

hand, the controls of the Sprague-Dawley males, the adrenalectomized CFN males and the hypophysectomized Charles River males have significantly higher levels of hepatic choline oxidase and do not get fatty livers if given cerium intravenously. These results are exactly opposite to what one would reason from the theory concerning the relationship of choline oxidase and susceptibility of an animal to choline deficiency. These data indicate, then, that a choline deficiency is not an important causative factor in the fatty infiltration of liver induced by cerium. On the other hand, the liver choline oxidase activity is substantially reduced from control values in all animals that did develop the fatty livers. This inhibition is not completely explained by the diluent action of the fat, since the inhibition is still evident when the enzyme activities reported in the Figure are corrected to a fat free basis. The percentage of liver lipides on a wet and dry weight basis in CFN female rats for two controls were 4.78, 4.25 (wet); 15.86, 13.91 (dry) and for two cerium-injected rats percentages were 15.22, 16.47 (wet); 45.05, 47.75 (dry). The inhibition observed when the fat-free calculation is used is probably caused by the metabolic effect of lipides on this enzyme system^{8,9} and not caused

by the cerium *per se*, since choline oxidase activities measured 24 h after the cerium injection (about 70% of the cerium dose being in the liver and essentially no fatty infiltration) is in the same range as controls.

Zusammenfassung. Der Cholinoxidase-Spiegel in Rattenleberbrei wurde nach intravenöser Verabreichung von Cerium gemessen. Die experimentell erhaltenen Werte zeigen, dass die vom Cerium verursachte Fetteinlagerung weder von der Art der Ratten noch von ihrem hormonalen Zustand abhängt. In Fettleber scheint die Enzymhemmung mehr von ihrem Lipidgehalt als von ihrer Ceriumkonzentration bestimmt zu werden.

F. SNYDER and E. CRESS

Oak Ridge Institute of Nuclear Studies, Medical Division, Oak Ridge (Tenn.), March 20, 1961.

⁸ F. BERNHEIM, *J. biol. Chem.* **133**, 291 (1940).

⁹ F. L. HUMOLLER and H. J. ZIMMERMANN, *Amer. J. Physiol.* **174**, 199 (1953).

Reserpin und Glykogengehalt der Organe¹

Nach Reserpin ist der Glucose-² und Milchsäuregehalt³ des Blutes erhöht, der Grundumsatz steigt bei Ratten an⁴, es kommt zu einer Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung⁵. Es wäre deshalb zu erwarten, dass der Gehalt der Organe an Glykogen und energiereichen Phosphorsäureverbindungen abnimmt.

Versuche. Männliche weisse Mäuse (18–20 g) erhielten nach 24stündiger Nahrungskarenz 5 mg/kg Reserpin (50 mg/kg Reserpinascorbat), Kontrolltiere die entsprechende Menge Ascorbinsäure subcutan. Sämtliche Tiere wurden unter weiterem Nahrungsentzug bei 25°C gehalten.

1, 3, 12 und 18 h nach der Injektion von Reserpin wurden jeweils mindestens 6 Tiere durch Eintauchen in flüssige Luft getötet. Die Organe wurden in gefrorenem Zustand entnommen, gewogen und *einzel*n aufgearbeitet.

Glykogenbestimmung (Gehirn, Herz, quergestreifter Muskel, Leber): Extraktion nach CARROL, LONGLEY und ROE⁶ mit kalter 5%iger Trichloressigsäure («Labile Glykogenfraktion» nach STETTEN und STETTEN⁷). Der unlösliche Rückstand wurde mit 30%iger KOH im kochenden Wasserbad extrahiert («Gebundene Fraktion»). Das Glykogen beider Fraktionen wurde getrennt nach Fällung mit Äthanol 96%ig, in 1n HCl hydrolysiert. Die Hydrolysate wurden mit NaOH neutralisiert. Die Glykogenbestimmung erfolgte enzymatisch nach HUGGET und NIXON⁸ («Wahre Glucose»). Die Glykogenwerte sind in μM Glucose/g Feuchtgewicht angegeben.

Milchsäurebestimmung (Gehirn): Extraktion mit m/3 $HClO_4$; enzymatische Bestimmung nach HORN und BRUNS⁹, modifiziert nach GERCKEN¹⁰. – Milchsäurewerte in μM Milchsäure/g Feuchtgewicht.

ATP, ADP, AMP Bestimmung (Gehirn): ATP nach THORN et al.¹¹; ADP und AMP nach LIPMANN¹² und BÜCHER¹³. Werte in μM /g Feuchtgewicht¹⁴.

Ergebnisse. (1) Glykogen. Aus den Figuren 1 und 2 ist zu ersehen, dass der Glykogengehalt/g Feuchtgewicht im Gehirn 2,05 μM , im Herzmuskel 8,59, in der quergestreiften Muskulatur 10,87 und in der Leber 13,24 μM /g beträgt. Diese Normalwerte erfuhren während der 18stündigen

Versuchsdauer bei den fastenden Kontrolltieren keine signifikante Änderung.

Schon 1 h nach der Injektion von 5 mg/kg Reserpin ist der Glykogengehalt des Gehirns (Figur 1) signifikant erhöht – von 2,05 auf 2,52 μM /g – und nimmt im Laufe des Versuches kontinuierlich zu. Nach 18 h beträgt er 4,14 μM /g. Das bedeutet eine Zunahme um 100%.

Im Herzmuskel (Figur 2) findet sich 1 und 3 h nach Reserpin eine Erhöhung des Glykogengehaltes um 43%, die jedoch nicht signifikant ist. Nach 12 h ist auch das Glykogen des Herzens signifikant erhöht; von 8,59 auf 16,8 μM /g. Das bedeutet eine Zunahme um 96%.

In der quergestreiften Muskulatur – gesamte Oberschenkelmuskulatur beider Hinterextremitäten – (Figur 2) ist der Anstieg des Glykogengehaltes schon 3 h nach Reserpin signifikant und erreicht, wie im Herzen, nach 12 h das Maximum. Die Zunahme beträgt 93%.

In der Leber (Figur 2) kommt es 1 h nach der Reserpininjektion zu einer geringfügigen – nicht signifikanten – Abnahme des Glykogengehaltes; nach 3 h ist er gegenüber den Kontrollen etwas erhöht (nicht signifikant); nach 12 h

¹ Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

² H. J. KUSCHKE und J. FRANTZ, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **224**, 269 (1955).

³ K. F. GEY und A. PLETSCHER, *Exper.* **17**, 25 (1961).

⁴ R. A. HOFFMANN, *Amer. J. Physiol.* **195**, 755 (1958).

⁵ L. J. ABOOD und K. L. RAMANCHEK, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **66**, 812 (1957).

⁶ N. V. CARROL, R. W. LONGLEY und J. H. ROE, *J. biol. Chem.* **220**, 583 (1956).

⁷ W. DE STETTEN und M. R. STETTEN, *Physiol. Rev.* **40**, 505 (1960).

⁸ A. ST. G. HUGGET und D. A. NIXON, *Biochem. J.* **68**, 12 P (1956).

⁹ H. D. HORN und F. H. BRUNS, *Biochim. biophys. Acta* **21**, 378 (1956).

¹⁰ G. GERCKEN, *Hoppe-Seyler's Z.* **320**, 180 (1960).

¹¹ W. THORN, G. PFLEIDERER, R. A. FROWEIN und I. ROSS, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 334 (1955).

¹² F. LIPMANN, *Adv. Enzymol.* **N. Y.** **1**, 99 (1941).

¹³ H. BÜCHER, *Adv. Enzymol.* **N. Y.** **14**, 1 (1958).

¹⁴ Die für die enzymatischen Tests verwendeten Fermente wurden von der Firma C. F. Boehringer, Mannheim, bezogen.

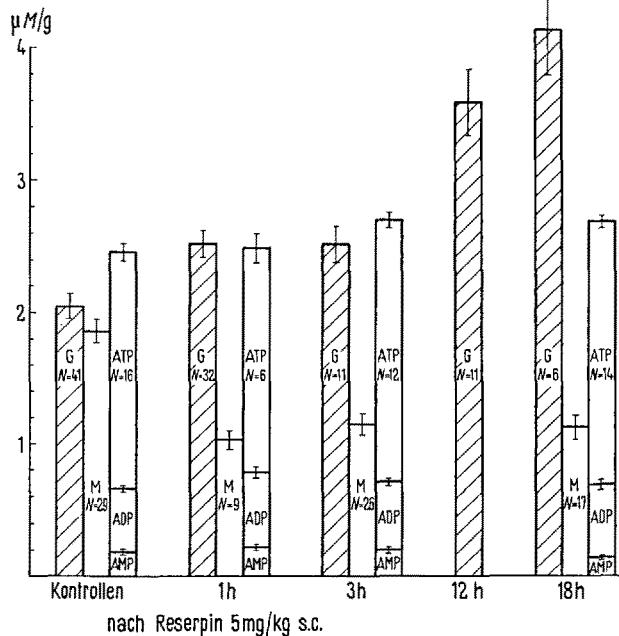


Fig. 1. Einfluss von Reserpine auf den Glykogen-, Milchsäure- und Adenosinphosphatgehalt des Gehirns von Mäusen. G = Glykogen in μM Glucose/g Feuchtgewicht. M = Milchsäure in $\mu\text{M}/\text{g}$. N = Anzahl der Tiere.

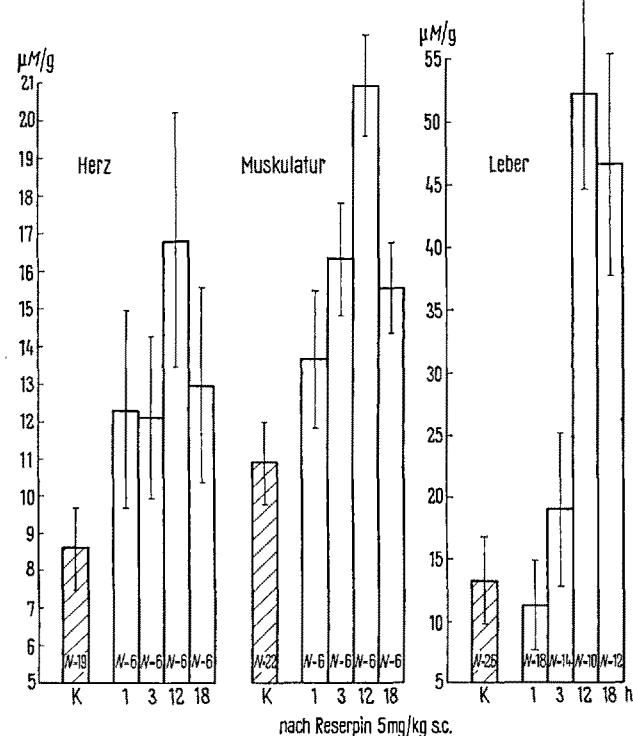


Fig. 2. Einfluss von Reserpine auf den Glykogengehalt des Herzens, der quergestreiften Muskulatur und der Leber (Mäuse). K = Kontrolltiere, N = Anzahl der Tiere.

erreicht er eine maximale Zunahme: von 13,24 auf 52,21 $\mu\text{M}/\text{g}$. Das bedeutet einen Anstieg um 293%.

Die angegebenen Zunahmen des Glykogengehaltes gelten für die mit Trichloressigsäure extrahierbare labile Fraktion («élément variable»). Nur im Gehirn erfuhr auch die mit KOH extrahierbare gebundene Fraktion («élément constant») eine geringfügige Zunahme.

(2) Milchsäure. Der Milchsäuregehalt des Gehirns (Figur 1) hat schon 1 h nach Reserpine signifikant von 1,86 auf 1,02 $\mu\text{M}/\text{g}$, das heisst um 45%, abgenommen und bleibt während der 18stündigen Versuchsdauer unverändert erniedrigt.

(3) ATP. Der ATP-Gehalt des Gehirns (Figur 1) ist 3 und 18h nach Reserpine geringfügig, jedoch signifikant erhöht; in keinem Fall wurde eine Erniedrigung des ATP-Gehaltes gefunden. Auch die ADP- und AMP-Fraktion ist nach 1 und 3 h etwas erhöht (siehe auch SCHWEMMLE und HEIM¹⁶).

Zur Erklärung der von uns erhaltenen Ergebnisse bieten sich vor allem 2 bekannte Wirkungen des Reserpins an: die Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin¹⁶ aus dem Nebennierenmark und die Stimulierung des Hypophysenvorderlappen-Nebennierenrindensystems¹⁷ mit einer vermehrten Produktion von Corticoiden. – Nach Adrenalin ist der Glykogengehalt der Leber – anfänglich erniedrigt – anschliessend erhöht (CORI¹⁸), dem entspricht eine langdauernde Abnahme des Muskelglykogens unter Erhöhung der Blutmilchsäure. Nach Reserpine steigt jedoch gleichzeitig mit dem Leberglykogen auch das Muskelglykogen signifikant an, ebenso wie das Herz- und Gehirnglykogen. – Corticoide stimulieren die Glykogenneubildung aus Nicht-Kohlehydraten (Gluconeogenese). Das wesentliche Ergebnis unserer Untersuchungen, die nach Reserpine in allen Organen erfolgende Zunahme des Gly-

kogengehaltes, findet somit vielleicht seine Erklärung in einer durch Reserpine ausgelösten Förderung der Gluconeogenese, wobei die Aufklärung der zugrunde liegenden Wirkungsmechanismen und des Zusammenspiels der beteiligten körpereigenen Wirkstoffe weiteren Untersuchungen vorbehalten bleibt.

Summary. In fasted white mice, 1–18 h after the injection of 5 mg/kg Reserpine the glycogen content of brain, heart, skeletal muscle and liver is significantly increased (about 100%, in liver nearly 300%). It is suggested that this is due to an enhanced synthesis of glycogen from non-carbohydrate material.

Concerning the underlying mechanism, it is pointed out that after reserpine there occurs a release of catecholamines from the adrenal medulla and – by stimulation of the anterior pituitary – an enhanced production of corticoids.

Simultaneously with the increase of the brain glycogen, the level of lactic acid is decreased, whereas the ATP-, ADP- and AMP-content of the brain remains practically unaffected.

H. BALZER, P. HOLTZ und D. PALM

Pharmakologisches Institut der Universität Frankfurt a. M. (Deutschland), 29. März 1961.

¹⁵ K. SCHWEMMLE und F. HEIM, Med. exp. 1, 351 (1959).

¹⁶ M. HOLZBAUER und M. VOGT, J. Neurochem. 1, 8 (1956).

¹⁷ H. F. WELLS, F. N. BRIGGS und P. L. MUNSON, Endocrinology 59, 571 (1956).

¹⁸ C. F. CORI, Physiol. Rev. 11, 143 (1931).