

Influence of glutathione 0.1 g (i. m.) on serum cholesterol in rabbits

Rabbit No.	Cholesterol (mg%) before injection	Cholesterol (mg%) 24 h after injection	Change %
1-27	26	34	+ 30.8
2-29	71	79	+ 11.3
3-9	18	22	+ 22.2
4-175	134	158	+ 17.9
5-8	107	138	+ 29.0
6-129	35	44	+ 25.7
7-135	48	49	+ 2.1
8-23	116	135	+ 16.4
9-51	106	105	- .94
10-88	73	82	+ 12.3
11-50	65	92	+ 41.5
12-173	56	54	- 3.6
13-87	39	50	+ 28.2
14-172	44	63	+ 43.2
15-45	63	69	+ 9.5
16-178	54	77	+ 42.6
17-151	42	70	+ 66.7
18-37	33	33	0
19-1	51	65	+ 27.5
20-101	106	106	0
21-38	50	67	+ 34.0
22-150	54	69	+ 27.8
	Average 63.2	Average 75.5	Mean + 21.99%
			S. D. ± 17.30
			$t = 5.83$
			$P < 0.001$

With regard to the mode of action of reduced glutathione in raising serum cholesterol in rabbits, it seems futile at the present time to attempt an explanation in view of the scanty knowledge about the function of this substance. However it deserves mention that according to LEVY and POJÁK¹⁰ cysteine and glutathione activate mevalonic kinase which plays a role in converting mevalonate into squalene, both of which are precursors of cholesterol.

R. ALTSCHUL and R. MOROZ

Laboratory of Gerontology, Department of Anatomy, University of Saskatchewan, Saskatoon (Canada), August 24, 1960.

Zusammenfassung

In Kaninchen erfolgt auf intramuskuläre Injektionen von 0.1 g reduziertem Glutathion nach 24 h ein hoch signifikanter Anstieg des Serumcholesterins. Kleinere Dosen, oder orale Verabreichung von 0.1 g, haben keine derartige Wirkung.

Oxydiertes Glutathion, DL-Cystein und Glykokoll zeigen bei Kaninchen keinen eindeutigen und unmittelbaren Einfluss auf Serumcholesterin.

Multiple Effects of Oestrone and Testosterone Propionate in Combination: Simultaneous Effects on Vaginal Keratinization and Uterine Growth

For some years androgens of various types have been known to inhibit the vaginal effects of oestrogens¹. The recent demonstration that testosterone propionate may augment the action of the important natural oestrogens in stimulating uterine growth² suggested the likelihood

that the androgen in a single oestrogen-androgen combination might both augment and inhibit the oestrogen simultaneously at different target organs. This could be observed in the same animal. Such a study, employing combinations of oestrone and oestriol, had been suggestive, but not conclusive¹. The following experiment was designed to determine whether in combination with oestrone, testosterone propionate would appear as a synergist and antagonist respectively at the uterus and vagina of the same animal.

The experimental approach has been described previously². In short, 30-day old Sprague-Dawley rats were spayed and rested 10 days to insure regression of the uterus. Then injections were given daily for the next three days, and the animals were sacrificed 24 h after the final injection. At autopsy the uterus was removed, cleaned of adherent tissues, scored and blotted to remove contained fluids, and weighed wet on a torsion balance. At the same time the vagina was dissected out, fixed, sectioned at 7 μ , stained with hematoxylin and eosin, and studied microscopically. Four groups of 14 rats each were employed. One group received solvent injections, 0.1 ml of corn oil; the second group was injected with 1.0 μ g of oestrone each day; the third group, 500 μ g of testosterone propionate daily; and the fourth, 1.0 μ g of oestrone and 500 μ g of testosterone propionate in single daily injections of 0.1 ml of corn oil. (Tab.)

The uteri of the oil-treated animals were atrophic, as was to be expected in spayed animals, but both the oestrone and testosterone propionate separately produced considerable uterine growth. The addition of the androgen to the oestrogen stimulated an additional increment of uterine growth. Thus this test satisfactorily repeated earlier studies demonstrating that oestrone-induced uterine growth may be augmented by testosterone propionate.

Keratinization of the vaginal epithelium, on the other hand, was inhibited by the androgen (Table). None of the

The effects of 1.0 μ g of oestrone and 500 μ g of testosterone propionate administered daily for three days, alone and in combination, on the uterine growth and vaginal histology of spayed rats

	N	Uterine Weight ^a	Vaginal Indices	
			Keratinization	Mucification
Oil only	14	27.9	0/14	0/14
Testosterone propionate	14	65.2	0/14	3/14
Oestrone	14	83.2	9/14	0/14
Oestrone + TP	14	124.5	0/14 ^b	14/14 ^c

^a Uterine weights for groups designated by italic ciphers differ significantly with $P < 0.01$, by Wilcoxon Rank Sum Test³.
^b Significantly different from oestrone-treated group. Chi-Square = 10.48, $P < 0.01$.
^c Significantly different from testosterone propionate-treated group. Chi-Square = 14.97, $P < 0.01$.

¹ R. A. EDGREN, Ann. N. Y. Acad. Sci. 83, 160 (1959); Acta endocrinol. 25, 365 (1957).
² R. A. EDGREN, D. W. CALHOUN, and T. W. HARRIS, Acta endocrinol. 34, 213 (1960).
³ F. WILCOXON, Biom. Bull. 1, 80 (1945).

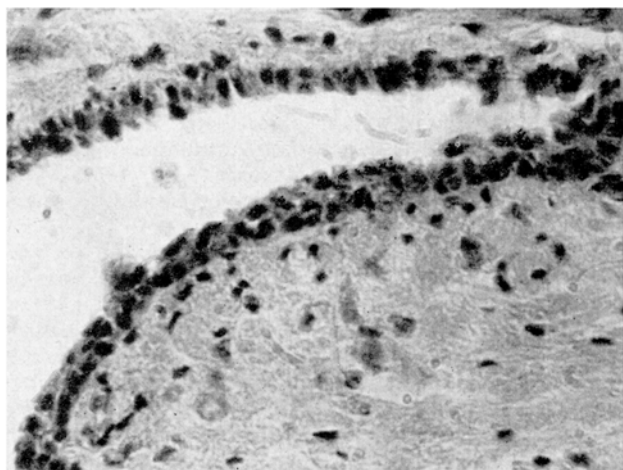


Fig. 1. Vaginal epithelium of 44-day old, oil-treated, spayed female rat.

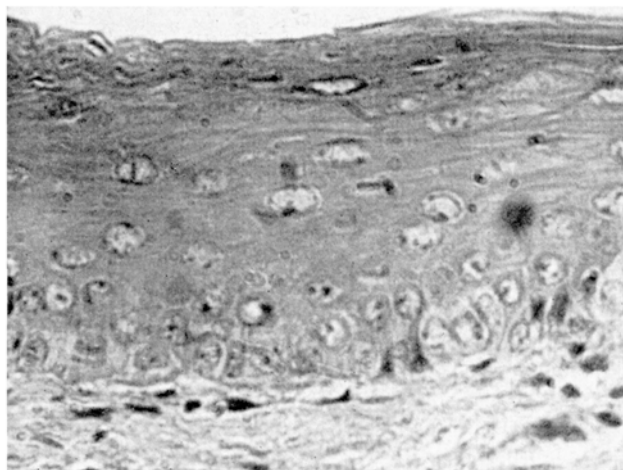


Fig. 3. Keratinization of vaginal epithelium of 44-day old rat. Response induced by three daily injections of 1.0 μ g of oestrone.

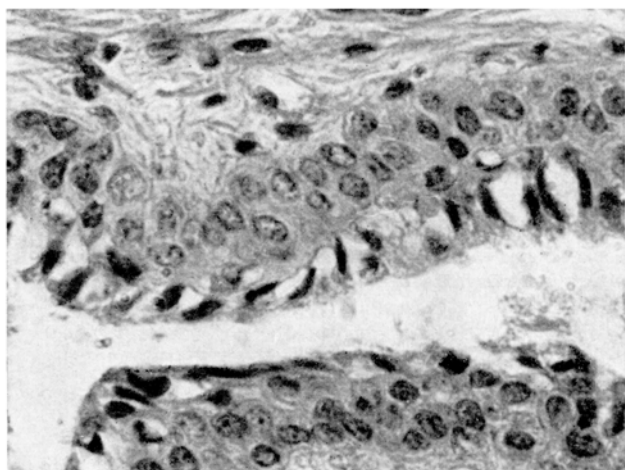


Fig. 2. Vaginal epithelium of 44-day old female rat treated with 500 μ g of testosterone propionate daily for three days.

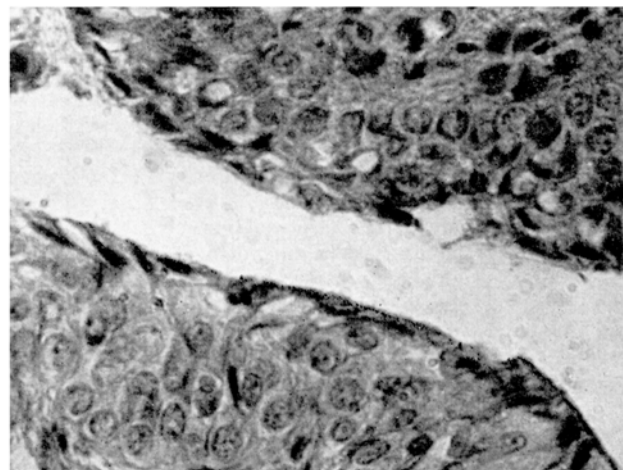


Fig. 4. Vaginal epithelium of 44-day old rat that had been treated daily for 3 days with 1.0 μ g of oestrone and 500 μ g of testosterone propionate.

rats in either the oil- or testosterone-treated groups showed any keratinization (Fig. 1 and 2), whereas 9 of 14 oestrone-treated rats showed the development of a thick sheath of keratinized cells lining the vaginal lumen (Fig. 3). No such sheath was present in animals that received both hormones (Fig. 4). Although thickness of the epithelium is a largely subjective measure, oestrone-induced growth of the epithelium also appeared to be inhibited by testosterone propionate. The atrophic vaginae from oil-treated rats had epithelia that were between 2 and 4 cells in thickness. Testosterone propionate stimulated some minor proliferation and occasional vaginae had as many as 6 layers of cells. Oestrone-treated rats had 8–10, or more, cell layers, whereas the oestrone-testosterone group had only 4–8.

Mucification of the vaginal epithelium is, typically, an androgenic or progestational response. Testosterone propionate produced marked mucification in only 3 of the 14 rats in that group, whereas oestrone-alone produced none. Surprisingly all rats in the oestrone-testosterone group showed marked mucification of the vaginal epithelium.

Thus the action of oestrone in stimulating keratinization of the vaginal epithelium was inhibited by testosterone propionate, while at the same time the uterine growth effects of the oestrogen were augmented. Results of separate experiments had suggested for some time the complex potentialities of oestrogen-androgen mixtures that are here demonstrated within a single organism. The specificity of response was further emphasized by differences of two end points in the same organ, keratinization and mucification of the vagina.

The moral, if we may be permitted to reiterate what should perhaps have been obvious from the start, is that the spectrum of biological effects of oestrogen-androgen combinations cannot safely be predicted by generalizing from studies of one or a few target organs.

R. A. EDGREN⁴ and D. W. CALHOUN

Division of Biological Research, G. D. Searle and Company, Chicago (Illinois), August 4, 1960.

⁴ Present Address: Research and Development Divisions, Wyeth Laboratories, Philadelphia (Pennsylvania).

Zusammenfassung

Vier Gruppen ovariektomierter Ratten erhielten an drei aufeinanderfolgenden Tagen in Maisöl injiziert: 1,0 µg Oestron, 500 µg Testosteronpropionat (TP), Oestron + TP oder das Vehikel allein. 1 Tag nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und Vagina und Uterus untersucht:
Die durch Oestron verursachte Verhornung des Vaginal-epithels wurde durch Zusatz von TP gehemmt, während das durch Oestron stimulierte Wachstum des Uterus durch TP-Zusatz noch weiter gefördert wurde. Umgekehrt wurde die durch TP bewirkte Mucifikation des Vaginal-epithels durch Zusatz von Oestron ebenfalls gefördert.
Je nach Organspezifität besteht also zwischen den Wirkungen von Testosteronpropionat und Oestron ein Synergismus oder ein Antagonismus.

Das Reserpin
bei experimenteller Thyreotoxikose:
Seine Wirkung auf die Adenosinnucleotide
des Herzgewebes

Einige bisherige experimentelle Befunde für eine schilddrüsenhemmende Wirkung des Reserpins seien kurz vorangestellt: a) Verhütung und Herabsetzung des gesteigerten Sauerstoffverbrauches bei Tieren mit Hyperthyreose^{1, 2}; b) Hemmung der Bindung organischer Verbindungen von I¹³¹ *in vitro*³.
Im Widerspruch zu diesen Feststellungen hat ERSHOFF⁴ kürzlich hervorgehoben, dass die gleichzeitige Zufuhr von trockener Schilddrüsensubstanz und Reserpin-Substanzen – welche einzeln verabreicht nicht tödlich wirken – bei Versuchstieren einen raschen Tod herbeiführen können. Bekanntlich wird der Tod entsprechend schilddrüsenhormonbehandelter Tiere hauptsächlich auf eine Herz-

Schilddrüsentrockenpulver 0,4% (Diät T.); Zusatz beider Substanzen in derselben Konzentration (Diät R. + T.). Die 4. Gruppe (Kontrollen) erhielt die Normalität (Diät N.).
Nach 4 Wochen wurden die überlebenden Tiere dekapiert. Das Herz wurde aseptisch entnommen, gewogen und auf den Adenosinnucleotidgehalt (ATP, ADP, AMP) durch Bestimmung des P (Methode von LE PAGE⁷) quantitativ geprüft (siehe Tabelle).
Es wurde festgestellt, dass Reserpin in den bei den Versuchen angewandten Dosen keinerlei Wirkung auf die körperliche Entwicklung der Tiere hat. (Eine geringe Herabsetzung des Gesamtgehaltes an Adenosinnucleotiden ist unbedeutend.) Die Schilddrüsensubstanz hingegen hemmt, wie vorausgesehen, die körperliche Entwicklung der Ratten und verursacht einen starken Abfall der Nucleotidkonzentrationen in den Geweben, der für das ATP (– 62,4%) und das ADP (– 53,8%) stärker, für das AMP (– 38%) schwächer ist.
Wird Schilddrüsensubstanz zusammen mit Reserpin verabreicht, so kommt es zu einer weiteren Verminderung des Körperwachstums und gleichzeitig zu einer erheblich erhöhten Mortalität (75% der Versuchstiere); die Gewebskonzentrationen des ATP, ADP und AMP bei den überlebenden Tieren sind, verglichen mit jenen der mit Schilddrüse allein behandelten Tiere, weiter herabgesetzt, wobei sie wahrscheinlich die verträglichen Grenzwerte erreichen.
Aus diesen Ergebnissen folgt, dass das Reserpin an sich nicht fähig ist, in den benützten Mengen die Nucleotidkonzentration im Herzmuskel zu verändern, und nur zu wirken vermag, wenn der Stoffwechsel dieser Substanzen durch einen Schilddrüsenhormonüberschuss bereits gestört ist. Tatsächlich scheint das Reserpin, das *in vitro* ein wirksamer Faktor der Dissoziation der oxydativen Phosphorylierungsprozesse ist⁸, *in vivo* nicht ebenso stark wirksam zu sein, da Dosen von 5 mg/kg keine nennenswerte Wirkung auf die Adenosinnucleotide des Herzgewebes⁹ entfalten, welche bekanntlich für die oxydative Phosphorylierung von grosser Bedeutung sind.

Wirkung des Reserpins auf Mortalität, körperliche Entwicklung und auf die Herz-Adenosinnucleotide von an Thyreotoxikose erkrankten Ratten (Mittelwerte ± S. F.)

Diät	Zahl der Tiere ^a	Körpergewicht (g)	PATP	PADP (µg/g frischer Gewebe)	PAMP	PAPP
N.	12/12	157.2 ± 8.8	161.4 ± 7.2	66.3 ± 3.4	71.4 ± 2.8	288.1
R.	12/12	151.6 ± 12.3	146.9 ± 8.5	41.8 ± 2.2	68.0 ± 3.1	256.7
T.	10/12	64.9 ± 4.5	59.7 ± 3.8	25.6 ± 1.9	44.3 ± 2.2	129.6
R. + T.	5/20	38.5 ± 2.6	35.1 ± 2.1	13.2 ± 0.8	24.9 ± 1.7	73.2

^a überlebend/behandelt.

schädigung zurückgeführt. Dafür scheint eine wichtige biochemische Grundlage die starke Einschränkung des zur Verfügung stehenden Adenosintriphosphats^{5, 6} zu sein. Die vorliegende Arbeit untersucht, ob und wie Reserpin die Einwirkung der Schilddrüse auf den Adenosinnucleotidgehalt des Herzmuskels beeinflusst.
Die Untersuchungen wurden an jungen Ratten (Körpergewicht 50–60 g) unseres Tierbestandes (ursprünglich Wistar) vorgenommen. Alle Versuchstiere erhielten: Casein 21%, Maisöl 8%, Vitamine in Milchzucker 5%, Salzmischung IV 4%, Cellu-Flour 3%, Sucrose 59%. Sie wurden in 4 Gruppen eingeteilt. Drei Gruppen erhielten: Zusatz von Reserpin 5 mg/100 g (Diät R.); Zusatz von

¹ H. J. KUSCHKE und H. GRUNER, *Klin. Wschr.* **32**, 563 (1954).
² E. A. DE FELICE, T. C. SMITH und E. H. DEARBORN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. **94**, 171 (1957).
³ S. W. MAYER, F. H. KELLY und M. E. MORTON, *J. Pharmacol. exp. Therap.* **117**, 197 (1956).
⁴ B. H. ERSHOFF, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. **99**, 189 (1959).
⁵ E. MASCITELLI-CORIANOLI und R. BOLDRINI, *Nature* **179**, 1196 (1957).
⁶ L. ANGELUCCI, R. BOLDRINI und E. MASCITELLI-CORIANOLI, *Nature* **181**, 419 (1958).
⁷ G. A. LE PAGE, *Manometric Methods and Tissue Metabolism* (Burgess, Minneapolis 1949).
⁸ L. J. ABOOD und K. L. ROMANCHEK, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **66**, 812 (1957).
⁹ S. M. KIRKEPAR und J. J. LEWIS, *Brit. J. Pharmacol.* **14**, 40 (1959).