

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 Papilleneithel 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 Abdrückung 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).

frontal writing points. BT (BDH) was dissolved in minimum amount of ethyl alcohol and diluted with 0.9% sodium chloride solution. Drugs were injected into the femoral vein through a polythene cannula and flushed in with saline. Control graded responses of blood pressure in both the species and cat nictitating membrane to epinephrine were determined prior to BT administration.

Results and discussion. Intravenous injection of BT (10–200 $\mu\text{g/kg}$) produced transient fall in blood pressure of rats and cats. The depressor response diminished after repeated administration indicating occurrence of tachyphylaxis. Pressor response to epinephrine was antagonized within few minutes after BT administration. Extent of antagonism was dependent upon the dose of BT injected.

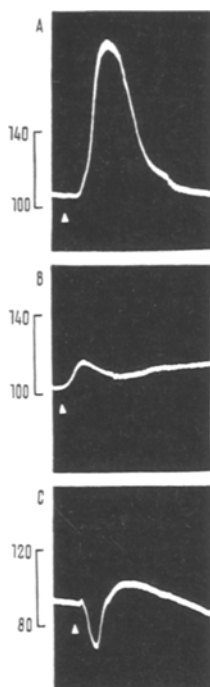


Fig. 1. Effect of BT on the action of epinephrine on rat blood pressure. Response to 2 $\mu\text{g/kg}$ epinephrine before (A) and 10 min after (B) 100 $\mu\text{g/kg}$ BT administration. Fall in blood pressure (C) caused by 10 $\mu\text{g/kg}$ epinephrine was obtained after another 100 $\mu\text{g/kg}$ of BT. White triangles denote place of epinephrine injections. Scale for blood pressure is in mm Hg.

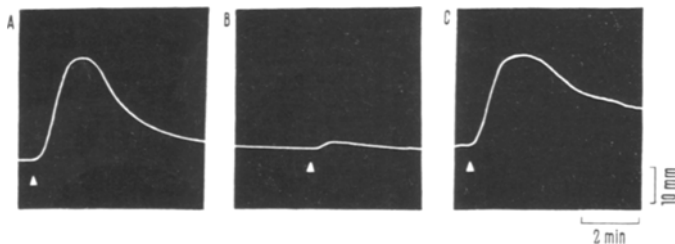


Fig. 2. Records of contraction of the nictitating membrane in response to 2 $\mu\text{g/kg}$ of epinephrine before (A) and 10 min after (B) 100 $\mu\text{g/kg}$ BT. Note restoration of the response by 80 $\mu\text{g/kg}$ of epinephrine (C) after another 100 $\mu\text{g/kg}$ of BT. 80 $\mu\text{g/kg}$ of epinephrine did not induce any toxic effect on heart, after BT treatment. White triangles denote place of epinephrine injections.

A dose of 100 $\mu\text{g/kg}$ of BT in rats was sufficient to reduce the pressor effects of epinephrine (2 $\mu\text{g/kg}$) to the extent of 70–100% within 10 min. After administering 200 $\mu\text{g/kg}$ of BT, in 12 rats control pressor response could be restored by injecting higher doses of epinephrine, however in another 6 rats epinephrine failed to produce rise in blood pressure and induced transient depressor response (Figure 1).

Experiments on cats showed antagonism of epinephrine response on blood pressure and nictitating membrane by BT. A dose of 100 $\mu\text{g/kg}$ of BT blocked the effects of epinephrine (2 $\mu\text{g/kg}$) to the extent of 60–90%. Relatively higher doses of BT (200 $\mu\text{g/kg}$) caused reversal of the pressor response in 5 out of 6 cats. BT did not cause contraction of the nictitating membrane. Antagonism of epinephrine-induced contraction of the membrane depended on the dose of BT administered and reduced response could be restored by administering higher doses of epinephrine (Figure 2). After BT induced reversal of the pressor response in cats, however, higher doses of epinephrine failed to produce rise in blood pressure but contraction of the nictitating membrane showed dose-response relationship. Construction of the dose-response curves on nictitating membrane before and after BT administration showed parallel shift, and ratio of the doses of epinephrine producing equal response before and after administering 200 $\mu\text{g/kg}$ of BT was 36.

Adrenergic blockade appeared within 2 min and lasted over 3 h depending upon the dose of BT (10–200 $\mu\text{g/kg}$) administered. Optimum time for maximum blockade was 10–20 min. In case of relatively very high doses of BT (above 4 mg/kg), animals died of cardiac failure within 2–3 h after injection.

Results of the present study demonstrate that BT can antagonize pressor response and contraction of the nictitating membrane elicited by epinephrine suggesting α -adrenergic receptor blocking property of this salt. This information does not seem to have been reported previously to the author's knowledge and may have some bearing on considerations concerning structural requirements of adrenergic blocking drugs. Another point of interest regarding the findings of this study emerges in view of the critical biochemical interactions of tetrazolium salts with the electron transport chain^{2,3} and as uncoupler of the oxidative phosphorylation^{4,5}.

Zusammenfassung. Tetrazoliumblau blockiert die α -Rezeptoren. An der Nickhaut scheint diese Wirkung kompetitiv zu sein.

P. S. CHAUHAN

Indian Institute of Experimental Medicine,
Calcutta-32 (India), 31 January 1969.

² C. L. TALESARA and M. C. BLANCHARD, *Can. J. Biochem.* 45, 299 (1967).

³ A. F. BRODIE and J. S. GOTS, *Science* 116, 588 (1952).

⁴ J. B. CLARK, A. L. GREENBAUM and T. F. SLATER, *Biochem. J.* 94, 475 (1965).

⁵ Expert technical assistance given by SHRI S. C. SHARMA is gratefully acknowledged. Author is thankful to Drs. C. K. ARORA and A. G. DATTA for valuable help and Director, Indian Institute of Experimental Medicine for facilities.