

**Zusammenfassung.** Es wurde die Aktivität der Cytochromoxydase von Skelettmuskulatur und Zwerchfell intermittierend hungernder Ratten und bei chronisch durch verminderte Tagesrationen unterernährten Ratten untersucht. Bei den an intermittierendes Hungern adaptierten Ratten war die auf den Gewebestickstoff bezogene Aktivität dieses Enzyms um 80–100% erhöht im Vergleich zu den *ad libitum* gefütterten Kontrolltieren. Bei

den einer gewöhnlichen kalorischen Unterernährung ausgesetzten Tieren war die Cytochromoxydaseaktivität praktisch dieselbe wie die der Kontrolltiere.

R. PETRÁSEK

*Physiological Department, Institute of Human Nutrition, Prague (Czechoslovakia), March 29, 1961.*

## Die Wirkung von Persantin auf Herzmuskel-Sarkosomen

Bei der klinischen und experimentellen Anwendung einer neuen coronargefäßerweiternden Verbindung, dem 2,6-Bis-(diäthanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidin, Persantin®, wurden Ergebnisse erhalten, die für einen zusätzlichen Stoffwechseleffekt dieser Substanz sprechen. Neben einer echten Leistungssteigerung des Myocards<sup>1,2</sup> konnte bei dekompensierten Herzinsuffizienzen unter der Persantintherapie ein schnellerer Rückgang der Transaminase-Aktivitäten des Serums sowie ein schnelleres Absinken der erhöhten Milchsäure- und Brenztraubensäure-Spiegel im Blut beobachtet werden<sup>3,4</sup>. Es wurde ein direkter Eingriff in energieliefernde Stoffwechselprozesse vermutet, da beim Hund nach hypoxämischer Schädigung des Herzens die erniedrigten ATP-Werte der Herzmuskulatur unter Persantin deutlich anstiegen<sup>5</sup>. Persantin inhibiert nach Siess den Erschöpfungs- und Energiemangelstillstand des Rattenvorhofs, eine Beobachtung, welche von ihm auf Stoffwechsel-Effekte zurückgeführt wird<sup>6</sup>.

Im Stoffwechsel erfolgt der Aufbau energiereicher Phosphatverbindungen vom Typ der ATP hauptsächlich durch oxydative Phosphorylierung in den Mitochondrien. Wir untersuchten deshalb den Einfluss verschiedener Konzentrationen von Persantin auf die oxydative Phosphorylierung von Herzmuskel-Mitochondrien (Sarkosomen) *in vitro*.

Die Sarkosomen wurden aus frischen Rinderherzen nach einer früher beschriebenen Methode isoliert; gleiches gilt auch für die Messung der P/O-Quotienten mit Succinat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat und Ketoglutarat/Malonat im Warburg-Versuch<sup>7,8</sup>. Insgesamt wurden 130 Manometer-Gefäß-Versuche durchgeführt. Neben frisch isolierten und morphologisch wie funktionell intakten Sarkosomen wurden vergleichsweise auch künstlich geschädigte Sarkosomen in die Versuche eingesetzt. Die Schädigung erfolgte durch Lyophilisierung und Resuspendierung frischer Sarkosomenfraktionen. Dadurch entstanden strukturelle Schäden der Partikel (Quellungen, partieller Zerfall) mit entsprechenden Funktionsausfällen (Senkung der P/O-Quotienten). Ähnliche morphologische Schäden und Funktionsausfälle bestehen auch *in vivo* bei Sarkosomen im hypoxämischen Myocard<sup>9–11</sup>. Eine eingehende Beschreibung der Versuche erfolgt an anderer Stelle.

**Ergebnisse.** Wie die Tabelle I zeigt, wurde durch steigende Konzentrationen von Persantin bei frisch isolierten Sarkosomen die Sauerstoffaufnahme mit Succinat als Substrat zunächst stärker gesenkt als die Phosphataufnahme. Dadurch kam es zu einem geringen, statistisch jedoch nicht gesicherten Anstieg der P/O-Quotienten. Bei  $\beta$ -Hydroxybutyrat und Ketoglutarat/Malonat als Substrate war die Senkung der Sauerstoffaufnahmen unter Persantin sowohl bei Sarkosomen als auch bei Lebermitochondrien deutlich stärker und führte sogar zu einer *signifikanten* Steigerung der P/O-Quotienten (Tabelle II).

Konzentrationen ab  $10^{-4}$  m Persantin/Ansatz hemmten dann bei allen Substraten die Phosphorylierung signifikant und zunehmend stärker als die Atmung.

Völlig anders verhielten sich geschädigte Sarkosomen unter Persantin: bei unveränderter Atmung wurde schon durch  $1 \times 10^{-6}$  bis  $5 \times 10^{-6}$  m Persantin/Ansatz die Phosphataufnahme gesteigert, die P/O-Quotienten stiegen um

Tab. I. Phosphat- und Sauerstoffaufnahmen von Rinderherz-Sarkosomen mit Succinat (0,005 m) als Substrat unter Persantin. 42 Versuche (24/18). Sarkosomen: 0,5 bzw. 0,8 mg N/Ansatz. Aufnahmen in  $\mu$ g-Atomen. Die mit einem \* bezeichneten P/O-Quotienten sind gegenüber der Kontrolle signifikant erhöht.

Molarität von Persantin im Ansatz	Frisch isoliert			Geschädigt (Lyophilisat)		
	P	O	P/O	P	O	P/O
Kontrolle	3,74	2,14	1,75	1,54	1,50	1,03
$1 \times 10^{-6}$	3,78	2,10	1,80	2,84	1,50	1,90*
$5 \times 10^{-6}$	3,87	1,97	1,86	2,84	1,50	1,90*
$1 \times 10^{-5}$	3,60	1,90	1,89	2,32	1,50	1,55
$1 \times 10^{-4}$	2,88	1,63	1,77	0,40	1,31	0,31
$1 \times 10^{-3}$	1,61	1,22	1,32	0,00	0,54	0,00

Tab. II. Beeinflussung der Phosphat- und Sauerstoffaufnahmen frisch isolierter Rinderherzsarkosomen durch Persantin bei Ketoglutarat/Malonat (je 0,01 m) und  $\beta$ -Hydroxybutyrat (0,01 m) als Substrate. 24 Versuche. Sarkosomen-N/Ansatz 0,68 mg bzw. 0,5 mg.

Molarität von Persantin im Ansatz	Ketoglutarat/Malonat			$\beta$ -Hydroxybutyrat		
	P	O	P/O	P	O	P/O
Kontrolle	4,20	1,28	3,28	2,41	1,04	2,32
$1 \times 10^{-6}$	4,22	1,26	3,35	2,45	1,06	2,31
$5 \times 10^{-6}$	4,04	1,18	3,42	2,40	0,99	2,42
$1 \times 10^{-5}$	4,00	1,15	3,48	2,50	0,94	2,66*
$1 \times 10^{-4}$	3,82	1,01	3,78*	2,22	0,78	2,85*
$1 \times 10^{-3}$	1,89	0,74	2,55	1,20	0,62	1,94

<sup>1</sup> H. W. KNIPPING, W. BOLT und K. MIKULICZ, Arzneimittelforsch. 10, 364 (1960).

<sup>2</sup> L. DÜTSCH, Ther. Gegenw. 99, 228 (1960).

<sup>3</sup> E. ALBACH, Med. Welt 1960, 993.

<sup>4</sup> S. GREIF, Wien. med. Wschr. 110, 463 (1960).

<sup>5</sup> TH. HOCKERTS und G. BÖGELMANN, Arzneimittelforsch. 9, 47 (1959).

<sup>6</sup> M. SIESS, 27. Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Kreislauf-Forschung, Bad Nauheim (1961).

<sup>7</sup> G. LAUDAHN, Z. phys. Chem. 314, 95 (1959); 318, 186 (1960).

<sup>8</sup> G. LAUDAHN und C. J. LÜDERS, Arzneimittelforsch. 10, 978 (1960).

<sup>9</sup> F. BÜCHNER, Schweiz. med. Wschr. 88, 73 (1958).

<sup>10</sup> E. MOELBERT und D. GUERRITORE, Beitr. path. Anat. 117, 32 (1957).

<sup>11</sup> E. MOELBERT, Beitr. path. Anat. 118, 203 (1957).

rund 84% an. Gleichartig war dagegen wieder die Hemmung der Phosphat- und Sauerstoffaufnahmen durch  $10^{-4}$  m Persantin/Ansatz; höhere Konzentrationen führten dann zu einer völligen Entkopplung von Atmung und Phosphorylierung. Alle Versuchsergebnisse waren mit einer Schwankungsbreite der Messwerte von  $\pm 8\%$  gut reproduzierbar.

Die Befunde sprechen dafür, dass Persantin bei geschädigten Sarkosomen eine bessere Sauerstoffutilisation bewirken kann, das heisst zu einer festeren Kopplung von Atmung und Phosphorylierung führt. Bei gleichbleibender Sauerstoffaufnahme steigende P/O-Quotienten bedeuten eine eindeutige Steigerung der ATP-Synthese.

Damit besteht eine deutliche Korrelation zu den Versuchsergebnissen *in vivo*, bei denen eine Zunahme der ATP-Konzentration im geschädigten Myocard unter der Persantintherapie nachgewiesen wurde<sup>5</sup>.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die direkte und günstige Beeinflussung der Sarkosomenfunktion durch Persantin *in vitro* möglicherweise auch die Ursache für die *in vivo* beobachtete Wirkung dieser Substanz auf den Herzstoffwechsel ist.

**Summary.** Addition of Persantin to respiring beef heart mitochondria leads to a considerable increase of the P/O-ratios in the presence of various substrates. Apparently Persantin is capable of bringing about a tighter coupling of oxidation and phosphorylation.

G. LAUDAHN

*Hauptlabor des Städtischen Krankenhauses Berlin-Wilmersdorf, Berlin (Deutschland), 12. Juni 1961.*

### Étude sur le choc produit par le polysaccharide du bacille du colon chez le rat porteur de tumeur (Note préliminaire)

Plusieurs auteurs<sup>1,2</sup> ont déjà signalé assez indépendamment l'observation selon laquelle la présence d'une tumeur augmentait singulièrement la mortalité chez des animaux qui recevaient une certaine quantité de polysaccharide bactérien. Des travaux, comme ceux de JONES et HOWELL<sup>3</sup>, renforcent l'idée d'une sélectivité d'action.

Nous avons utilisé pour cette étude deux vieilles préparations, l'une domestique et l'autre commerciale, de polysaccharides provenant de l'*Escherichia coli*. Ces produits injectés à hautes doses chez la rate porteuse de tumeur provoquaient un choc particulièrement violent et l'animal mourait en 4 à 8 h, tandis que chez des rates ne portant pas de tumeur, des doses beaucoup plus fortes étaient très bien tolérées.

Nos expériences étaient effectuées chez des rates de souche Sprague-Dawley, de 200 à 300 g, porteuses ou non de tumeur (e.g. lymphosarcome de Murphy-Sturm). Les tumeurs employées avaient été repiquées plusieurs dizaines de fois chez des rates de cette souche et ne régresaient jamais spontanément. Dès que la tumeur dépassait la grosseur d'environ 2 cm de diamètre, une injection unique de polysaccharide d'*E. coli* (e.g. souche 0127, Difco, Détroit), à la dose d'une fraction de mg à 10 mg intra-péritonéale, ou à la dose de 10 à 100 mg sous-cutanée, devenait rapidement très meurtrière et les animaux succombaient au cours d'une forme de syndrome d'alarme dont quelques auteurs ont déjà parlé et qui ressemble à celui que provoque une très forte dose de polysaccharide chez un animal sans tumeur. DONNELLY et HAVAS<sup>4</sup> ont déjà d'ailleurs entrepris une étude histologique en rapport plus spécialement avec ce syndrome. Les injections intra-tumorales se montraient encore plus sélectives, mais nous ne les avons utilisées que pour vérifier l'effet des médications adjuvantes dont nous parlons plus loin.

Si la tumeur était trop petite, l'animal entraînait en «stress» aigu au bout de 4 à 6 h, mais dans les heures suivantes ces symptômes disparaissaient et l'animal se rétablissait rapidement.

Chez les rats qui ne portaient pas de tumeur, on pouvait évidemment provoquer un choc violent avec de fortes injections intra-péritonéales, mais nous n'avons jamais tué ces animaux avec des injections sous-cutanées.

Nous avons cherché à définir quelques modalités dans l'apparition de ce choc, surtout en associant d'autres médications susceptibles d'en modifier l'aspect. C'est ainsi que nous avons vu que certaines médications pré-administrées (comme l'hyposulfite de soude, la dibenzylène et l'acide ascorbique), aggravaient le syndrome, tandis que d'autres (comme le chlorure de magnésium, le salicylamide et le composé «S» de REICHSTEIN) pouvaient retarder plus ou moins l'*exitus*. L'examen post-mortem chez les animaux ainsi traités montrait des lésions variées; outre la liquéfaction ou la nécrose hémorragique du centre de la tumeur qui était constante, même sans ces dernières médications, on observait fréquemment un œdème tissulaire généralisé et présence d'une urine très pigmentée dans la vessie, et plus rarement une diarrhée également pigmentée, des surrénales atrophiques, une distension intestinale exagérée et même de la nécrose aiguë du foie.

En général, les hormones stéroïdes que nous avons administrées, jusqu'à des doses de quelques milligrammes, 1 h avant le polysaccharide, malgré leur diversité reconnue d'action (e.g. cortisone, désoxycorticostérone, estradiol, déhydroépiandrostérone, Presuren<sup>5</sup>) et sauf le composé «S» mentionné plus haut, apportaient une protection efficace contre la léthalité et souvent contre le choc. On a déjà partiellement investigué cet effet de protection chez des animaux sans tumeur<sup>6</sup>.

Certaines autres hormones comme l'ACTH, la GTH et la STH, pouvaient protéger de la léthalité, mais le choc général restait souvent violent. Dans le cas des hormones stéroïdes, l'action du polysaccharide au niveau de la tumeur était manifestement atténuée, ce que beaucoup d'auteurs ont déjà noté, du moins avec les glucocorticoïdes<sup>2,7</sup>. On peut facilement vérifier cette action en injectant le polysaccharide dans la tumeur. Dans le cas du

<sup>1</sup> M. J. SHEAR, J. Nat. Cancer Inst. 4, 461 (1943-1944). – P. A. ZAHL, J. Nat. Cancer Inst. 11, 279 (1950-1951). – H. F. HAVAS, A. J. DONNELLY et S. I. LEVINE, Cancer Res. 20, 393 (1960).

<sup>2</sup> H. TAUBER et W. GARSON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 886 (1958).

<sup>3</sup> R. S. JONES et E. V. HOWELL, Amer. J. Pathol. 35, 704 (1959).

<sup>4</sup> A. J. DONNELLY, H. F. HAVAS et M. E. GROESBECK, Cancer Res. 18, 149 (1958).

<sup>5</sup> Presuren: 21-OH prégnane 3,20-dione, Schering AG, Berlin-Ouest.

<sup>6</sup> H. J. BEIN et R. JAKES, Exper. 16, 24 (1960).

<sup>7</sup> S. N. PRADHAN, B. ACHINSTEIN et M. J. SHEAR, Cancer Res. 16, 1062 (1956). – I. C. DILLER, B. BLAUCH et L. V. BECK, Cancer Res. 8, 591 (1948).