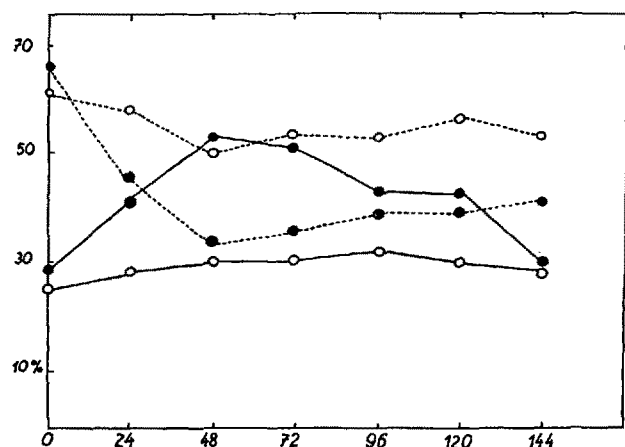


spritzten N-Lost-Stoffes betrug 0,5 mg und 6 mg je kg Gewicht. Zu den Versuchen mit Letaldosen (6 mg/kg) wurden 16 Tiere, zu den Versuchen mit 0,5 mg je kg wurden 24 Tiere angewendet. Bei den Versuchstieren (Äthertiere) wurde die Äthernarkose 10–15 min vor der N-Lost-Stoff-Injektion eingeführt, und die Ratten wurden nach der Injektion noch 45 min lang in der Äthernarkose gehalten. Die Kontrollratten bekamen nur die entsprechende Menge von N-Lost-Stoff. Bei allen Tieren wurden die Injektionen intramuskulär verabreicht. Die Blutveränderungen wurden bei Gaben von 0,5 mg/kg 24–144 h nach der Injektion mittels Blutausschstrichpräparaten verfolgt. Die histologischen Veränderungen wurden von 24 bis 48 h nach der Injektion in Milz, Dünndarm und Knochenmark verfolgt.



Veränderungen der Lymphozytenzahl und der Zahl der polymorphkernigen Neutrophilen im peripheren Blute der Ätherratten und Kontrollratten nach Verabreichung von 0,5 mg N-Lost je kg Körpergewicht. Äthertiere (14) weiss, Kontrolltiere (10) schwarz. Lymphozyten punktiert. Ordinate: Prozentzahl der Elemente im Blutausschstrich, Abszisse: Zeit nach Injektion in Stunden.

Die Versuchsergebnisse an Ratten, denen tödliche Gaben von N-Lost verabreicht wurden, zeigen, dass die Äthernarkose die Tiere nicht vor dem Tode schützt. Die Ätherratten starben durchschnittlich am 4. Tage nach der Gabe von 6 mg je kg Gewicht. Doch wird auch bei tödlichen Gaben von N-Lost der Verlauf der Blutveränderungen verlangsamt. 24 h nach der Injektion betrug der Mittelwert der Lymphozytenzahlen im peripheren Blute der Kontrollratten 6%. Bei den Ätherratten betrug der Mittelwert der Lymphozytenzahl noch 24%.

Die Verlangsamung der tödlichen Wirkung von N-Lost-Injektionen ist auch aus dem Verhalten der polymorphkernigen Leukozyten sichtbar. Der Anstieg dieser Zellen im peripheren Blute der Ätherratten war um 15% niedriger als jener bei den Kontrollratten. Die langsamere Schädigung des Organismus bei Äthernarkose bestätigt auch der Unterschied der Milzgrößen und Milzgewichte. Bei den Äthertieren war die Milz schwerer und grösser als bei den Kontrollen. Der Mittelwert des Milzgewichtes bei Äthertieren (8) betrug 193 mg, der Mittelwert des Milzgewichtes bei Kontrollratten (8) betrug 132 mg. In Prozenten war durchschnittlich das Milzgewicht der Äthertiere um 46% höher. Diese Differenz ist statistisch gut gesichert, da nach PÄTAU<sup>12</sup>  $P = 0,00038$ .

Bei Gaben von 0,5 mg N-Lost-Stoff war die Wirkung der Äthernarkose auf den Schädigungsgrad sehr gut erkennbar. Die Blutveränderungen bei den Äthertieren

(14) waren, mit jenen der Kontrolltiere (10) verglichen, kleiner. Bei den Ätherratten erhält man in den ersten 48 h nach der Injektion einen Abfall der Lymphozyten im peripheren Blut um 18% und einen Anstieg der polymorphkernigen Leukozyten um 21%. Bei den Kontrollratten fallen die Lymphozyten in derselben Zeit um 49%, und die Leukozyten steigen um 80–90% an. Die Äthernarkose schwächt also die Wirkung von N-Lost-Injektion deutlich ab (Abb.).

Die Milderung der Reaktion der Ätherratten ist auch an den histologischen Bildern in der Milz, im Dünndarm und Knochenmark erkennbar. Bei den Ätherratten sind die Zellen weniger geschädigt. Die kleinere Schädigung ist sehr gut durch die Unterschiede der in Mitose gefundenen Zellen im Dünndarm der Ätherratten und Kontrollratten nachweisbar. Bei den Ätherratten findet man fast in jeder Lieberkühnschen Dünndarmkrypte sich teilende Zellen. Bei den Kontrollratten sind Mitosen ziemlich selten. Die Gesamtzahl der in 900 Lieberkühnschen Dünndarmkrypten gefundenen Mitosen beträgt bei den Ätherratten 2570. Die Mitosezahl bei den Kontrolltieren in 900 Dünndarmkrypten beträgt nur 760. Die Mitosezahl in 900 Dünndarmkrypten von unbehandelten Kontrollratten beträgt 2990. Die Äthernarkose schützt also den Dünndarm wesentlich gegen die Wirkung von N-Lost-Stoff-Injektion.

Die Ergebnisse der obenbeschriebenen Versuche zeigen, dass die Äthernarkose den Schädigungsgrad des tierischen Organismus nach N-Lost-Injektion, die intramuskulär gespritzt wurde, wesentlich erniedrigt. Es ist wahrscheinlich, dass bei der Reaktion des tierischen Organismus auf den verabreichten N-Lost-Stoff eine wesentliche Rolle dem Nervensystem zukommt.

J. CHURY

Biologisches Institut der Fakultät für Veterinärmedizin, Brno, ČSR, 15. September 1955.

#### Summary

The action of nitrogen mustard TS 160 (trichloroethyl amine hydrochloride) upon the cellular structure of spleen, bone marrow, and Lieberkühns gland of the intestine is weaker in ether narcosis in rats. The same effect is noticed in the blood of the experimental rats. Narcosis cannot prevent the death of the experimental rats after lethal doses of this agent.

#### Quantitative Biological Determination of 5-Hydroxytryptamine

There are many biological assays for the estimation of 5-hydroxytryptamine (5-HT). Isolated, atropinized oestrous rat's uterus has been claimed by ERSPAMER<sup>1</sup> as a very sensitive and successful preparation. DALGLIESH, TOH and WORK<sup>2</sup> found the Erspamer's method tedious and recommended the use of atropinized colon of the rat.

We made a comparative study of these two most commonly used preparations with respect to their suitability for quantitative determination using a 2 + 2 procedure.

Male and female albino rats weighing more than 200 g were decapitated and bled according to the method of

<sup>1</sup> V. ERSPAMER, *Naturwissenschaften* 40, 318 (1953).

<sup>2</sup> C. E. DALGLIESH, C. C. TOH, and T. S. WORK, *J. Physiol.* 120, 298 (1953).

<sup>12</sup> K. PÄTAU, *Biol. Zbl.* 63, 161 (1943).

HUMPHREY and TOH<sup>3</sup>. The isolated organ bath, which was similar to that of BOURA, MONGAR, and SCHILD<sup>4</sup>, had a volume of 2.5 ml. All manipulations were made by hand. Water was circulated through the warming tubes by a Hoeppler's ultrathermostat. The rats' uteri were brought into oestrus by administering 100  $\mu$ g of oestradiol during 3 or the same amount of stilboestrol during 2 preceding days. All uteri thus prepared showed the signs of oestrus hyperaemia and very often hydrops. The composition of the Ringer solution for both preparations was that recommended by GADDUM, PEART and VOGT<sup>5</sup> for the isolated rat's colon. For the uterus these authors recommended a similar solution but with 60 mg Ca instead of 30 mg. We obtained better results on uterus using 30 mg Ca. All Ringer solutions contained 22  $\mu$ g/l of atropine sulphate. The intervals between contractions were 6–8 min for uterus and 5 min for colon. The latter was in contact with solution of 5-HT for 1.5 min. The uterine contractions which reached maximum in less than 30 s, were like those of the colon recorded with the frontal writing lever. The temperature of the bath fluid was 30°C in assays on uterus and 25°C on colon. Two doses of the standard and two of the unknown were used in each assay. The ratio of high to low dose was always 2:1 except in one assay where it was 1.5:1. Each assay consisted of 4 to 8 groups of contractions. In a few experiments the first 4 contractions were omitted when calculating the result. The limits of error and activity ratio were estimated by analysis of variance and the methods of calculation given by SCHILD<sup>6</sup>. The concentrations of 5-HT refer to the pure base.

To show which preparation is preferable for quantitative assay of 5-HT we applied 2 + 2 procedure both to rat's uterus and to colon. We assayed the concentration of 5-HT solution of known strength. 19 such assays on colon and 13 on uterus were made. The assays are unselected. The arithmetic means of the deviations from the true result are  $-2.184\%$  for colon and  $+2.453\%$  for uterus. The corresponding average limits of error ( $P = 0.05$ ) are  $8.8\%$  and  $10.5\%$ . The harmonic mean of the index of precision ( $\frac{s}{\bar{x}}$ ) is 0.035 for colon and 0.047 for uterus.

The results show that rat's uterus is as reliable for a quantitative assay as the colon, the actual deviations from the true result being not significantly different. The use of the uterus is, however, more laborious because one in 3 uteri must be discarded owing to irregular responses, higher doses sometimes giving a smaller effect than lower, whereas almost every colon is suitable for the assay. We were, moreover, obliged to use higher concentrations for the uterus: the average concentration used for the uterus was 87  $\mu$ g/ml, whereas for the colon it was 26  $\mu$ g/ml. Owing to these advantages the colon is to be preferred for 2 + 2 assay of 5-HT.

Z. SUPEK and S. MILKOVIĆ

Department of Pharmacology, Medical Faculty, University of Zagreb, Yugoslavia, November 7, 1955.

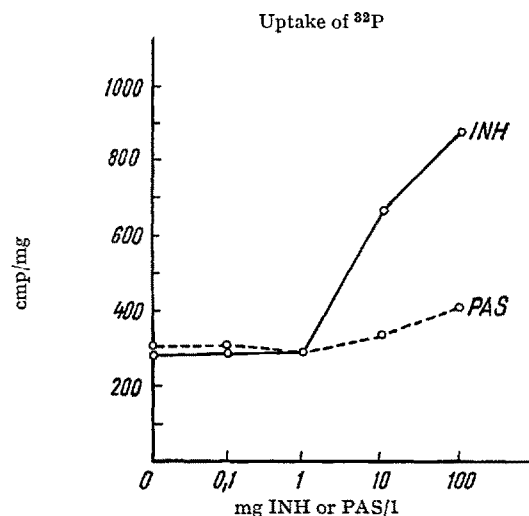
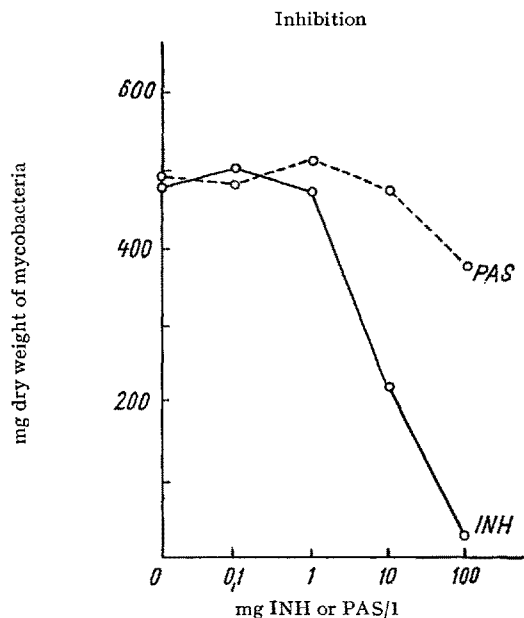
### Zusammenfassung

Die zwei meistgebrauchten Methoden der biologischen Auswertung von 5-Hydroxytryptamin, nämlich die am

isolierten, atropinisierten Rattenuterus bzw. Rattencolon, wurden in bezug auf ihre Eignung für die quantitative Bestimmung verglichen. Für diesen Zweck bedienten wir uns der sogenannten 2 + 2-Dosen-Prozedur. Beide Methoden ergaben statistisch gleichwertige Resultate. Die Unregelmässigkeit der Uteruskontraktionen machen das Testieren öfters unmöglich, was beim Colon sehr selten der Fall ist. Ausserdem ist das Colon empfindlicher als der Uterus. Wegen dieser Vorteile ist das Colon für die quantitative biologische Auswertung von 5-Hydroxytryptamin dem Uterus vorzuziehen.

### On the Mode of Action of Synthetic Antituberculotica

When studying the mode of action of synthetic tuberculostatica, i.e. INH and PAS, we came to the conclusion in our experiments that the use of concentra-



Saprophytic mycobacterium S incubated 7 days by 37°, grown on Long's medium (50 ml) with 0.25  $\mu$ c <sup>32</sup>P/ml. cpm/mg = counts per minute per mg dry weight of mycobacteria.

<sup>3</sup> J. H. HUMPHREY and C. C. TOH, *J. Physiol.* 124, 300 (1954).

<sup>4</sup> A. BOURA, J. L. MONGAR, and H. O. SCHILD, *Brit. J. Pharmacol.* 9, 24 (1954).

<sup>5</sup> J. H. GADDUM, W. S. PEART, and M. VOGT, *J. Physiol.* 108, 467 (1949).

<sup>6</sup> H. O. SCHILD, *J. Physiol.* 101, 115 (1942).