

Die Verstärkung der pressorischen Vasopressin-Reaktion durch 2-Mercaptoäthylguanidin bei der Ratte

Die biologisch aktive Form des 2-(2-Aminoäthyl)-thiopseudoharnstoff-dihydrobromids (AET), das 2-Mercaptoäthylguanidin-HBr. (MEG)¹, beeinflusst in dem Dosisbereich, in dem sie als Strahlenschutzmittel verwendet wurde, den Blutdruck der Ratte^{2,3}. Durch MEG werden die übliche Blutdrucksenkung nach Azetylcholin in eine biphasische Reaktion² und die pressorische Adrenalinreaktion in eine depressorische Reaktion³ umgewandelt. Im folgenden wird über die MEG-Wirkung auf den durch Vasopressin hervorgerufenen Blutdruckanstieg⁴⁻⁶ bei der Ratte berichtet.

Methodik. 30 männliche Wistar-Ratten (Institutszucht) mit einem Körpergewicht von 250–300 g wurden in Urethannarkose (1,25 g/kg s.c.) untersucht. Der Blutdruck der a. carotis wurde durch ein Statham-Element P 23 Dd auf einem Enographen (Rhode u. Schwarz) registriert. AET (Schuchardt), in 0,9%iger NaCl-Lösung, die durch Zugabe von NaHCO₃ auf pH 7,0 gebracht wurde (Umwandlung in MEG), sowie Hexamethonium und Guanethidin (Ismelin/Ciba) wurden in die v. femoralis, Vasopressin (Pitressin/Parke, Davis and Co.) wurde in die v. jugularis injiziert.

Ergebnisse. 5–50 mIE/kg Vasopressin, injiziert in 0,01 bis 0,1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung, rufen bei der Ratte einen Blutdruckanstieg von etwa 5–25 mm Hg hervor. Nach dem Abklingen einer durch langsame i.v. Injektion von 100–300 mg/kg (10–15 mg/kg/min) MEG bedingten Hypotension mit einer Dauer von 10–15 min tritt eine Verstärkung der pressorischen Vasopressin-Reaktion bei den obenerwähnten Dosen des Hormons auf (Figur). Es lässt sich eine schwache Tachyphylaxie nach wiederholten Injektionen des Vasopressins vor und nach MEG beobachten. Bei einer Kontrollinjektion von 0,1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung vor und nach MEG zeigt der Blutdruck keine Veränderung.

Durch eine quantitative Analyse wurde festgestellt, dass 200 mg/kg MEG eine signifikante Verstärkung der Reaktion nach der Gabe von 5–50 mIE/kg Vasopressin bewirkt (Tabelle); die Reaktion von 20 mIE/kg Vasopressin wird durch 100 mg/kg MEG nicht signifikant verstärkt ($P > 0,05$).

Einige Ratten wurden mit 5–10 mg/kg Hexamethonium i.v. oder 20 mg/kg Guanethidin i.v. vorbehandelt. Beide Pharmaka haben keinen sichtbaren Einfluss auf den pressorischen Vasopressineffekt. Die Verstärkung der Vasopressinreaktion nach MEG tritt auch bei den mit diesen Pharmaka vorbehandelten Tieren auf.

Diskussion. MEG steigert ähnlich wie Dibenamin⁶ oder wie eine Kochsalzverfütterung⁷ die Empfindlichkeit von Ratten gegenüber Vasopressin, bei annähernd «physiologischer Dosierung»⁸. Bei Hunden wurde die pressorische

Reaktion auf Vasopressindosen von 0,3–1,0 IE/kg, durch Reserpin^{11,12} und auf Dosen von 0,1 IE/kg durch Tolazolin und Dibenamin¹³ verstärkt.

Die Vasopressinsensibilisierung nach MEG beruht wahrscheinlich nicht auf einer Verstärkung der durch Katecholaminfreisetzung bedingten indirekten Effekte des Hormons^{14,15}, da der Verstärkungseffekt des MEG auch nach Vorbehandlung der Ratten mit Hexamethonium und Guanethidin erhalten bleibt. Ferner ist bekannt, dass MEG adrenolytische³ und ganglioplegische¹⁶ Eigenschaften aufweist.

Man könnte annehmen, dass die Vasopressinverstärkung dadurch entsteht, dass MEG die Inaktivierung des Hormons hemmt. Möglicherweise sind für die Reaktion auch Membranpermeabilitätsänderungen von Bedeutung, da dem MEG verwandte Mercaptoverbindungen¹⁷ sowie das Vasopressin selbst^{18–20} die Zellmembranen beeinflussen.

¹ J. X. KHYM, D. G. DOHERTY und R. SHAPIRA, J. Am. chem. Soc. 80, 3342 (1958).

² H. J. SCHLIEP und M. CH. MICHAÏLOV, Prog. biochem. Pharmac. 7, 249 (1965).

³ J. LECOMTE und Z. M. BACQ, Archs int. Pharmacodyn. Théor. 158, 480 (1965).

⁴ D. N. PATON und A. WARTON, J. Physiol. 44, 413 (1912).

⁵ P. HOLTZ, J. Physiol. 76, 149 (1932).

⁶ J. DEKANSKI, Br. J. Pharmac. 7, 567 (1952).

⁷ L. H. HONORÉ und D. L. GARDNER, Archs int. Pharmacodyn. Théor. 164, 173 (1967).

⁸ Die Rattenhypophyse enthält $368 \pm 8,3$ mIE/100 g Körpergewicht Vasopressin⁹ und die isolierte Rattenhypophyse kann über 0,5 mIE/min ADH speichern¹⁰.

⁹ T. SAKAI, J. physiol. Soc. Japan 24, 491 (1962).

¹⁰ W. W. DOUGLAS und A. M. POISNER, J. Physiol. 172, 1 (1964).

¹¹ P. N. PATIL, A. TYE und J. W. NELSON, J. Am. pharm. Ass., Sci. Ed. 53, 684 (1964).

¹² H. WEIDMANN und A. CERLETTI, Helv. physiol. pharmac. Acta 19, C119 (1961).

¹³ Z. SUPEK, B. UROIC, V. GJURIŠ und N. MARIJAN, J. Pharm. Pharmac. 14, 284 (1962).

¹⁴ C. B. NASH, Experientia 19, 649 (1963).

¹⁵ C. B. NASH, Pharmacologist 4, 150 (1962).

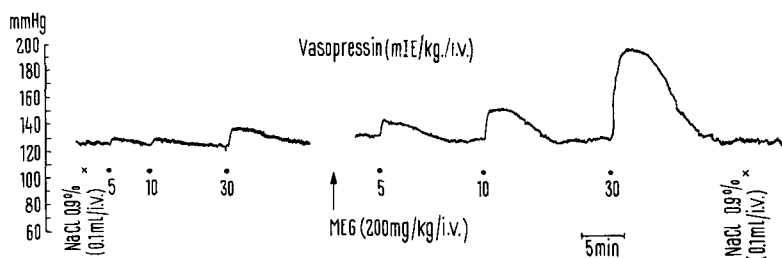
¹⁶ V. DI STEFANO, D. E. LEARY und D. G. DOHERTY, J. Pharmac. exp. Ther. 177, 425 (1956).

¹⁷ G. E. DAVIES und J. S. LOWE, Br. J. Pharmac. Chemother. 27, 107 (1966).

¹⁸ I. L. SCHWARTZ, H. RASMUSSEN, J. MARC AURELE und D. CHRISTIAN, in *The Biochemical Aspects of Hormone Action* (Ed. A. EISENSTEIN; Little, Brown, Boston 1964).

¹⁹ J. D. ROBINSON, Nature 212, 199 (1966).

²⁰ K. WIŚNIEWSKI und A. DANYSZ, Biochem. Pharmac. 15, 504 (1966).



Verstärkung der pressorischen Vasopressinreaktion.

	Anzahl Ratten	Ohne Vor- behandlung mit MEG	Nach Vor- behandlung mit 200 mg/kg MEG	
Mittlerer Blutdruck in mm Hg	18	114,7 ± 2,9 ^a	129,6 ± 3,9	
Vaso- pressin (pro kg Körper- gewicht)	Anzahl Versuche	Pressorische Reaktion auf Vasopressin (mm Hg)	Pressorische Reaktion auf Vasopressin (mm Hg)	P nach t-Test
5 mIE	8	7,5 ± 0,8	15,4 ± 1,6	< 0,001
10 mIE	8	13,8 ± 1,6	26,6 ± 1,2	< 0,001
20 mIE	15	21,8 ± 0,9	47,8 ± 3,6	< 0,001
30 mIE	2	23,3 ± 4,4	58,3 ± 4,4	< 0,002
50 mIE	2	27,7 ± 1,5	62,7 ± 3,7	< 0,001

^a Mittlere Abweichung des Mittelwertes.

Summary. 2-mercaptoethylguanidin enhances the blood pressure responses to small doses of vasopressine in the rat. This potentiation is statistically significant. The increase of the vasopressine reaction after 2-mercaptoethylguanidin is not due to an indirect effect of vasopressine on the cardiovascular system.

M. CH. MICHAÏLOV²¹
mit technischer Assistenz von
Frl. A. RIOTTE und Frl. U. WELSCHER

*Institut für Biologie
der Gesellschaft für Strahlenforschung,
Neuherberg bei München (Deutschland),
2. September 1968.*

²¹ Herrn Professor Z. M. BACQ danken wir für seine wertvollen Hinweise.

Comparative Pathology after Intrathecal Endotoxin in the Rabbit, Dog and Monkey

Intravenous administration of gram negative bacterial endotoxins into mammals results in a syndrome which resembles septic shock in man. Since much smaller doses of intrathecal^{1,2} or intracarotid³ endotoxin are required for shock and death, several investigators have suggested that endotoxin acts primarily on the central nervous system (CNS)¹⁻⁴. However, an increased sensitivity to endotoxin via the cerebrospinal route does not necessarily indicate that its systemic action is mediated via the CNS.

ZWEIFACH⁵ has emphasized that mammalian species differ in their responses to intravenous endotoxin and that a common mode of action for endotoxin in a variety of species has not been found. If endotoxin transmits its effects via the CNS, the pathological changes should resemble those following systemic administration and the changes should be specific to the species. This study investigates the pathological changes induced by CNS and intravenous endotoxin in 3 species of animals.

Methods. *E. coli* endotoxin was prepared from strain 0111:4B organisms by the method of MACLEAN and WEIL⁶. This insoluble material prevented the systemic absorption of endotoxin from the cerebrospinal fluid spaces^{7,8}. Its activity was retained in saline suspension in a concentration of 17 mg/ml while stored in sterile vials at -20°C. The intracisternal LD₅₀ dose was then introduced into the cisterna magna of dogs and monkeys anesthetized with i.v. sodium pentobarbital (30 mg/kg). During cisternal injection, rabbits were manually restrained. Controls were given cisternal injections of saline and blood. Complete autopsies were performed as soon after death as possible in the CNS endotoxin treated animals that died 12-24 h after injection. Since none of the control animals died, these animals were killed 72 h after the experiment with large i.v. injections of sodium pentobarbital. All organs were weighed, examined grossly, and the tissues fixed in buffered formalin. Paraffin embedded sections were cut at 5 µ and were stained with hematoxylin and eosin. Nervous tissue was stained with luxol fast blue-hematoxylin-eosin.

Results. In Table I a comparison is made of the amounts of intrathecal LD₅₀ and i.v. LD₅₀ administered to adult mongrel dogs, rhesus monkeys, and albino New Zealand rabbits. Intracisternal endotoxin was far more toxic.

Pathological changes following endotoxin were similar in all 3 species. None of the sections revealed the presence

of intramedullary or intracortical nuclear lesions. Minimal acute meningeal reaction was observed at the site of needle puncture.

The most striking abnormality at autopsy was massive hemorrhagic pulmonary edema. Table II lists the mean lung/heart weight ratio in the 3 species for controls and animals with CNS endotoxin. Grossly the pleural surfaces of the lungs were congested and mottled, and blood and edema fluid could easily be expressed on section. Microscopic examination revealed intra-alveolar and interstitial hemorrhage and edema.

The pericardial sac frequently contained small amounts of serosanguinous fluid. The epicardial surface of the heart contained punctate hemorrhages. The left atrium was usually dilated. Subendocardial hemorrhages were present in both ventricles, especially the right. Valvular lesions and focal myocardial necrosis were found only in dog hearts. None of the animals developed myocardial zonal lesions, which are usually found in systemic endotoxin shock⁹.

In all animals the livers appeared severely congested without the development of lobular necrosis, and the kidneys were hyperemic at the cortico-medullary junction. Microscopically, congestion of glomerular capillaries was present, but there was no evidence of fibrin thrombi. Hemorrhages were found at the cortico-medullary junction of the adrenal with a few areas of necrosis scattered throughout the adrenal cortex in all 3 species.

The mucosa in the gastrointestinal tract of all species was hyperemic, and a few areas were superficially ulcer-

¹ C. PALMERIO, B. ZETTERSTROM, J. SHAMMASH, E. EUCHBAUM, E. FRANK and J. FINE, *New Engl. J. Med.* 269, 709 (1963).

² A. PENNER and A. I. BERNHEIM, *J. exp. Med.* 111, 145 (1960).

³ E. H. KASS, R. P. ATWOOD and P. J. PORTER, *Bacterial Endotoxins* (Ed. W. BRUAN and M. LANDY; Rutgers University Press 1964), p. 576.

⁴ A. PENNER and S. H. KLEIN, *J. exp. Med.* 96, 59 (1952).

⁵ B. W. ZWEIFACH and A. JANOFF, *Ann. Rev. Med.* 16, 201 (1965).

⁶ L. D. MACLEAN and M. H. WEIL, *Circulation Res.* 4, 546 (1956).

⁷ R. L. SIMMONS, T. B. DUCKER, A. M. MARTIN JR., R. W. ANDERSON and H. E. NOYES, *Ann. Surg.* 167, 145 (1968).

⁸ R. L. SIMMONS, R. W. ANDERSON, T. B. DUCKER, H. K. SLEEMAN, J. A. COLLINS and K. P. BOOTHMAN, *Ann. Surg.* 167, 158 (1968).

⁹ A. M. MARTIN JR., D. B. HACKEL and S. M. KURTZ, *Amer. J. Path.* 44, 127 (1964).