

Taurine uptake^a by the isolated guinea-pig heart

Taurine concentration in media (mM)	Normal medium	Low K ⁺ medium
0	21.3 ± 2.6 ^b	29.0 ± 4.4
0.5	25.3 ± 3.1	34.9 ± 6.0
3.0	44.2 ± 3.8	63.2 ± 13.6

^aμmoles/g of intracellular water; ^bmean ± S.E.M. in 8–12 instances.

by the decrease in K⁺ contents in the medium (table) and was not changed by ouabain at the doses used in both media (data not shown) would suggest that the potentiation by taurine of ouabain-induced inotropism was not explained by the change in myocardial contents of taurine. On the other hand, DOLARA et al.¹² suggested that taurine would increase amounts of Ca⁺⁺ available for contraction. This may explain the potentiation by

taurine of the inotropism of digitalis. In the present experiment, in which intracellular Ca⁺⁺ contents were indeed measured in the presence of taurine, ouabain did not change total Ca⁺⁺ content in the control heart but increased significantly the Ca⁺⁺ content in the taurine (3.0 mM)-loaded heart in both media (Figure 2). The increase in the Ca⁺⁺ content, which was greater in the low K⁺ medium than the control, paralleled the positive inotropic response to ouabain. The potentiation by taurine of the positive inotropic effect of ouabain would be, at least in part, due to the increased content of Ca⁺⁺ in the heart. Although neither taurine nor ouabain alone changed the Ca⁺⁺ content in the present experiment, taurine in the presence of ouabain might be, to some extent, concerned in the myocardial uptake of Ca⁺⁺, because it has already been reported that taurine inhibited the loss of intracellular Ca⁺⁺ in some way^{6, 12, 13}. The accumulation of Ca⁺⁺ in the taurine-loaded heart might result in the increase of Ca⁺⁺ used for activating contractions and consequently in the potentiation of myocardial response to ouabain. Increase by taurine of the response to ouabain at a dose of 5 × 10⁻⁶ M remained unexplained in this paper.

Mikroskopische Untersuchungen zur «gefäßabdichtenden» Wirkung der Kalziumionen

Microscopical investigations on the 'vessel sealing' effect of calcium ions

H. G. KLINGENBERG und H. DORNER

Institut für Funktionelle Pathologie der Universität Graz, A-8010 Graz, Mozartgasse 14 (Österreich), 14. Juni 1976.

Summary. The effect of locally applied calcium on the vascular permeability is studied under the conditions of an acute inflammatory reaction. Using the Sephadex-inflammation, local elevated calcium concentration neither inhibited oedema formation, nor were reduction of inflammatory signs at all observed on the microscopical level.

Kalzium gilt seit langem als entzündungshemmendes Mittel. Durch direkte Einwirkung auf eine interzelluläre «Zementsubstanz» und auch auf das Bindegewebe sollen Ca²⁺ «gefäßabdichtend» und somit gegen Ödembildung und Leukozytenemigration wirken. Die Befunde von CHAMBERS und ZWEIFACH^{1, 2}, dass bei Perfusion der Kapillaren mit Ca²⁺-freier Lösung die Permeabilität zunimmt, stützen diese Vorstellung. Allerdings ist nicht erwiesen, ob auch dann, wenn kein Kalziummangel besteht, durch Steigerung der Ca²⁺-Konzentration die Gefäßpermeabilität beeinflusst wird.

Zellzahl, Granulozyten und Mastzellen, 6 Stunden nach Injektion von CaCl₂-Sephadex

	Kontrolle	CaCl ₂ -Sephadex		
		4,5 mmol	7,5 mmol	30 mmol
Gesamtzellzahl	1990±300	2870±1400	2410±470	1200±300
% Granulozyten	83±6	82±1	83±4	77±5
Mastzellen	3,2±0,54	3,0±0,91	2,9±0,85	2,5±0,94
% intakter Mastzellen	35	36	35	23

Es erschien aussichtsreich, diese Frage an der Sephadex-Entzündung³ zu studieren, weil sich diese entzündungserregende Substanz leicht mit Ca²⁺ beladen lässt. Somit könnte sich am Ort der Entzündung ein hemmender Einfluss der gleichzeitig anwesenden Ca²⁺ bemerkbar machen. Dabei ist es von Vorteil, dass Ca²⁺ aus dem subkutan injizierten Sephadexdepot entsprechend der Diffusionsbedingungen allmählich und über einen längeren Zeitraum in das umgebende Gewebe abgegeben werden.

Material und Methoden. 1 ml Sephadex G 200, welches in CaCl₂-Lösungen (4,5, 7,5, 30 mmol/l Ca²⁺) gequollen war, wurde Ratten vom Wistar-Stamm 150 g ± 10% subkutan unter die Rückenhaut injiziert. In 0,9% NaCl gequollenes Sephadex diente als Kontrolle.

Histologische Untersuchung. Nach 6 bzw. 24 Stunden wurden die Injektionsstellen mit dem umgebenden Gewebe entnommen, Gefrierschnitte angefertigt (Färbung Hämatoxyl-Eosin Van Gieson und Toluidinblau) und darin die Anzahl der Mastzellen in einem Gesichtsfeld (Vergr. 10 × 40) gezählt, das vom Sephadexdepot und vom Hauptmuskel begrenzt war. Ausserdem wurde der Prozentsatz der intaktgebliebenen Mastzellen bestimmt.

Zählung der Exsudatzellen. Eine abgewogene Menge Sephadex aus dem Entzündungsherd wird mit 0,1 m Zitronensäure mit 0,1% Kristallviolett für 30 Minuten

¹ B. M. ZWEIFACH, Ann N. Y. Acad. Sci. 61, 670 (1955).
² B. M. ZWEIFACH und B. W. CHAMBERS, Physiol. Rev. 27, 436 (1947).
³ H. G. KLINGENBERG und H. DORNER, Exp. Path. 10, 333 (1975).

bei 37°C inkubiert, filtriert, und die gefärbten Zellkerne werden in der Bürker-Türkschen Kammer gezählt⁴.

Differentialzählung der Exsudatzellen. Material von dem der Epidermis zugewandten Teil des Sephadexherdes wurde ausgestrichen, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und der prozentuelle Anteil der Granulozyten bestimmt.

Ödemmessung. Das Pfotenödem der Ratte wurde nach subplantarer Injektion von 0,2 ml Sephadex bzw. CaCl_2 -Sephadex volumetrisch gemessen.

Ergebnisse. Nach 6 Stunden unterscheidet sich, gleichgültig welche CaCl_2 -Konzentration verwendet wird, der histologische Befund nicht von der Kontrolle. Nur bei hoher Ca^{2+} -Konzentration (30 mmol) sind hier um den Entzündungsherd auch Nekroseerscheinungen sichtbar. Zahl und Anteil der intaktgebliebenen Mastzellen ist bei hoher Ca^{2+} -Konzentration reduziert, da Ca^{2+} unter anderem auch Mastzellen zerstören können. Die Gesamtzahl der Exsudatzellen und deren prozentueller Gehalt an Granulozyten unterscheiden sich ebenfalls nicht von der Kontrolle (Tabelle). CaCl_2 -Sephadex verursacht mit 30 mmol Ca^{2+} eine gleiche, mit 4,5 und 7,5 mmol Ca^{2+} eine stärkere Volumenzunahme der Rattenpfote als NaCl-Sephadex.

Auch nach 24 Stunden unterscheidet sich das histologische Bild, gekennzeichnet durch ein beträchtliches Restödem und reichlich Zellen um und im Sephadexherd, nicht von der Kontrolle, abgesehen von deutlicher werdenden Nekrosen. Die Gesamtzahl und der Anteil intakter Mastzellen ist vermindert. Das Verhältnis Granulo-

zyten zu mononukleären Zellen im Exsudat hat sich, im Gegensatz zu dem nach 6 Stunden erhobenen Befund, verschoben: Während bei der Sephadexentzündung 86% der Zellen Granulozyten sind, wurden nach Injektion von CaCl_2 -Sephadex (4,5 mmol Ca^{2+}) nur 60% Granulozyten gezählt. Dieser Prozentsatz nimmt mit steigender Ca^{2+} -Konzentration wieder zu. Die Zahl aller Exsudatzellen ist geringfügig niedriger als bei der Sephadexentzündung. Die Volumenzunahme der Rattenpfoten ist auch noch nach 24 Stunden beträchtlich: Während die Pfote nach Injektion von NaCl-Sephadex um rund die Hälfte ihres Ausgangsvolumens zugenommen hat, vergrößern sich die Pfoten durch CaCl_2 -Sephadex um das Doppelte.

Diskussion. Aus den Versuchen geht hervor, dass eine erhöhte Ca^{2+} -Konzentration am Ort einer sich entwickelnden Entzündung keinen hemmenden Einfluss auf den Entzündungsprozess hat. Dies zeigen vor allem die nach 6 Stunden erhaltenen Ergebnisse. Eine «gefäßabdichtende» Wirkung hätte sich gerade in diesem für die Entstehung und Ausbreitung des Ödems und für die Leukozytenmigration massgeblichen Zeitraum bemerkbar machen müssen.

Wenn Ca^{2+} überhaupt eine antiexsudative Wirkung haben, dann könnte diese durch Catecholamine zustande kommen, die durch intravenöse Injektion von Ca^{2+} freigesetzt werden⁵.

⁴ K. K. SANFORD et al., J. Nat. Cancer Inst. 11, 773 (1951).

⁵ F. LEMBECK und H. JUAN, Arzneimittel-Forsch. 25, 1370 (1975)

Comparison of the Ototoxic Effect of Kanamycin on Albino and Pigmented Rats, Studied Using an Operant Method¹

E. S. HARPUR² and P. F. D'ARCY

Department of Pharmacy, The Queen's University of Belfast, Medical Biology Centre, 97 Lisburn Road, Belfast BT9 7BL (Northern Ireland), 21 May 1976.

Summary. A study was made of the effect of daily administration of kanamycin (400 mg kg⁻¹) on the hearing of Wistar albino and Lister hooded (pigmented) rats, which had been conditioned to discriminate an acoustic signal. In all animals except one, the drug caused severe, permanent hearing impairment and there was no difference between albino and pigmented rats in onset or degree. Other work has suggested a mediatory role for melanin pigment in such drug ototoxicity but the significance of this must be questioned in view of the failure to find any differences in functional deficit.

Kanamycin is one of a number of antibiotics which exert a toxic effect on the ear and whose administration, in certain circumstances, may result in deafness. The elucidation of the manner in which such drugs cause deafness has attracted much interest and considerable effort, but the exact mechanisms remain unresolved.

Ototoxic drugs have been shown to accumulate in the inner ear and this has been attributed³ to their affinity for melanin pigment which, in the cochlea, is found mainly in the stria vascularis. The implication that pigmented animals would accumulate ototoxic drugs in the inner ear to a greater extent than albino animals and would consequently be more likely to suffer hearing impairment has been investigated⁴. The hearing of albino and pigmented rats and guinea-pigs was assessed by measurement of acoustic startle reaction and a progressive diminution of startle reaction following ototoxic drug administration was taken to be indicative of the development of hearing impairment. Although preliminary results did suggest that drug-induced deafness occurred more readily in pigmented animals, subsequent studies were

unable to reveal any significant differences between the ototoxic effects of kanamycin or neomycin on albino and pigmented rats and guinea-pigs. However, it was suggested, at the time, that the methods employed might not have been sufficiently sensitive to detect any subtle differences.

A further study has now been carried out on the effects of kanamycin on albino and pigmented rats, using an operant conditioning technique. It has been shown⁵ that this is an appropriate technique for the study of the

¹ This work was supported by a Fellowship to E. S. HARPUR from the Department of Health and Social Services (Northern Ireland).

² Present address; Department of Pharmacy, The University of Aston in Birmingham, Gosta Green, Birmingham B4 7ET, England.

³ L. DENCKER, N. G. LINDQUIST and S. ULLBERG, *Experientia* 29, 1362 (1973).

⁴ E. S. HARPUR and P. F. D'ARCY, *Experientia* 31, 1323 (1975).

⁵ E. S. HARPUR and P. F. D'ARCY, *J. Pharm. Pharmacol.* 27, 907 (1975).