

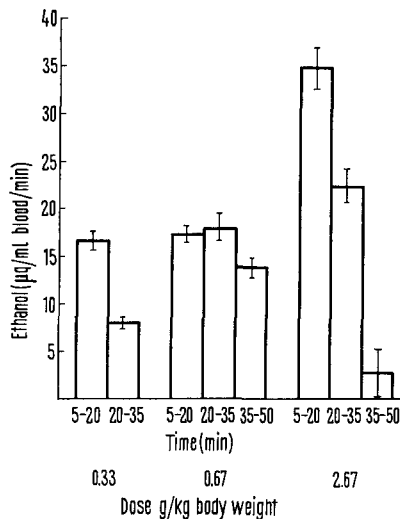
(5–20 min) compared with the rate seen after the lower doses suggests that an alternate metabolic pathway which requires a high concentration of ethanol is coming into play since the lower doses must be presumed to give a concentration of ethanol sufficient to saturate the available alcohol dehydrogenase. Preliminary results from this laboratory indicate that the microsomal mixed function

oxidase system which has been reported to oxidize ethanol⁴ is such a possible pathway. The final period (35–50 min) after this dose is characterized by a very slow rate of ethanol metabolism. This biphasic effect may be explained by assuming that following a large dose of ethanol the limiting factor after the initial period of rapid metabolism becomes the rate of reoxidation of NADH₂. It seems from the results that this reoxidation is slower after a large than after smaller doses which would suggest that the oxidation of NADH₂ can be depressed by rapid ethanol metabolism leading to alternating periods of fast and slow metabolism. Preliminary experiments in the monkey, a species which allows for repeated samples to be taken over a period of hours, have confirmed this pattern after a high (2.67 g/kg) but not after a lower (1.33 g/kg) dose of ethanol⁵. These effects are being investigated⁶.

Zusammenfassung. Nach einer einzelnen intravenösen Dosis von 0,33, 0,67 und 2,67 g/kg Äthanol wurde der Stoffwechsel in Mäusen untersucht. Es wurden dosenabhängige Geschwindigkeiten des Stoffwechsels gefunden.

MARY K. ROACH and P. J. CREAVEN

Texas Research Institute of Mental Sciences,
Texas Medical Center
Houston (Texas 77025, USA), 23 December 1968.



Decline in blood ethanol after i.v. dosage. Mice received 0.33, 0.67 and 2.67 g/kg body wt. i.v. into the tail vein. The rate of disappearance of ethanol from the blood for the periods 5–20, 20–35 and 35–50 min is shown (\pm S.E.M.) for the 3 doses.

⁴ W. H. ORME-JOHNSON and D. M. ZIEGLER, *Biochem. biophys. Res. Comm.* 27, 78 (1965).

⁵ P. J. CREAVEN, M. K. ROACH and G. M. HENDERSON, unpublished observations.

⁶ Supported by grant No. MH 144340-1, U.S. Public Health Service.

Die Wirkung von Na₃[Ca-DTPA] auf den Glykogengehalt von Niere und Leber der Ratte

Bei der systematischen Untersuchung der Pathogenese von Nierenschädigungen bei Ratten durch den Chelatbildner Na₃[Ca-ÄDTA] (Äthylendiamintetraazetat) konnten wir den in der Literatur^{1–7} nicht beschriebenen Befund erheben, dass ÄDTA neben der hydropischen Degeneration auch zu einer auffallenden Zunahme von histochemisch darstellbarem Glykogen in bestimmten Nephronabschnitten führt⁸. Diese Feststellung gab Anlass, bei der vorliegenden Arbeit über die Wirkungen des dem ÄDTA verwandten Na₃[Ca-DTPA] (Diäthylentriamin-pentaazetat) neben den Nieren auch Leber und Darm – als möglicherweise mitbeeinflusste Organe – zu untersuchen. DTPA ist insofern von Interesse, als es jetzt allgemein als Antidot der Wahl bei Vergiftungen mit bestimmten stabilen und radioaktiven Metallionen angesehen wird⁹, was eine weiterführende Analyse (vgl. ^{2, 10, 11}) der allgemeinen toxischen Wirkungen wünschenswert macht.

Versuchstiere waren männliche Ratten des Heiligenberg-Stammes, denen 1, 2, 4 bzw. 8 mmol Na₃[Ca-DTPA] kg⁻¹/d⁻¹ i.p. oder s.c. injiziert wurde. Kontrolltiere erhielten äquimolare Kochsalzlösung. Jeweils 24 h nach einer vorgegebenen Zahl von Injektionen wurden je 5 Tiere durch Äther getötet. Die Fixierung einer 2 mm dicken Querscheibe einer Niere, eines Stückes Duodenum und Leber erfolgte in eiskalter Rossmanscher Lösung. An 7 μ dicken Schnitten wurde die PJS-Reaktion nach Mac-

Manus – zur Glykogenkontrolle nach Diastasebehandlung – durchgeführt; Kernfärbung nach Weigert.

Bereits 24 h nach 1 mm kg⁻¹/d⁻¹ lässt sich in den Zellen der Marksammelrohre eine Glykogenvermehrung nachweisen (Figur 1). Sie nimmt mit den weiteren Injektionen zunächst noch zu, dann wieder ab, wobei dann in der ganzen Henleschen Schleife Glykogen auftritt (Figuren 2 und 3).

¹ H. FOREMAN, C. FINNEGAN und C. C. LUSHBAUGH, *J. Am. med. Ass.* 160, 1042 (1956).

² A. CATSCH, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* 246, 316 (1964).

³ M. D. REUBER, *Arch. Path.* 76, 44 (1963).

⁴ M. D. REUBER, *Arch. environm. Hlth.* 15, 141 (1967).

⁵ M. D. REUBER und J. E. BRADLEY, *J. Am. med. Ass.* 174, 263 (1960).

⁶ M. D. REUBER und G. C. SCHMIELER, *Arch. environm. Hlth.* 5, 430 (1962).

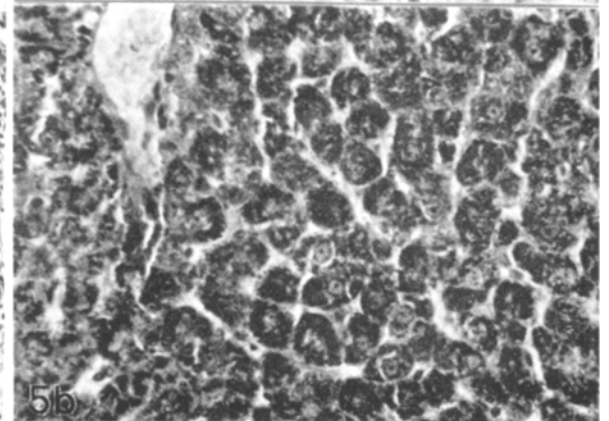
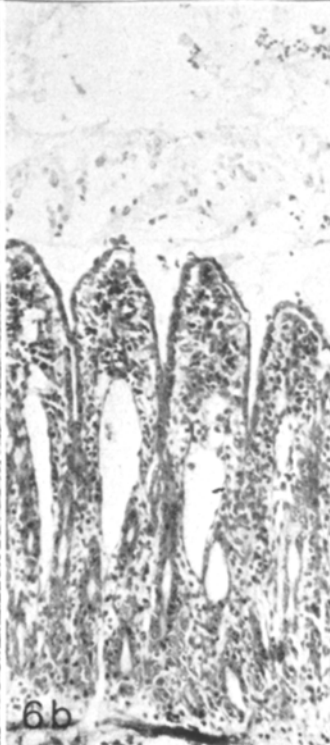
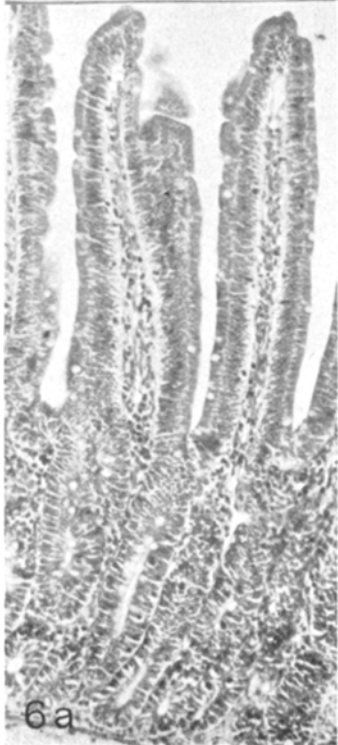
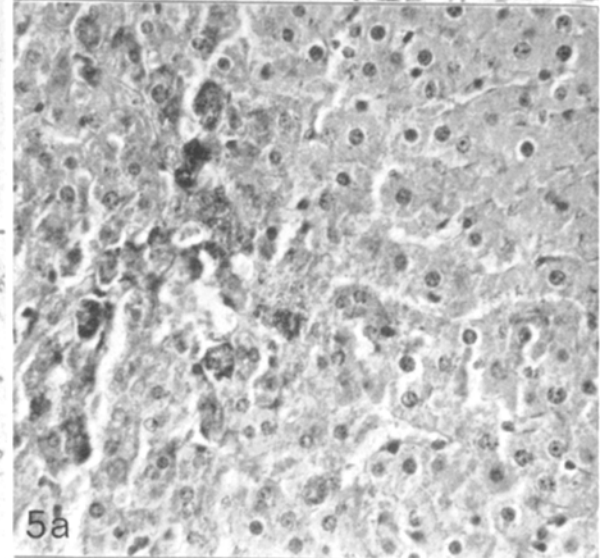
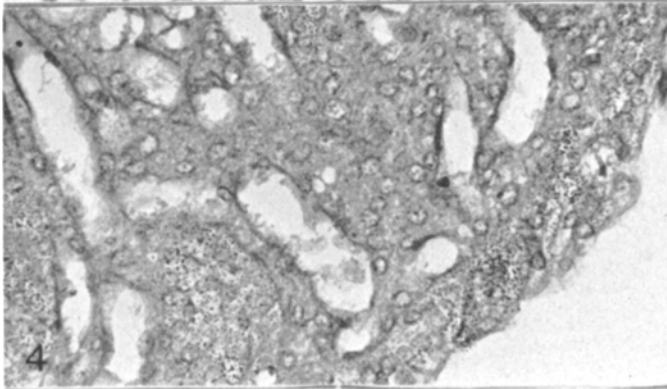
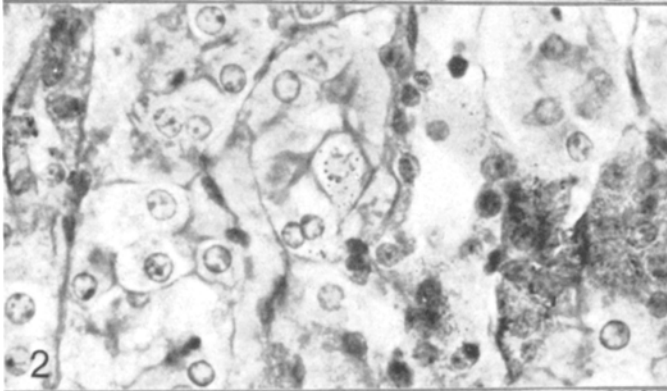
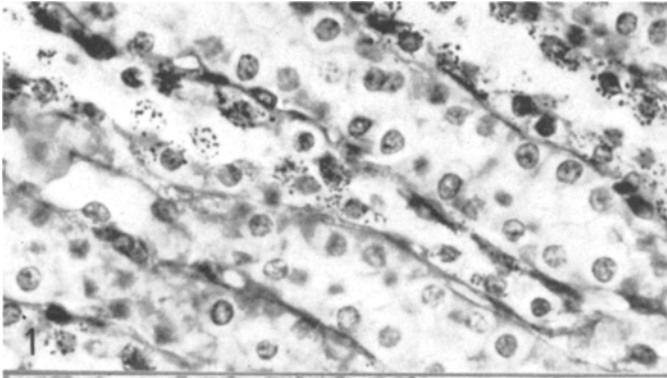
⁷ M. D. REUBER und C. W. LEE, *Arch. environm. Hlth.* 13, 554 (1966).

⁸ K. M. WEBER, *Experientia* 24, 203 (1968).

⁹ A. CATSCH, *Naturwissenschaften* 55, 437 (1968).

¹⁰ H. FOREMAN, C. C. LUSHBAUGH, M. MAGEE und G. HUMANSOHN, *LAMS-2445*, 67 (1960).

¹¹ P. D. DOOLAN, S. L. SCHWARTZ, J. R. HAYES, J. C. MULLEN und N. B. CUMMINGS, *Toxic. appl. Pharmacol.* 10, 481 (1967).



In der Leber ist nach 1×1 mmol eine Glykogenabnahme zu erkennen. Die mit der Zahl der Injektionen fortschreitende Abnahme beginnt im Zentrum der Leberläppchen, und bei moribunden Tieren (die Tiere überleben höchstens 9 Injektionen) enthalten nur noch die Zellen um die Interlobularvenen Glykogen (Figur 5). Die gleichen Veränderungen treten auch bei den höheren Dosen auf; sie entwickeln sich annähernd proportional der Dosis rascher und in stärkerem Ausmass, so dass die Leber zuletzt immer eine völlig negative Schiff-Reaktion zeigt. Zudem treten bei den hohen Dosen noch Besonderheiten auf, indem nämlich ausser in Henleschen Schleifen und Sammelrohren auch im Papillenepithel und in vakuolisierten Zellen von geraden Teilen des proximalen Tubulus Glykogengranula nachweisbar sind (Figuren 2 und 4). Im Vergleich zu ÄDTA⁸ führt DTPA bei allen Dosen zu einer stärkeren und schnelleren Glykogenzunahme in der Niere sowie zu einer schnelleren und vollständigeren Glykogenabnahme in der Leber.

Bei der Erklärung der Nierenbefunde ist, wie auch im Falle von ÄDTA⁸, auf die Ähnlichkeit mit der Zuckerspeicher- bzw. Diabetesniere¹² hinzuweisen. Ob und wie die Glykogenabnahme der Leber mit der Zunahme in der Niere in Beziehung steht, lässt sich nicht sagen. Bei orientierenden Versuchen zeigte sich eine kurzfristige, bei DTPA stärker als bei ÄDTA ausgeprägte Blutzuckererhöhung. Für eine direkte Wirkung des Chelats auf die Leber und/oder den Kohlenhydratstoffwechsel, die zur Glykogenverarmung führen könnte, gibt es noch keine

Anhaltspunkte. Die Glykogenverarmung der Leber könnte andererseits eine Folge von Mangelerkrankung sein. Das wäre weniger auf geringere Fresslust der Tiere zurückzuführen, da die Mägen immer prall mit Nahrungsbrei gefüllt sind, als vielmehr auf die starke Schädigung des Darmes, die wahrscheinlich eine gestörte Resorptionsfähigkeit bedingt. Diese Schädigung wird zunächst an einer Vakuolisierung der Mukosazellen und an der Ab-rundung der Kerne kenntlich. Sie resultiert in Verkürzung der Villi, deren Gefässe stark dilatiert sind, sowie in einer auffallenden Zellverarmung der Krypten (Figur 6).

Die Beobachtung einer Darmschädigung nach DTPA wird hier erstmals mitgeteilt. Ihr kommt insofern Bedeutung zu, als sie neben anderen Hinweisen (WEBER¹³) Anhaltspunkt dafür ist, dass die letale Wirkung der Chelatbildner ÄDTA und DTPA nicht nur durch Schädigung der Nieren bedingt ist (vgl. ¹⁴). In diesem Zusammenhang ist auch der folgende vorläufige Befund mitzuteilen, der zwar noch keiner Erklärung zugänglich ist, der aber auf die Darmschädigung als eine Ursache der Glykogenvermehrung in der Niere hinweist: Lässt man normale Tiere 3 Tage hungern, so findet sich neben der zu erwartenden raschen Glykogenabnahme in der Leber eine Glykogenzunahme in den Nieren, die eine ähnliche Verteilung hat wie bei Chelat-behandelten Tieren¹⁵.

Summary. DTPA, a derivative of EDTA, in doses of 1, 2, 4, and 8 mmoles $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$ causes a histochemically detectable increase of glycogen in the kidneys and a decrease of glycogen in the liver of rats. Furthermore, a severe damage of the intestinal mucosa has been demonstrated; its possible relevance for the pathogenesis of the other findings is discussed.

K. M. WEBER

*Institut für Strahlenbiologie,
Kernforschungszentrum, Postfach 3640,
75 Karlsruhe 1 (Deutschland), 4. Februar 1969.*

Fig. 1. Mark mit glykogenhaltigen Sammelrohren. 1×1 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$. PJS-Weigert, 7 μ . $\times 375$.

Fig. 2. Innere Rinde mit Glykogen in distalen Tubuli (links), in vakuolisierten Zellen eines Pars rectus des proximalen Tubulus (Mitte) und in einem Sammelrohr (rechts). 3×8 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$. PJS-Weigert, 7 μ . $\times 375$.

Fig. 3. Rinde (Übersicht) mit Glykogen in distalen Tubuli. 3×8 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$. PJS-Weigert, 7 μ . $\times 224$.

Fig. 4. Glykogen in der Papillenspitze. 3×8 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$. PJS-Weigert, 7 μ . $\times 375$.

Fig. 5. Leber. (a) Glykogenhaltige Zellen in der Nähe einer Interlobularvene. 8×1 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$; (b) Kontrolle. PJS-Weigert, 7 μ . $\times 208$.

Fig. 6. Duodenum. (a) Kontrolle; (b) 4×4 mmol DTPA $\text{kg}^{-1}/\text{d}^{-1}$. Masson-Trichrom nach Goldner, 5 μ . $\times 140$.

¹² H. U. ZOLLINGER, *Niere und ableitende Harnwege. Spezielle pathologische Anatomie* (Ed. W. DOERR und E. UEHLINGER; Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1966), vol. 3.

¹³ K. M. WEBER, in Vorbereitung.

¹⁴ F. A. AHRENS und A. L. ARONSON, *Fedn Proc.* 27, 465 (1968).

¹⁵ Dank für gute technische Hilfe schulde ich Frau H. BOHNE.

Tetrazolium Salts: Adrenergic Blockade by Blue Tetrazolium

We recently reported antagonism of acetylcholine-induced contraction of the frog's rectus abdominis muscle by 2:3:5:triphenyl-tetrazolium chloride¹. In view of this observation, pharmacological evaluation of tetrazolium salts was undertaken. In the course of experiments with a ditetrazole-3,3'-(4,4'-di-*o*-anisidene)-bis (2,5-diphenyl) ditetrazolium chloride, commonly known as blue tetrazolium (BT), an interesting finding emerged: when BT was administered i.v., epinephrine-induced contraction of the cat nictitating membrane and pressor response to epinephrine in cats, and rats were inhibited.

Methods. Six cats (2–4.5 kg) of either sex and 18 male rats (150–250 g) were used. Animals were anesthetized with urethane (1.4 g/kg) i.m. and ventilated artificially by a respiratory pump. Carotid arterial blood pressure was recorded through mercury manometer on a kymograph. Movements of the cat nictitating membrane were recorded on smoked paper with isotonic levers fitted with

¹ B. BASURAY and P. S. CHAUHAN, *Experientia* 24, 1124 (1968).