

## Transport, Verteilung und Metabolismus von $^3\text{H}$ - und $^{14}\text{C}$ -markiertem DDT in graviden Mäusen unter Hungerbelastung

DDT und andere insektizid wirksame Halogenkohlenwasserstoffe, die auf Grund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften ein persistentes Verhalten aufweisen, besitzen heute in unserer Umwelt eine globale Verbreitung. Die von Tier und Mensch täglich mit der Nahrung und dem Trinkwasser aufgenommenen Mengen werden bevorzugt im Fett gespeichert; sie können beim Abbau der Fettdepots, z.B. in Stress-Situationen, mobilisiert werden und dann zusätzliche Belastungen verursachen. An verschiedenen Säugetieren konnte experimentell der transplazentare Transport von DDT, Dieldrin und Lindan nachgewiesen werden<sup>1-4</sup>; das Auftreten von DDT und DDE in menschlichen Feten und Frühgeburten zeigt, dass auch beim Menschen die Kontamination mit persistenten Insektiziden bereits *in utero* beginnt<sup>5-7</sup>. Das Ziel unserer Arbeit bestand darin, mit Hilfe von  $^3\text{H}$ - und  $^{14}\text{C}$ -markiertem DDT den transplazentaren Transport und Metabolismus sowie die Rückstände in maternalen und fetalen Organen an graviden Mäusen unter dem Einfluss von Hungerbelastung zu untersuchen.

Als Versuchstiere dienten gravide Mäuse aus dem albinotischen Zuchtstamm AB Jena/Halle. p, p'-DDT wurde nach WILZBACH mit  $^3\text{H}$  markiert und gereinigt;  $^{14}\text{C}$ -(Ring-U)-markiertes p,p'-DDT bezogen wir vom Radiochemical Centre Amersham (England). Die Applikation erfolgte in 0,1 ml Olivenöl i.p.; je 2 Tiere wurden 3, 12, 24, 48 und 72 h nach der letzten Injektion getötet. Untersucht wurden der Fettkörper der Mutter sowie das fetale und maternale Blut, Gehirn und die Leber.

Folgende Versuchsreihen wurden durchgeführt: 1. 1 mg DDT ( $^3\text{H}$ ) am 16. d.p.c.; zusätzlich Untersuchung der nachgeburtlichen Phase 5, 10, 20 und 30 d.p.n.; 2. 0,5 mg DDT ( $^3\text{H}$ ) vom 10.-16. d.p.c.; zusätzlich 48 h Nahrungsentzug nach der letzten Injektion; 3. 0,1 mg DDT ( $^{14}\text{C}$ )

wie Serie 2; zusätzlich Untersuchung des Metabolismus durch DC der Extrakte.

Zur Extraktion des DDT und seiner hydrophoben und hydrophilen Metaboliten wurden die mit Seesand homogenisierten Organe 10 min bei 60°C mit Acton extrahiert; die «recovery» für DDT an Leberproben betrug 97-99%. Die Gesamtkaktivität wurde im Tri-Carb-Spektrometer (Packard) bestimmt; nach dem Einengen im Vakuum wurde mit *n*-Hexan/Acetonitril = 1:1 eine Zweiphasenverteilung durchgeführt und die Acetonitrilphase zur DC benutzt. Zur Korrektur für unvollständige Extraktion dienten die von BEROZA et al.<sup>8</sup> angegebenen Werte; die DC-Trennung erfolgte nach dem von Seidler et al.<sup>9</sup> angegebenen Verfahren. Die  $^{14}\text{C}$ -Aktivität der DC-Platten wurde mit einem DC-Scanner (Berthold-Frieske) bestimmt.

<sup>1</sup> J. BÄCKSTRÖM, E. HANSON and S. ULLBERG, Toxikol. appl. Pharmacol. 7, 90 (1965).

<sup>2</sup> J. K. FINNEGAN, H. B. HAAG and P. S. LARSON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 72, 357 (1949).

<sup>3</sup> D. L. HARRISON and J. C. M. MOL, Proc. 21. New Zealand Weed Pest Control Conf. 1968, p. 233.

<sup>4</sup> D. E. HATHWAY, J. A. MOSS, J. A. ROSE and D. J. M. WILLIAMS, Europ. J. Pharmac. 1, 167 (1967).

<sup>5</sup> A. CURLEY, M. F. COPELAND and R. D. KIMBROUGH, Archs envir. Hlth 19, 628 (1969).

<sup>6</sup> R. ENGST, R. KNOLL and B. NICKEL, Pharmazie 24, 673 (1969).

<sup>7</sup> Z. W. POLISHUK, M. WASSERMANN, D. WASSERMANN, Y. GRONER, S. LAZAROVICI and L. TOMATIS, Archs envir. Hlth 20, 215 (1970).

<sup>8</sup> M. BEROZA, M. N. INSCOE and M. C. BOWMAN, Residue Rev. 30, 1 (1969).

<sup>9</sup> H. SEIDLER, M. HÄRTIG, M. KUJAWA and R. ENGST, Nahrung 14, 39 (1970).

DDT und Metaboliten in fetalen und maternalen Organen der Hausmaus nach 7maliger Applikation von 0,1 mg  $\text{p}, \text{p}'$ -DDT- $^{14}\text{C}$  (Angaben in ppm)

Organ	Normal						Hunger					
	3	12	24	48	72	3	12	24	48	72 (h)		
BFe <sup>a</sup>	0,06	0,06	0,06	0,07	0,09	0,08	0,10	0,07	0,105	0,16		
BM <sup>b</sup>	DDT 0,035		DDT	0,035	DDT	0,030			DDT	0,070		
	DDA 0,025		DDA	0,035	DDOH	0,010			DDOH	0,025		
GFe	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,05	0,05	0,08	0,08		
	DDT 100%		DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%	DDT 100%		
GM	0,07	0,06	0,065	0,07	0,075	0,08	0,075	0,12	DDD od. DDT 0,15			
	DDD oder DDT 100%		DDD od. DDT 100%	DDD od. DDT 100%	DDD od. DDT 100%	DDD oder DDT 100%	DDD oder DDT 100%	DDD od. DDE 0,02	DDD od. DDE 0,02			
LFe	DDE	0	0	0	0	0	0	0,03	0,05	0,07		
	DDT	0,10	0,07	0,06	0,08	0,075	0,14	0,17	0,18	0,27	0,13	
	DDD	<0,01	0,02	0,02	<0,01	0,01	0	0,02	0,025	0,03	0,02	
	DDOH + DDA	0	0	0,03	0,04	0,065	0,02	0,01	0,02	0,03	0,07	
LM	DDE	0,04	0,025	0,025	0,02	0,025	0,01	0,04	0,08	0,04	0,06	
	DDT	0,19	0,21	0,16	0,13	0,10	0,38	0,61	0,82	0,23	0,25	
	DDD	0,13	0,10	0,08	0,08	0,08	0,06	0,14	0,13	0,16	0,16	
	DCB	<0,01	0,015	0,01	0,01	0,02			<0,01	0,02		
	DDOH + DDA	0,04	0,03	0,03	0,03	0,065	0,06	0,14	0,13	0,06	0,04	
FM	DDE	<0,5	0,8	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,8	1,2	1,4	1,5	
	DDT	12,5	10,7	9,8	9,7	13,5	9,0	8,7	16,4	16,2	18,5	

<sup>a</sup> Keine Metaboliten nachweisbar. <sup>b</sup> Werte von 3-24 und 48-72 h. <sup>c</sup> Keine eindeutige Identifizierung von DDT oder DDD. M, maternal; B, Blut; L, Leber; Fe, fetal; G, Gehirn; F, Fettgewebe (Leibeshöhle).

Die Messung der Gesamt-<sup>3</sup>H-Aktivität (DDT + Metaboliten) bei der relativ hohen Dosierung der Serie 1 zeigte, dass in Blut und Gehirn bei Mutter und Fetus dieselben Konzentrationen von 1–1,5 bzw. 0,5–0,8 ppm nach 24–72 h auftreten; eine Plazentarschranke existiert also zumindest in diesem Stadium der Fetenogenese nicht. In der Leber treten beim Muttertier etwa 3–4fach höhere Konzentrationen (3–4 ppm) auf als beim Fetus (0,6–1,0 ppm); die Hauptmenge wird erwartungsgemäß im Fett gespeichert (maximal bis zu 90 ppm). In den ersten 10 Tagen nach der Geburt sinken die pränatale Werte der Feten von 0,5–1,5 ppm um mehr als 90% ab; daraus ist zu erkennen, dass zumindest unter der hier gewählten relativ hohen Dosierung von 1 mg die transplazentare Kontamination des Fetus beachtliche Werte erreicht. ENGST et al.<sup>6</sup> konnten zeigen, dass auch beim Menschen unter Umweltbedingungen die pränatale Kontamination mit DDT + DDE wesentlich höher liegt als die durch die spätere Nahrungsaufnahme sich ergebenden Rückstände.

Unter Hungerbelastung treten in allen untersuchten Organen eindeutig höhere Rückstandswerte auf; auch hier sind die Konzentrationen im maternalen und fetalen Blut mit und ohne Hungerbelastung gleich. Die gefundenen Metaboliten und ihre Konzentrationen (Serie 3) wurden in der Tabelle zusammengestellt. In der fetalen Leber werden nur sehr geringe Mengen DDD gebildet. Unter Hungerbelastung nimmt der Anteil an DDE in der Leber

und im Fett in geringem Umfang zu, während das Verhältnis der anderen Metaboliten im wesentlichen konstant bleibt. DDE entsteht in grösseren Mengen nur bei chronischer DDT-Aufnahme, während bei kurzen Versuchszeiten nur geringe Mengen DDE gebildet werden<sup>10</sup>.

*Summary.* After i.p. application of 1, 0,5 and 0,1 mg p,p' DDT, labelled with <sup>3</sup>H or <sup>14</sup>C, to pregnant mice in different stages of pregnancy, the same level of radioactivity was found in the fetal and maternal blood. Starvation for 2 days caused a significant increase of residues, especially in the liver. Residue levels of DDT and its metabolites DDE, DDD, DCB and (DDOH + DDA) are found in fetal and maternal blood, brain, liver and fat.

R. SCHMIDT und W. DEDEK

*Biologisches Institut des Bereiches Medizin  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,  
DDR-402 Halle (Saale), Universitätsplatz 7,  
und Forschungsstelle für chemische Toxikologie der  
Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin,  
Permoserstrasse 15, DDR-705 Leipzig, 21. Juni 1971.*

<sup>10</sup> W. HAYES JR., W. E. DALE and C. I. PIRKLE, Archs envir. Hlth 22, 119 (1971).

## On the Effect of Amantadine on Monoamines and Their Metabolites in the Brain and Cerebrospinal Fluid<sup>1</sup>

Since a beneficial effect of amantadine in Parkinson's disease was first demonstrated<sup>2</sup>, it has been confirmed in many subsequent trials<sup>3–9</sup>. But little is known about the exact mechanism of action of the drug in improving patients with Parkinson's disease. However, the most recent evidence on experimental animals points to some interrelationship between amantadine and monoamines<sup>10–14</sup>. To further clarify this possibility, we have studied the effect of amantadine on the concentrations of homovanillic acid (HVA) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in the cerebrospinal fluid (CSF) of parkinsonian patients, as these concentrations give some indication of the metabolism of dopamine and 5-hydroxytryptamine in the brain<sup>15</sup>. In addition, the concentration of dopamine, HVA, noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and 5-HIAA of autopsy brain samples of a parkinsonian patient treated with amantadine was studied. The effect of amantadine on these biogenic amines in the rat brain was investigated in the same connection.

*Material and methods.* A sample of cerebrospinal fluid (CSF) was collected by lumbar puncture from 13 hospitalized patients with Parkinson's disease prior to and at 1 and 3 months of amantadine treatment. All the patients had idiopathic Parkinson's disease. 5 patients were female and 8 male; their age ranged from 47 to 76 years (mean  $62 \pm 4$  years). The duration of the disease was from 1 to 8 years, average  $4 \pm 0.5$  years. The dose was 300 mg daily. The CSF samples were taken between 08.00 h and 10.00 h with the patients recumbent.

The autopsy brain samples were obtained from a 76-year-old male patient who had suffered from Parkinson's disease for 12 years. The disability of the patient was stage 5 according to the scale described by HOEHN and YAHR<sup>16</sup>. The clinical picture of the patient was characteriz-

ed by a very marked akinesia and rigidity associated with moderate tremor in the left hand. Prior to his death, the patient was treated with amantadine for 2 months with a daily dosage of 200 mg. The last dose of 100 mg of amanta-

<sup>1</sup> Supported by a grant from the National Research Council for Medical Sciences (Finland).

<sup>2</sup> R. S. SCHWAB, A. C. ENGLAND, D. C. POSKANZER and R. R. YOUNG, J. Am. med. Ass. 208, 1168 (1969).

<sup>3</sup> C. FIESCHI, M. NARDINI, M. CASACCHIA, M. E. TEDONE, M. REITANO and E. ROBOTTI, Lancet 2, 154 (1970).

<sup>4</sup> B. S. GILLIGAN, J. VEALE and J. WODAK, Med. J. Aust. 25, 634 (1970).

<sup>5</sup> K. R. HUNTER, G. M. STERN, D. R. LAURENCE and D. R. ARMITAGE, Lancet 1, 1127 (1970).

<sup>6</sup> P. MILLAC, I. HASAN, M. L. ESPIR and D. G. SLYFIELD, Lancet 1, 464 (1970).

<sup>7</sup> J. D. PARKES, D. M. CALVER, K. J. ZILKA and R. P. KNILL-JONES, Lancet 1, 259 (1970).

<sup>8</sup> N. S. RAO and J. PEARCE, J. Pract. 206, 241 (1971).

<sup>9</sup> U. K. RINNE, V. SONNINEN and T. SIIRTOLA, Europ. Neurol., in press (1971).

<sup>10</sup> R. P. GRELAK, R. CLARK, J. M. STUMP and V. G. VERNIER, Science 169, 203 (1970).

<sup>11</sup> B. SCATTON, A. CHERAMY, M. J. BESSON and J. GLOWINSKI, European J. Pharmac. 13, 131 (1970).

<sup>12</sup> U. STRÖMBERG, T. H. SVENSSON and B. WALDECK, J. Pharm. Pharmac. 22, 959 (1970).

<sup>13</sup> E. A. FLETCHER and P. H. REDFERN, J. Pharm. Pharmac. 22, 957 (1970).

<sup>14</sup> E. SOLATUNTURI, M. K. PÄÄSONEN and E. KIVALO, Scand. J. clin. Lab. Invest. 27, Suppl. 716, 77 (1971).

<sup>15</sup> A. T. B. MOIR, G. W. ASHCROFT, T. B. B. CRAWFORD, D. ECCLESTON and H. C. GULDBERG, Brain 93, 357 (1970).

<sup>16</sup> M. M. HOEHN and M. D. YAHR, Neurology 17, 427 (1967).