

There are two possible mechanisms to explain this elevation. Either DMT, or its breakdown products, were oxydated at the 5-position of the indol nucleus to produce 5-HIAA, or the endogenous Serotonin were metabolized to a greater degree. The latter possibility seems to be the more probable one³, but this ought to be proved by radioactive, isotope-labelled DMT. This would provide further support for the hypothesis of BRODIE *et al.*⁷ that Serotonin plays an important role in brain function.

ST. SZÁRA

Central State Institute for Nervous and Mental Diseases,
Budapest-Lipótmező, Hungary, July 31, 1956.

Zusammenfassung

Es wird festgestellt, dass Dimethyltryptamin – bei normalen Versuchspersonen – eine dem Meskalin und dem LSD-25 ähnliche psychotische Wirkung hat. Der durch Dimethyltryptamin induzierte Zustand beginnt schon 3–5 min nach Injektion und verschwindet bereits nach 1 h. Der Urin der Versuchspersonen wurde papierchromatographisch und kolorimetrisch auf Indolverbindungen geprüft. 3-Indolylessigsäure wird als hauptsächlichstes Abbauprodukt des Dimethyltryptamins gefunden, wovon der grösste Teil in alkali-labiler Form gebunden ist. Die Menge der ausgeschiedenen 5-Hydroxy-indolylessigsäure ist nach dem Versuch wesentlich grösser als vorher. Die Stoffwechselzusammenhänge mit dem psychotischen Zustand werden diskutiert.

⁷ B. B. BRODIE, A. PLETSCHER and P. A. SHORE, *Science* **122**, 968 (1955).

DISPUTANDUM

Wirkung der Glutaminsäure auf die experimentelle Isoniazid-Schädigung peripherer Nerven bei Ratten

Kürzlich wurde von CEDRANGOLO¹ über eine antagonistische Wirkung der Glutaminsäure (Gs.) gegenüber allgemein-toxischen Effekten des Isoniazids (INH) berichtet: bei gleichzeitiger intramuskulärer oder oraler Verabreichung von Gs. und INH im Gewichtsverhältnis von 10:1 gelang es bei Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen, die Letalität einmaliger, grosser Dosen INH beträchtlich herabzusetzen.

Auch beim Menschen konnten allgemein-toxische Nebenwirkungen des INH durch Gs. gemildert werden.

Ähnliche entgiftende Eigenschaften zeigen bei der akuten INH-Vergiftung im Tierversuch auch verschiedene Vitamine, nämlich Vitamin B₆², B₁₂³, B₂, A, E, K und Nikotinsäureamid⁴. Von diesen hat sich das Vitamin

B₆ bei der Prophylaxe der sogenannten INH-Polyneuritis des Menschen klinisch sehr gut bewährt⁵.

Nachdem es uns⁶ in früheren Versuchen gelungen war, die an Ratten durch fortgesetzte Verabreichung grosser INH-Dosen erzeugbare periphere Nervendegeneration⁷ durch Injektion von Pyridoxin, Pyridoxamin und Pyridoxal-5-phosphat, nicht aber durch die Vitamine B₁, B₂, Pantothensäure, Nikotinsäureamid, Vitamin B₁₂⁸ und A⁸ zu hemmen, erschien es von Interesse, abzuklären, ob auch Gs. die ausschliesslich den peripheren Nerven treffende Toxizität grosser INH-Dosen herabzumindern vermag.

Versuchsanordnung. Gruppen von je 5 männlichen, 40–45 g schweren, weissen Inzuchtratten vom Wistar-Stamm eigener Zucht erhielten in einer «synthetischen», mit allen notwendigen Vitaminen ergänzten Diät während 14 Tagen 0,25% INH (entsprechend durchschnittlich 200–250 mg/kg/Tag) als Zusatz verabreicht. In dieser Zeit entwickelten sich, wie aus früheren Versuchen bekannt war, bei allen Tieren ausgedehnte Schädigungen der peripheren Nerven, die histopathologisch durch herdförmige Degeneration der Markscheiden mit Blähung, scholligem Zerfall des Myelins und Auftreten von grossen Tropfen Neutralfett charakterisiert sind. Zur Erfassung des Schweregrades der Nervenschädigung wurden, wie früher ausführlich beschrieben⁹, von jedem Tier zwei mit Fettrot 7 B bzw. Sudanschwarz B gefärbte Gefrierschnitte histopathologisch untersucht und bezüglich Markscheidenblähung und Neutralfettbildung mit 0 bis +++ bewertet. Durch Bildung des arithmetischen Mittels aller Einzelwerte lässt sich der durchschnittliche Schweregrad der Markscheidendegeneration einer Tiergruppe zahlenmässig ausdrücken.

Zur Abklärung einer allfälligen Hemmwirkung der Gs. auf die Entstehung der Nervenschädigungen wurde verschiedenen Tiergruppen 0,1% bzw. 0,5%, bzw. 1%, bzw. 5%, bzw. 10% Gs. unter die INH-haltige Diät gemischt.

Zwei Kontrollgruppen erhielten entweder nur INH oder überhaupt keinen Zusatz zur Diät. Nach 15tägiger Behandlung wurden alle Tiere getötet, die Ischiasnerven in der beschriebenen Weise präpariert, untersucht und bezüglich Markscheidenschädigung bewertet.

Ergebnisse. Durchschnittliche Zunahme des Körpergewichtes und durchschnittlicher Schweregrad der peripheren Nervendegeneration der verschiedenen Versuchsguppen sind in nachfolgender Tabelle dargestellt.

Es ergibt sich, dass weder kleine (0,1%) noch sehr grosse und bereits leicht toxisch wirkende (10%) Zusätze von Gs. zur 0,25% INH-enthaltenden Diät die schädigende Wirkung des Antituberkulotikums auf die peripheren Nerven zu beeinflussen vermögen. Sämtliche Tiere zeigen histopathologisch zahlreiche Degenerationsherde in den Markscheiden des *N. ischiadicus*. Der durchschnittliche Schweregrad der Nervendegeneration

⁵ G. W. KLINGHARDT, K. L. RADENBACH und S. MROWKA, *Wien. med. Wschr.* **104**, 301 (1954). – J. P. BIEHL und R. W. VILTER, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* **85**, 389 (1954); *J. Amer. med. Ass.* **156**, 1549 (1954). – R. ÖSTREICHER, S. H. DRESSLER und G. MIDDLEBROOK, *Amer. Rev. Tuberc.* **70**, 504 (1954).

⁶ G. ZBINDEN und A. STUDER, *Z. Tuberk.* **107**, 97 (1955); *Int. Z. Vitaminforsch.* **26**, 130 (1955); *Schweiz. Z. Path. Bakt.* **18**, 1198 (1955).

⁷ G. W. KLINGHARDT, *Verh. Dtsch. Ges. inn. Med.*, 60. Kongress München, 25. bis 29. April 1954, S. 764. – G. W. KLINGHARDT, K. L. RADENBACH und S. MROWKA, *Wien. med. Wschr.* **104**, 301 (1954). – G. ZBINDEN und A. STUDER, *Z. Tuberk.* **107**, 97 (1955); *Int. Z. Vitaminforsch.* **26**, 130 (1955).

⁸ G. ZBINDEN und A. STUDER, unveröffentlicht.

⁹ G. ZBINDEN und A. STUDER, *Z. Tuberk.* **107**, 97 (1955); *Schweiz. Z. Path. Bakt.* **18**, 1198 (1955).

¹ F. CEDRANGOLO, *Scientia med. ital.* **3**, 450 (1955).

² R. H. REILLY, K. F. KILLAM, E. H. JENNEY, W. H. MARSHALL, T. TAUSIG, N. S. APTER und C. C. PFEIFFER, *J. Amer. med. Ass.* **152**, 1317 (1953). – B. FUST und E. BÖHNI, *Therapie der Tuberkulose mit Isoniazid (Rimifon) in Therapie der Lungentuberkulose* (Huber, Bern und Stuttgart 1953).

³ B. FUST und E. BÖHNI, *Therapie der Tuberkulose mit Isoniazid (Rimifon) in Therapie der Lungentuberkulose* (Huber, Bern und Stuttgart 1953). – S. ATA und K. TANAKA, *Lancet* 1952/II, 589.

⁴ B. FUST und E. BÖHNI, *Therapie der Tuberkulose mit Isoniazid (Rimifon) in Therapie der Lungentuberkulose* (Huber, Bern und Stuttgart 1953).

INH % in Diät	Gluta- min- säure% in Diät	Von je 5 Ratten nach 15 Tagen überlebend	Durchschnittliche Veränderung des Körpergewichtes in g	Durchschnittl. Schweregrad der periph. Nerven- degeneration
0,25	–	5	6,8 (– 2 + 13)	1,49
0,25	0,1	4	5,3 (– 8 + 14)	1,27
0,25	0,5	5	6,8 (– 3 + 16)	1,11
0,25	1,0	5	14,4 (+ 2 + 20)	1,37
0,25	5,0	5	11,0 (0 + 22)	1,37
0,25	10,0	5	– 1,0 (– 9 + 7)	1,47
–	–	5	26,2 (+ 18 + 33)	0

der mit Gs. behandelten Ratten ist von demjenigen der nur mit INH gefütterten Tiere nicht signifikant verschieden. Auch die als allgemein-toxischer Effekt des INH zu wertende Wachstumshemmung wurde durch Gs. nicht signifikant beeinflusst ($p > 0,05$).

Besprechung der Resultate. Grosse INH-Dosen führen bei Versuchstieren einerseits zu akuten, allgemein-toxischen Symptomen, wie Krämpfen und raschem Absterben, andererseits schädigen sie selektiv die Markscheiden peripherer Nerven. Während die allgemein-toxischen Symptome durch verschiedenartige Stoffe, wie Vitamin B₂, B₆, B₁₂, A, E, K, Nikotinsäureamid und Glutaminsäure, gemildert werden können, vermag nach den heutigen Kenntnissen einzig das Vitamin B₆ auch die durch grosse INH-Dosen experimentell erzeugte Schädigung der peripheren Nerven hemmend zu beeinflussen⁶. Nach den vorliegenden Ergebnissen modifiziert Gs. weder qualitativ noch quantitativ den Ablauf der experimentellen Isoniazid-„Neuritis“. Dies gibt einen weiteren Hinweis, dass bei der Entstehung der Isoniazid-Schädigung peripherer Nerven bei Mensch und Tier die mit Vitamin B₆ in Beziehung stehenden Fermentsysteme betroffen sind. Substanzen, die Isoniazid über einen andern Mechanismus entgiften, besitzen keine schützende Wirkung gegenüber der neurotoxischen, auf die Markscheiden der peripheren Nerven gerichteten Wirkungskomponente des INH.

G. ZBINDEN und A. STUDER

Abteilung für experimentelle Medizin der F. Hoffmann-La Roche & Cie, AG., Basel, den 8. September 1956.

Summary

Glutamic acid does not, either in small or in large doses, inhibit the degeneration of the medullary sheath of peripheral nerves in rats, induced within 15 days by addition of 0.25% of isoniazid to their diet. The detoxicating effect of glutamic acid, as described by CEDRAN-GOLO¹, thus only applies to the general toxic symptoms of the acute INH-intoxication, as is the case for vitamins B₂, B₁₂, A, E, K, and niacinamide.

PRO EXPERIMENTIS

Agar Diffusion Plates: The Recording of Experimental Data

The gel diffusion method of OUCHTERLONY¹ for the study of antigen-antibody reactions has found increasing application to immunological problems. Several

descriptions of the technique have been given² but typically experiments are set up in Petri dishes and result in the formation of zones or fine lines of antigen-antibody precipitates in an agar gel matrix *approximately* 10 cm diameter and 3 mm deep. The line patterns observed are recorded usually by sketch or photograph but in some instances it is convenient if the whole contents of a Petri dish can be preserved. GELL³ has demonstrated the partial desiccation of agar diffusion plates and the present communication describes an extension of this method.

Agar diffusion plates intended for preservation were cleaned by rinsing out the reagent reservoirs with water using a Pasteur pipette. Petri dishes containing the agar discs were then filled with water and the fluid changed about three times a day for three days. At the end of this time, when excess buffer and reagents had been leached from the agar, dishes and their washed contents were immersed in a large bowl of water, gently agitated, and the agar discs floated from their containers onto lantern-slide cover-glasses (3¼ × 3¼ in.). Cover-glasses and adhering discs were taken from the bowl, excess fluid removed with a Pasteur pipette and the preparations placed on a horizontal surface to dry at 18°. While drying, a large watch-glass was suspended over each disc; this allowed free access of air but prevented contamination by dust. After 3–4 days each disc dried to a tough, transparent film which adhered to its cover-glass and which differed little in diameter from an untreated disc but was *approximately* 0.5 mm in thickness. Insufficient washing resulted in opacity and the formation of salt crystals in dried preparations; hardening washed agar discs in 10% v/v formalin before transfer to cover-glasses was of no advantage in manipulation. Attempts to increase the rate of desiccation by drying either *in vacuo* or at 37° were not successful as in both cases marked distortion occurred and dried discs tended to peel off the supporting cover-glasses.

Dried preparations were best inspected against a dark background with the aid of a hand-lens. Opaque lines of precipitation were clearly seen in the transparent yellow matrix and the precipitation patterns obtained were identical with those recorded by sketch before drying (Figure). In some cases diffuse zones of precipitation were poorly preserved although the clarity of fine lines of precipitation was often enhanced, due possibly to a condensation of antigen-antibody complex on desiccation. Increased definition was obtained by staining the discs with dye before drying and such preparations could be projected as lantern-slides for demonstration purposes.

To effect staining, Petri dishes containing washed agar discs were filled with a 0.1% aqueous dye solution and allowed to stand at 18° until the dye had penetrated the discs. With protein stains this process required *approximately* 3 h at the end of which time excess dye was removed and the plates washed with water to differentiate the lines from the matrix. Since no fixative was used, differentiation was dependent upon the relative intensities of dye adsorption on the polysaccharide matrix and the protein contained in the antigen-antibody precipitates. Best results were obtained by staining the lines of precipitation with naphthol black or congo red

² B. BJÖRKLUND, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 79, 319 (1952). – D. A. DARCY, Nature 176, 643 (1955). – M. KAMINSKI and Ö. OUCHTERLONY, Bull. Soc. Chim. Biol. 33, 758 (1951). – C. R. SCHIOTT, Acta Path. microbiol. Scand. 32, 251 (1953). – M. W. WILSON and B. H. PRINGLE, J. Immunol. 73, 232 (1954).

³ P. G. H. GELL, Biochem. J. 59, viii (1955).

¹ Ö. OUCHTERLONY, Ark. Kemi. Min. Geol. 26B, 14, 16 (1948).