatsächlich herrschenden Verhältnisse gelten muss. Diese unbestrittene Überlegenheit der Technik SCHUMANNs beruht auf der von COBET<sup>3</sup> vorgeschlagenen sofortigen Fixation des exstirpierten Herzens in flüssiger Luft. Dadurch werden schlagartig alle weiteren chemischen Reaktionen gestoppt, so dass das so erhaltene Bild praktisch unverzerrt die im Leben herrschenden Verhältnisse widerspiegelt. Andere Methoden, die auf diese sofortige Fixation des Herzens verzichten, müssen zwangsläufig zu falschen Ergebnissen führen, da die Stoffwechselprozesse gerade in dem schnellschlagenden Rattenherzen natürlich auch noch nach seiner Entnahme aus dem Kreislauf weitergehen und daher notwendigerweise zu einer Senkung des anaeroben Energiekapitals führen müssen. GRUNKE, SCHUMANN und BÖHM<sup>4</sup> konnten daher nachweisen, dass der Glykogengehalt solcher Herzen schon innerhalb der ersten Minute nach der Tötung der Tiere um rund 90 % des normalen Wertes vermindert war. Ferner beobachteten sie, dass das nicht-fixierte Herz häufig sogar noch während der Einwaage in 60 %iger Kalilauge Kontraktionen ausführte! In den ersten 15–20 s ist mit einer wesentlichen Abnahme des Herzglykogens dagegen nicht zu rechnen, und SCHUMANN<sup>5</sup> behauptet mit Recht, dass es nach einiger Übung nicht schwer sei, das Herz innerhalb von 10 s nach Eröffnen des Brustkorbes in flüssiger Luft zu fixieren.

Die nachstehenden Versuche wurden an weissen Laboratoriumsratten im Winterhalbjahr durchgeführt. Dabei wurden grundsätzlich nur männliche Tiere, stets vom gleichen Tierzüchter geliefert, und grundsätzlich nach 24stündiger Nahrungskarenz verwandt. Die Tötung erfolgte durch Nackenschlag. Danach schnelle Eröffnung des Thorax und sofortige Entnahme des Herzens und der Milz. Die Zeit von der Organentnahme bis zur Fixation wurde grundsätzlich von einer Hilfsperson mit der Stoppuhr kontrolliert und betrug für das Herz in keinem Fall

mehr als 15 s und für die Milz mehr als 25 s. Um individuelle Schwankungen im Verhältnis Organgewicht zu Körpergewicht unberücksichtigt lassen zu können, wurden die erhaltenen Glykogenwerte jeweils auf 100 g Organgewicht (mg %) bezogen.

Gemeinsam mit MEYER<sup>1</sup> prüften wir diese Frage zunächst für die Milz der 24 h fastenden weissen Laboratoriumsratte und fanden tatsächlich einen ausgesprochenen Rhythmus mit einem maximalen Glykogengehalt von  $365 \pm 65$  mg % zwischen 24 h und 4 h sowie mit einem zweiten, kleineren Maximum von  $245 \pm 36$  mg % gegen 16 h. Die beiden Minima liegen dagegen mit Werten von  $156 \pm 39$  mg % gegen 9 h und mit  $167 \pm 32$  mg % gegen 19 h. Ein ganz ähnliches Ergebnis brachten auch unsere zusammen mit WEIGT<sup>2</sup> durchgeführten Bestimmungen des Herzglykogens der weissen Laboratoriumsratte. Hier fanden wir je ein Maximum um 19 h mit  $623 \pm 19$  mg % und um 1 h mit  $673 \pm 37$  mg %, sowie je ein Minimum um 10 h mit  $388 \pm 24$  mg % und um 22 h mit  $442 \pm 20$  mg %.

Die folgende Abbildung und Tabelle sollen nun einen Überblick über die einzelnen innerhalb von 24 h ermittelten Glykogenwerte in den genannten beiden Organen der weissen Laboratoriumsratte geben, die in den bereits erwähnten beiden Arbeiten<sup>3</sup> ausführlich abgeleitet, dargestellt und statistisch exakt gesichert sind.



24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte

Diesem von uns nunmehr auch für den Herzmuskel und die Milz der weissen Laboratoriumsratte nachgewiesenen 24-Stunden-Rhythmus des Glykogengehaltes

Uhrzeit		Mittlerer Glykogengehalt	
		des Herzens mg %	der Milz mg %
1	h . . . . .	673 ± 37	389 ± 92
2	h . . . . .	603 ± 15	378 ± 46
3	h . . . . .	560 ± 13	326 ± 45
4	h . . . . .	552 ± 33	362 ± 34
7	h . . . . .	447 ± 18	194 ± 51
10	h . . . . .	388 ± 24	156 ± 39
11 1/2	h . . . . .	468 ± 15	196 ± 30
13	h . . . . .	430 ± 30	156 ± 39
16	h . . . . .	534 ± 20	245 ± 36
19	h . . . . .	623 ± 19	167 ± 32
22	h . . . . .	442 ± 20	326 ± 79

<sup>1</sup> H. REIN, *Klin. Wschr.*, 873 (1942); *Pflügers Arch. Physiol.* 253, 309, 435 (1951).  
<sup>2</sup> W. GRUNKE, H. SCHUMANN und H. BÖHM, *Z. exper. Med.* 103, 117 (1937). – H. SCHUMANN, *Z. exper. Med.* 106, 14, 59 (1939); *Pflügers Arch. Physiol.* 243, 686, 695 (1940); *Erg. inn. Med.* 62, 869 (1942); *Klin. Wschr.*, 593 (1944); *Der Muskelstoffwechsel des Herzens* (Verlag Steinkopff, Darmstadt 1950). – H. SCHUMANN und U. KÖHLER, *Z. Kreislaufforsch.* 37, 65 (1945). – H. SCHUMANN und G. SCHÜRGER, *Klin. Wschr.* 24, 595 (1947).  
<sup>3</sup> R. COBET, zitiert bei U. KÖHLER, *Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Milz-Leber-Systems für den Herzmuskel*, Habilitationsschrift Halle a. d. S. 1955; *Naturwissenschaften* 42, 447 (1955).  
<sup>4</sup> W. GRUNKE, H. SCHUMANN und H. BÖHM, *Z. exper. Med.* 103, 117 (1937).  
<sup>5</sup> H. SCHUMANN, *Z. exper. Med.* 106, 14, 59 (1939); *Pflügers Arch. Physiol.* 243, 686, 695 (1940); *Erg. inn. Med.* 62, 869 (1942); *Klin. Wschr.* 593 (1944); *Der Muskelstoffwechsel des Herzens* (Steinkopff, Darmstadt 1950). – H. SCHUMANN und U. KÖHLER, *Z. Kreislaufforsch.* 37, 65 (1945). – H. SCHUMANN und G. SCHÜRGER, *Klin. Wschr.* 24, 595 (1947).

<sup>1</sup> H.-J. MEYER, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1952.  
<sup>2</sup> W. WEIGT, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1955.  
<sup>3</sup> H.-J. MEYER, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1952. – W. WEIGT, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1955.

kommt natürlich, wie eingangs schon angedeutet, nicht nur ein rein akademisches Interesse, sondern eine sehr wesentliche praktische Bedeutung zu. Es ist nämlich offensichtlich für die Deutung entsprechender Befunde durchaus nicht gleichgültig, zu welcher Tageszeit der ihnen zugrunde liegende Versuch durchgeführt worden ist. Demzufolge müssen die erhaltenen Glykogenwerte jeweils auf den für die Versuchszeit gültigen, mittleren Zeitwert bezogen werden, wie er aus der obenstehenden Abbildung bzw. Tabelle leicht zu entnehmen ist. Ob dieser Rhythmus zusätzlich von jahreszeitlichen Schwankungen überlagert wird, kann mit Sicherheit nicht gesagt werden, da entsprechende Untersuchungen an Ratten bisher noch nicht vorliegen. Eigene Arbeiten über den Glykogenstoffwechsel des Herzens<sup>1</sup>, die zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt worden sind, berechtigen jedoch zu der Annahme, dass solche jahreszeitlichen Schwankungen, wenn sie bei Ratten überhaupt vorhanden sein sollten, nur geringfügig sein können und daher praktisch vernachlässigt werden dürfen.

U. KÖHLER

*I. Medizinische Universitätsklinik Halle an der Saale, den 11. Juli 1955.*

### Summary

A definite 24-h rhythm was demonstrated in the glycogen content of heart muscle and of spleen of white laboratory rats, which makes it essential to take account of this fact when interpreting experimental results on these organs.

<sup>1</sup> U. KÖHLER, *Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Milz-Leber-Systems für den Herzmuskel*, Habilitationsschrift Halle a. d. Saale 1955; *Naturwissenschaften* 42, 447 (1955).

## Experimenteller Beitrag zur Frage von Nierenschäden bei Abusus von phenazetinhaltigen Schmerzmitteln

Von klinischer und pathologisch-anatomischer Seite (SPÜHLER und ZOLLINGER<sup>1</sup>, THOLEN<sup>2</sup>, SCHEIDEGGER<sup>3</sup>, ZOLLINGER<sup>4</sup>, SCHEIDEGGER und UEHLINGER<sup>5</sup>) wird über Nierenveränderungen bei jahrelangem Abusus von phenazetinhaltigen Analgetica berichtet. Diese Autoren beobachteten eine chronische, durch ZOLLINGER<sup>6</sup> morphologisch näher charakterisierte interstitielle Nephritis, verbunden mit Einlagerung von Kalziumoxalat-kristallen<sup>7</sup> in und um die Nierenkanälchen, wobei nach ZOLLINGER<sup>4</sup> diese Kristallbildung nicht direkt mit dem Medikamentenabusus zusammenhängt.

Angesichts der einheitlichen Befunde der verschiedenen Untersucher stellt sich die Frage, ob bei fortgesetzter Überbelastung mit einem phenazetinhaltigen Analgeticum regelmässige Nierenveränderungen auftreten, ob

somit die am Menschen beobachtete chronische interstitielle Nephritis Ausdruck eines gesetzmässig bei Überdosierung auftretenden Gewebsschadens darstellt. Zur Bearbeitung dieser Frage eignet sich der Tierversuch, obwohl bei der Übertragung der Resultate auf den Menschen grosse Zurückhaltung am Platze ist.

Wir untersuchten an Ratten die chronisch-toxischen Eigenschaften des Analgeticums Saridon<sup>1</sup> bzw. seiner Wirkstoffkomponenten und dosierten das Präparat entsprechend einer täglichen Riesendosis von 60 Tabletten für einen Menschen von 50 kg Körpergewicht. Insgesamt 50 weibliche, 90–98 g schwere Ratten erhielten in Gruppen von 10 Tieren *per os* mit der Schlundsonde an 5 Tagen der Woche:

1-Phenyl-2,3-dimethyl-4-isopropyl-5-pyrazolon . . .	180 mg/kg
Azet-p-phenetidin (Phenazetin) . . . . .	300 mg/kg
3,3-Diäthyl-2,4-dioxo-tetrahydropyridin . . . .	60 mg/kg
1,3,7-Trimethyl-2,6-dioxypurin (Coffein) . . . .	60 mg/kg
Saridon-Mischung	
(entspricht Wirkstoffmischung 500 mg/kg) . . . .	600 mg/kg

Der Versuch wurde nach 6½ Monaten mit 32 überlebenden Ratten abgebrochen. Die einzelnen Gruppen nahmen recht gleichmässig an Gewicht zu, am wenigsten die Phenazetin-Gruppe mit +128 g, am meisten die Saridon-Gruppe mit +137 g. Die hohe Mortalität von 18 Tieren während des Versuches ist auf interkurrente, durch die lange Sondenfütterung bedingte Erkrankungen zurückzuführen. Hämatologisch waren nach 11 Wochen keine Leukopenie oder Veränderung des Differentialblutbildes, keine Abnahme der Erythrozytenzahl oder des Hämoglobins festzustellen. Vereinzelt wurden Polychromasie und Howell-Jolly-Körperchen beobachtet; Innenkörper kamen nicht vor. Der Urin zeigte bei wiederholten Kontrollen ausser vereinzelt Erythrozyten und Leukozyten keine pathologischen Beimengungen, insbesondere keine Oxalatkristalle. Oxalsäure wurde nicht vermehrt ausgeschieden (0,7–1,2 mg pro Ratte in 24 h)<sup>2</sup>.

Bei der histopathologischen Untersuchung waren nach 6½ Monaten Versuchsdauer in Lunge, Leber, Nebenniere und Knochenmark keine krankhaften Veränderungen aufzufinden. In allen Versuchsgruppen zeigte die Milz einzelner Tiere eine leichte Vermehrung des Hämosiderins. In der Niere waren die Tubulusepithelien in geringem Grade trüb geschwollen, die Glomerula zart. Interstitielle Infiltrate oder Ablagerungen von Oxalatkristallen kamen nicht vor, auch nicht bei interkurrent eingegangenen Tieren. Somit fehlen bei der Ratte trotz monatelanger Überdosierung mit Saridon und seinen Komponenten Veränderungen, die in Analogie zu der beim Menschen beobachteten chronischen interstitiellen Nephritis zu setzen wären. Es könnte dies – wenn man von den «Spezies»-Unterschieden absieht – daran liegen, dass die Belastung mit Saridon an nierengesunden Tieren vorgenommen wurde. Zur Zeit wird von uns die Frage bearbeitet, ob bei zusätzlicher funktioneller Nierenbelastung oder in experimentell vorgeschädigten Nieren Saridon charakteristische morphologische Veränderungen auszulösen vermag. Es wird somit modellmässig nach einem prädisponierenden Faktor gesucht.

A. STUDER und G. ZBINDEN

*Medizinische Laboratorien der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. Basel, den 10. September 1955.*

<sup>1</sup> O. SPÜHLER und H. U. ZOLLINGER, *Z. klin. Med.* 151, 1 (1953).

<sup>2</sup> H. THOLEN, *Schweiz. med. Wschr.* 84, 963 (1954).

<sup>3</sup> S. SCHEIDEGGER, Demonstrationsabend vom 26. Mai 1955 für die Ärzte von Basel und Umgebung.

<sup>4</sup> H. U. ZOLLINGER, *Schweiz. med. Wschr.* 85, 746 (1955).

<sup>5</sup> S. SCHEIDEGGER und E. UEHLINGER, Persönliche Mitteilung, Veröffentlichung in Vorbereitung.

<sup>6</sup> H. U. ZOLLINGER, *Die interstitielle Nephritis* (Verlag S. Karger, Basel 1945).

<sup>7</sup> Kristallographisch identifiziert durch H. WALDMANN.

<sup>1</sup> Eingetragene Marke.

<sup>2</sup> Mikroanalytische Bestimmungen durch J. WÜRSCH.