

zu einer thiaminfreien, cellulosefreien Nahrung auch bei Ausschaltung einer Koprophagie ein normales Wachstum von Ratten gewährleistet. Zeichen eines Thiamin-Mangels wurden bei diesen „Sorbittieren“ nie beobachtet, während die ohne Thiamin und ohne Sorbit ernährten Tiere 5 bis 6 Wochen nach Thiaminentzug im Zustand eines schweren Thiaminmangels getötet wurden.

Daß der Thiaminbedarf bei den „Sorbittieren“ tatsächlich gedeckt ist, beweisen die Bilanzen, die auf Grund der Thiaminausscheidung im Harn aufgestellt wurden. Vom 25. Versuchstage ab, also einem Zeitpunkt, an dem die Thiaminmangel-Tiere bereits einen Gewichtsabfall aufwiesen, bis zum Versuchsende schieden im Mittel im Harn aus:

Normale Kontrolltiere	33,8 ± 10,3	} μg Thiamin/ Tier/24 Std
thiaminfrei ernährte Tiere	0,16 ± 0,15	
thiaminfrei mit 11,5% Sorbit ernährte Tiere	2,00 ± 1,33	

Während dieses Zeitraumes nahmen die normalen Kontrolltiere durchschnittlich 240 μg Thiamin pro Tier und Tag

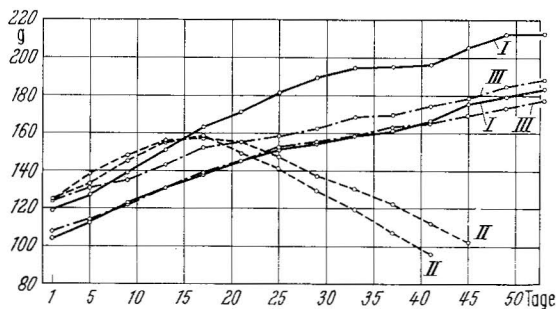


Fig. 1. Körpergewicht von Ratten bei Ernährung mit I vollwertigem Futter; II Thiamin-freiem Futter; III Thiamin-freiem Futter mit Zusatz von 11,5% Sorbit. Abszisse: Versuchszeit in Tagen; Ordinate: Körpergewicht in Gramm

mit der Nahrung auf; die Ausscheidung im Harn betrug demnach im Mittel 14% der zugeführten Menge. Legt man bei den „Sorbittieren“ eine gleiche Relation zugrunde, so läßt sich aus der Ausscheidung ein intestinales Thiaminangebot von mindestens 14 μg pro Tier und Tag berechnen. Der aus dem Körpergewicht errechnete tägliche Bedarf betrug dagegen nur etwa 5,2 μg pro Tier⁸⁾. Bei Verfütterung von Sorbit kann der Bedarf an Thiamin bei Ratten demnach durch eine enterale Synthese voll gedeckt werden.

Als wahrscheinliche Ursache für die unter Sorbiteinfluß gesteigerte intestinale Vitamin-Synthese wurde eine Änderung der Darmflora diskutiert^{1), 2)}, obwohl sich eine solche Änderung bisher nicht hat nachweisen lassen. Auch die von uns gefundenen Veränderungen der Faekalflora erscheinen noch nicht genügend gesichert, um aus ihnen eine Erklärung ableiten zu können. Als einziger, auffälliger Befund wurde unter Sorbiteinfluß eine starke Abnahme der aeroben Enterokokken im Kot festgestellt, deren mögliche Bedeutung erst nach weiterer Bestätigung erörtert werden soll. Die kulturelle Untersuchung des Darminhaltes ließ bei den „Sorbittieren“ in keinem Darmabschnitt sichere Abweichungen erkennen. Bemerkenswert erscheint jedoch, daß im mikroskopischen Bild der Nativpräparate, insbesondere des Caecalinaltes, bei den „Sorbittieren“ jeweils eine Keimart ganz dominierte. Die Diskrepanz zwischen mikroskopischem und kulturellem Befund läßt Zweifel darüber aufkommen, ob es mittels der heute verfügbaren Differenzierungsnährböden überhaupt möglich sein wird, quantitative Änderungen in der Zusammensetzung der Darm- oder Faekalflora zu erfassen, zumal weniger als 1% der mikroskopisch zählbaren Faekalkeime als zur Zeit kultivierbar angegeben werden⁷⁾.

Sollte sich eine Änderung der Zusammensetzung der Darmflora unter Sorbitwirkung auch in Zukunft nicht sicherstellen lassen, so muß die in allen bisherigen Sorbitversuchen^{1), 2)} festgestellte und auch von uns bestätigte, etwa dreifache Vergrößerung des Caecums mit starker absoluter Zunahme der Gesamtkeimzahl ursächlich für die gesteigerte intestinale Vitaminsynthese verantwortlich gemacht werden. Wenn der Sorbiteffekt auf diesen erhöhten Keimgehalt in den vergrößerten Blinddärmen zurückzuführen ist, muß die Stimulierung der intestinalen Vitaminsynthese durch eine vorherige

Extirpation des Caecums unterbunden werden können. Entsprechende Versuche sind in Vorbereitung.

Physiologisch-chemisches Institut und Hygiene-Institut der Universität, Göttingen

S. HOLLMANN, W. SCHIEK, U. HERLYN und E. THOFERN

Eingegangen am 13. August 1959

*) Für die Überlassung von reinem, kristallisiertem Sorbit möchten wir den Deutschen Maisena-Werken, Hamburg, unseren Dank aussprechen.

¹⁾ MORGAN, T.B., u. J. YUDKIN: Nature [London] 180, 543 (1957). — ²⁾ HAENEL, H., H. RUTLOFF u. H. ACKERMANN: Biochem. Z. 331, 209 (1959). — ³⁾ MEHNERT, B., H. MEHNERT u. K. STUHLFAUTH: Klin. Wschr. 36, 1029 (1958). — ⁴⁾ NAGAYAMA, K., u. A. FUJITA: J. Vitaminol. (Tokyo) 3, 24 (1957). — ⁵⁾ SARETT, H.P., u. V.H. CHELDELIN: J. Biol. Chemistry 155, 153 (1944). — ⁶⁾ SNELL, E.E.: In P. GYÖRGY, Vitamin Methods [New York] 1, 327 (1950). — ⁷⁾ HAENEL, H., u. CH. KUNDE: Zbl. Bakteriell., Abt. I, Orig. 165, 107 (1956). — ⁸⁾ WILLIAMS, R.R.: Ergebn. Vitamin- u. Hormonforsch. 1, 213 (1938).

Die Beeinflussung der Acetylcholinreize peripherer Nervenendigungen durch 5-Hydroxytryptamin und Lysergsäurediäthylamid

In Fortführung unserer Versuche über die Beeinflussung der Acetylcholinwirkung an Interorezeptoren peripherer Gefäßgebiete durch Phenylalkylamine¹⁾ berichteten wir bereits, daß sich durch 5-Hydroxytryptamin (5-HT*) eine ähnliche Sensibilisierung der Interorezeptoren gegenüber Acetylcholin (Ach) erzielen läßt wie durch Adrenalin und Noradrenalin²⁾. Nachdem wir nun auch an anderen Afferenzen, wie z.B. an den sensiblen Nervenendigungen der Meerschweinchenkonjunktiva, die Beeinflussung der Ach-Wirkung durch Phenylalkylamine erneut beobachtet hatten, lag es nahe, mit der gleichen Methode auch die Wirkung von 5-HT zu untersuchen. Der Versuchsanordnung lag eine Mitteilung von JANCOS³⁾ zugrunde, wonach das Einbringen von Ach-Lösung in den Konjunktivalsack von Meerschweinchen einen reflektorischen Lidschluß hervorruft, dessen Dauer dem log der Konzentration proportional ist. Diese Ach-Wirkung ließ sich pharmakologisch in ähnlicher Weise beeinflussen wie diejenige an ganglionären Synapsen, was sich auffällig mit unseren Beobachtungen an anderen Afferenzen deckt.

Wird nun vor dem Einbringen von Ach. in den Konjunktivalsack ein Tropfen einer 5-HT-Lösung eingeträufelt, so kommt es zu einer Verlängerung der Lidschlußdauer:

Lidschlußdauer	Ach., 10^{-3} g/ml 14,7 sec	5-HT, dann Ach., je 10^{-3} g/ml 22,2 sec
----------------	----------------------------------	--

Die Versuche wurden in mehreren Versuchsreihen an 40 Tieren durchgeführt, die Prüfung der Differenzen auf 99% Sicherheit erfolgte mittels *t*-Test, sie erwies sich als hoch signifikant. Es zeigte sich weiter, daß schon wesentlich geringere Konzentrationen von 5-HT verlängern auf den Ach.-Effekt wirken; noch mit $2,5 \cdot 10^{-6}$ g/ml ließen sich Verlängerungen der Lidschlußdauer erreichen. 5-HT allein hatte auch in der höchsten angewandten Konzentration von 10^{-3} g/ml keinen Lidschluß zur Folge. Im Hinblick auf den bekannten Antagonismus zwischen 5-HT und Lysergsäurediäthylamid (LSD)**) untersuchten wir auch den Einfluß von LSD auf den oben beschriebenen Effekt von 5-HT. Wir konnten feststellen, daß auch am vorliegenden biologischen Objekt eine derartige antagonistische Beziehung besteht. Das Einträufeln von 10^{-5} g/ml LSD vor oder nach dem Einbringen von 5-HT vermochte dessen verlängernde Wirkung auf den Ach.-Effekt vollständig aufzuheben. Diese Ergebnisse wurden mit einer Methode erhalten, die neben ihrer Einfachheit und Möglichkeit guter statistischer Auswertung den Vorteil besitzt, daß sie an unregelmäßig, nicht narkotisierten Tieren ohne irgendeinen sonstigen Eingriff durchgeführt wird. Wir konnten somit eine Bestätigung unserer Ergebnisse an anderen cholinosen sensiblen Nervenstrukturen erreichen. Sie legen den Gedanken nahe, daß 5-HT im Zentralnervensystem nicht die Rolle eines Überträgerstoffes spielt, sondern vielmehr der Feinstellung bestimmter cholinergischer Synapsen dient. Im Hinblick auf die Befunde, die wir selbst bei der Beeinflussung von cholinosen sensiblen Nervenstrukturen durch Phenylalkylamine erhalten hatten⁴⁾ und die durch zahlreiche, noch nicht in diesem Zusammenhang diskutierten Ergebnisse anderer Autoren

gestützt werden, ist auch die Bedeutung des Noradrenalins im ZNS in dieser Richtung zu prüfen.

Pharmakologisches Institut der Medizinischen Akademie, Magdeburg (Direktor: Prof. Dr. med. H. MATTHIES)

H. MATTHIES und W. SZIEGOLEIT

Eingegangen am 2. September 1959

*) 5-HT (Hoffmann-La Roche & Co., Basel).

**) LSD (Sandoz A.-G., Nürnberg).

¹⁾ MATTHIES, H., B. WIEGERSHAUSEN, G. OTTO u. G. SCHOLZ: Arch. exp. Path. Pharmacol. 229, 544 (1956). — ²⁾ MATTHIES, H., u. S. MATTHIES: Acta biol. med. Germanica 1, 361 (1958). — ³⁾ JANCOS, N.: Acta physiol. [Budapest] 11 (Suppl.) 11 (1957). — ⁴⁾ MATTHIES, H.: Naturwiss. 44, 39 (1957).

Kinetische Messungen zur O-Demethylierung durch Lebermikrosomen und zu ihrer Hemmung durch SKF 525-A

Seit den Untersuchungen des Arbeitskreises um BRODIE¹⁾ über die Potenzierung von Arzneiwirkungen durch SKF 525-A (Diphenylpropyllessigsäureester des Diäthylaminoäthanol) ist es bekannt, daß Lebermikrosomen ein Enzymsystem enthalten, welches den Abbau einer Reihe chemisch nicht verwandter Pharmaka katalysiert. Das System benötigt TPNH und Sauerstoff; sein physiologisches Substrat ist nicht bekannt. Von den verschiedenen durch Mikrosomen katalysierten Reaktionen wie Seitenkettenoxydation, Desaminierung, Desalkylierung hat neuerdings die Demethylierung und vor allem die O-Demethylierung besondere Beachtung gefunden. Alle genannten Reaktionen werden durch den relativ einfach gebauten Ester SKF 525-A gehemmt. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß ein gemeinsamer Reaktionsschritt für alle Abbaueinheiten in der vermutlich komplizierteren Kette von Reaktionen existieren muß.

Wir haben versucht, diesen Schritt durch kinetische Messungen, die eine Bestimmung des Hemmungstyps erlauben, näher zu charakterisieren. Dies geschah auf die übliche Weise²⁾ durch Messung der maximalen Demethylierungsgeschwindigkeit von o-Nitroanisol (oNA) bei verschiedenen Substrat- und Inhibitorkonzentrationen. Wir wählten die Demethylierung von oNA zu o-Nitrophenol deshalb als Indikator für die enzymatische Aktivität der Mikrosomen, weil o-Nitrophenol sich ohne weiteres bei 430 m μ spektrophotometrisch messen läßt, während das oNA bei der Wellenlänge nicht absorbiert. Die Extinktionszunahme wird im allgemeinen jede Minute für die Dauer von etwa 20 min abgelesen. Diese Methode ermöglicht eine rationelle Verfolgung der Demethylierungsgeschwindigkeit und damit gleichzeitig auch eine vergleichende Beurteilung der enzymatischen Aktivität von Lebermikrosomen. Die Identität des Reaktionsproduktes mit o-Nitrophenol wurde papierchromatographisch und durch Vergleich der Absorptionsspektren gesichert. Die Reduktion der Nitrogruppe durch die Nitroreduktase verhiinderten wir nach FOUTS und BRODIE³⁾ durch Sauerstoffsättigung des Versuchsansatzes. Die Mikrosomen erhielten wir durch fraktioniertes Zentrifugieren von Rattenleberhomogenaten in isotonischer Saccharoselösung, die Versen (EDTA) und TRIS-Puffer (pH 7,4) enthielt⁴⁾. Der Versuchsansatz von 2 ml bestand aus 2 mg Mikrosomenprotein in m/15 Phosphatpuffer (pH 7,9); dieser enthielt außerdem Sauerstoff, Nicotinamid, das übliche TPNH-regenerierende System aus Glukose-6-Phosphat und Zwischenferment sowie verschiedene Substrat- bzw. Inhibitorkonzentrationen (von $2 \cdot 10^{-4}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$ m bzw. von $0,5 \cdot 10^{-4}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$ m). Die Reaktionstemperatur betrug 37,5°C und die Zeit, während der die Maximalgeschwindigkeit konstant blieb, etwa 10 min. Die Extinktion wurde gemessen gegen eine Vergleichsküvette desselben Inhalts, jedoch ohne TPNH.

Das typische Lineweaver-Burk-Diagramm zeigt, daß eine klare nicht-kompetitive Hemmung vorliegt. Die Michaelis-Konstante K_M für oNA ergab sich zu $8 \cdot 10^{-4}$ m; die Inhibitor-konstante K_I ist etwa 10mal kleiner. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß es sich bei der SKF 525-A-Hemmung nicht um einen unspezifischen oder irreversiblen Vorgang handelt, sondern um die gesetzmäßige Hemmung höchstwahrscheinlich eines einzelnen Enzymschrittes.

Hier sei bemerkt, daß die Potenzierung der biologischen Procainwirkung durch SKF 525-A auf einem anderen Mechanismus beruht. Wie früher gezeigt werden konnte⁵⁾, handelt es sich bei der Hemmung der durch Plasmacholinesterase katalysierten Procainspaltung in p-Aminobenzoessäure und Diäthylaminoäthanol um eine eindeutige und aus der ähnlichen

Struktur von Substrat und Inhibitor leicht verständlichen Verdrängungshemmung.

Pharmakologisches Institut der Universität, Hamburg (Direktor: Prof. Dr. G. MALORNY)

K. J. NETTER

Eingegangen am 2. September 1959

¹⁾ Vgl. BRODIE, B.B.: J. Pharm. (Lond.) 8, 1 (1956). — ²⁾ LINEWEAVER, H., u. D. BURK: J. Amer. Chem. Soc. 56, 658 (1934). — DIXON, M.: Biochemic. J. 55, 170 (1953). — ³⁾ FOUTS, J.R., u. B.B. BRODIE: J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 119, 197 (1957). — ⁴⁾ LEYBOLD, K., u. H.J. STAUDINGER: Biochem. Z. 331, 389 (1959). — ⁵⁾ NETTER, K.J.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 235, 498 (1959).

Ein Beitrag zur Aufgabe des Nervensystems bei der Steigerung des O₂-Verbrauches im Verlauf der Bestrahlung

In früheren Arbeiten^{1), 2)} berichteten wir über die Steigerung des O₂-Verbrauches während der Bestrahlung bei Ratten, Kaninchen und Kücken, die mit 10 bis 50 r/min bestrahlt wurden. Die Steigerung des O₂-Verbrauches erhöhte sich schon während der ersten Minute der Bestrahlung, wonach man wahrscheinlich einen Reflex-Mechanismus für die beobachtete Respiationsreaktion voraussetzen kann.

Wir wollten jetzt näher die Bedeutung des Nervensystems für die beobachtete Steigerung des O₂-Verbrauches klären. Versuchstiere waren 40 weiße männliche Wistar-Ratten. Bei 30 Ratten wurde die Chordotomie auf dem Niveau des 5. Brustwirbels (I. Gruppe) durchgeführt; 20 Ratten dieser Gruppe wurden bestrahlt, die übrigen 10 Ratten wurden nur gemessen. Das Messen und die Bestrahlung der operierten Ratten fand am 5. Tage nach der Operation statt, als die Rückenmarkreflexe im kaudalen Teile des Rückenmarks (unter der Läsion) erneut auftraten. Bei 10 Ratten wurde die Simultanoperation, aber ohne Chordotomie durchgeführt (II. Gruppe). Die Ratten wurden mit 50 r/min total bestrahlt. Bestrahlung und Messen erfolgten nach¹⁾.

Wie Fig. 1 zeigt, erhöhen die Ratten der I. Gruppe (Kurve 1) den O₂-Verbrauch nicht, während der O₂-Verbrauch der Kontrollgruppe (Kurve 2) schon von der ersten Minute der Bestrahlung ab erhöht wird. Wir betrachten dies als einen Beweis dafür, daß die Chordotomie die Steigerung des O₂-Verbrauches bei den bestrahlten Ratten verhindert. Die Rückenmarkreflexe werden in dem kaudalen Teil erneuert, genügen aber zur Erhöhung des O₂-Verbrauches nicht. Auch der vordere Teil des Körpers zusammen mit dem Zentralnervensystem, der anatomisch intakt ist, ist nicht in der Lage, bei Beschädigung der aus der Peripherie kommenden Nervenwege nach der Ganzkörperbestrahlung den totalen O₂-Verbrauch des bestrahlten Organismus zu erhöhen.

Es ist daher klar, daß für die Erhöhung des O₂-Verbrauches bei der Bestrahlung die Erhaltung der Verbindung zwischen Peripherie und Zentralnervensystem nötig ist. Wir nehmen an, daß die Bestrahlung in den Organen und Geweben Veränderungen hervorruft, die auf die peripheren Rezeptoren wirken und durch den Reflexweg den totalen O₂-Verbrauch erhöhen. Die Störung des Reflexbogens hat zur Folge, daß sich der O₂-Verbrauch bei den bestrahlten Ratten nicht erhöht.

Biophysikalisches Institut der Tschechoslovakischen Akademie der Wissenschaften, Brno

ANTONÍN VACEK

Eingegangen am 3. August 1959

¹⁾ VACEK, A.: Nature [London] 1959 (im Druck). — ²⁾ VACEK, A., u. L. NOVÁK: Physiologia Bohemoslovenica 1959 (im Druck).

Relative individuelle Strahlenempfindlichkeit der Frühformen von Plastiden bei Leguminosen

Samen von Pisum sativum (Sorte: Kleine Rheinländerin), im Trockenzustand mit Röntgenstrahlen (20 mA, 150 kV) und Dosen zwischen 400 und 12000 r bestrahlt und anschließend

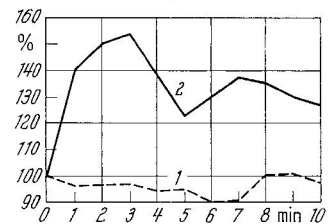


Fig. 1. Sauerstoffverbrauch bei Ratten während der Bestrahlung. 1 Chordotomierte bestrahlte Ratten. 2 Simultan operierte bestrahlte Ratten. Abszisse: Dauer der Bestrahlung in Minuten. Ordinate: O₂-Verbrauch (in Prozent)