Arch. Toxikol. 29, 97—106 (1972)
© by Springer-Verlag 1972

Induktion mikrosomaler Leberenzyme nach einmaliger Gabe von polychlorierten Biphenylen (PCB) und anschließender Stress-Situation*

H. F. Benthe, A. Schmoldt und H. Schmidt

Pharmakologisches Institut der Universität Hamburg

Eingegangen am 11. Februar 1972

Induction of Microsomal Liver Enzymes after Polychlorinated Biphenyls (PCB) and Following Stress

Abstract. One i.p. injection of PCB induces a high stimulation of rat liver microsomal drug oxidizing enzymes; equimolar doses of tetrachlorobiphenyls are distinctly more effective then dichlorobiphenyls. The effect can still be demonstrated distinctly four weeks after application. During this time the liver concentration of tetrachlorobiphenyls decreased to 7 µg/g tissue whereas the concentration of adipose tissue rose to 252 µg/g. By stress tetrachlorobiphenyls are mobilized along with fat, causing an increase of liver concentration to 32 µg/g. Stimultaneously, a new stimulation of microsomal activity can be seen, nearly equal to the maximum stimulation 4 days after i.p. application of 500 mg/kg b.w. Parallel to microsomal stimulation there is an increase of relative liver weight.

Stress induced activation of microsomal activity caused by PCB redistribution is important for the evaluation of PCB in environmental toxicology, in view of rising PCB concentrations in human adipose tissue.

Key words: Polychlorinated Biphenyles (PCB) — Microsomal Induction — Lipolysis — Environmental Contamination — Toxicology.

Zusammenfassung. An Ratten wird durch einmalige intraperitoneale Gabe von PCB eine starke mikrosomale Aktivitätssteigerung ausgelöst; dabei sind äquimolare Dosen von Tetrachlordiphenyl deutlich stärker wirksam als Dichlordiphenyl. Auch 4 Wochen nach Applikation ist der Induktionseffekt noch deutlich nachweisbar, der Tetrachlordiphenylgehalt der Leber ist während dieser Zeit auf ca. 7 µg/g abgesunken, weil eine Umlagerung ins Fettgewebe erfolgt mit einer Tetrachlordiphenylkonzentration von 252 µg/g. Unter Stressbedingungen wird dieses Tetrachlordiphenyl mit dem Fett mobilisiert und erhöht die Tetrachlordiphenylkonzentration in der Leber auf 32 µg/g. Gleichzeitig setzt eine erneute mikrosomale Stimulation ein, die das Maximum der Anfangsstimulation nach 500 mg/kg Tetrachlordiphenyl i.p. fast erreicht.

Parallel mit zunehmender mikrosomaler Aktivitätssteigerung läuft eine Zunahme des relativen Lebergewichts.

* Mit dankenswerter Unterstützung durch das Bundesministerium für Jugend, Familie und Gesundheit.

DSW 031237

STLCOPCB4015199

Der Nachweis der durch Stress ausgelösten mikrosomalen Aktivitätssteigerung ist angesichts der steigenden PCB-Konzentration im menschlichen Fettgewebe für die Bewertung des PCB's in der Umwelttoxikologie von Bedeutung.

Schlüsselwörter: Polychlorierte Biphenyle (PCB) — Mikrosomale Induktion — Lipolyse — Umweltkontamination — Toxikologie.

Neben DDT und seinen Metaboliten werden in marinen Nahrungsketten, in Futtermitteln, Vögeln, im menschlichen Fettgewebe und in der Humanmilch in zunehmendem Maße polychlorierte Biphenyle (PCB's) gefunden (Koemann et al., 1969; Holmes et al., 1967; Risebrough et al., 1969; Biros et al., 1970). Soweit die wenigen qualitativen Analysen zeigen, handelt es sich dabei um höher chlorierte PCB's (Penta- bis Heptachlorbiphenyle) (Duke et al., 1971; Bagley et al., 1970). Tierexperimentell konnte mit diesen Verbindungen eine starke Induktion mikrosomaler Enzyme hervorgerufen werden (Risebrough et al., 1969). Da jetzt angestrebt wird, die höher chlorierten PCB's durch niedriger chlorierte Verbindungen zu ersetzen, sind die toxikologischen Eigenschaften dieser Stoffe (Di- bis Tetrachlorbiphenyle) von besonderem Interesse. Hierbei sind zwei Expositionsformen zu unterscheiden: die chronische Aufnahme in den Organismus auf dem Weg der allgemeinen Umweltcontamination mit diesen Stoffen und die akute Resorption relativ großer Mengen beim technischen Einsatz der PCB's u. a. als Isolations-, Wärmeaustausch- und Hydraulikflüssigkeiten.

Nachdem für das technische PCB-Gemisch Pydraul A 200® (Monsanto) an Ratten die Verteilung im Organismus beschrieben (Benthe et al., 1972) und eine akute mikrosomale Enzyminduktion nachgewiesen wurde (Nissen, 1970), sollten nunmehr die zeitliche Dauer der Enzyminduktion und die mögliche Mobilisation des im Fettgewebe deponierten Tetrachlorbiphenyls Aroclor 1248® (Monsanto) untersucht werden.

Methoden

Männliche Wistar-Ratten (200 bis 230 g) erhielten eine einmalige intraperitoneale Injektion von Tetrachlorbiphenyl (Arochlor 1248) bzw. äquimolare Dosen Dichlorbiphenyl (Arochlor 1232) — im folgenden TCB bzw. DCB genannt — (1 + 1 mit Olivenöl gemischt) und bekamen bis zur Tötung Futter (Altromin-R) und Wasser ad libitum. Als Kontrolltiere dienten Ratten desselben Kollektivs, denen nur Olivenöl i.p. injiziert wurde. Die Tötung erfolgte nach den angegebenen Zeiten (zwischen 15 und 18 Uhr) durch Genickschlag und Dekapitation.

Die Bedingungen des Stress bestanden in Nahrungsentzug und einer Umgebungstemperatur von 3 °C.

Mikrosomenpräparation

Sofort nach Tötung der Tiere wurden die Lebern entnommen, in eiskaltem 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 entblutet, gewogen, in eiskaltem Phosphatpuffer pH 7,4 kleingeschnitten und gespült, danach in 8 Vol. frischem Puffer homogenisiert (Potter-Elvehjem). Das Homogenat wurde 10 min bei 3000 xg und 20 min bei

DSW 031238

STLCOPCB4015200

17000 xg zentrifugiert, der klare Überstand abgesaugt und 60 min bei 105000 xg zentrifugiert (Rotor 30, Spinco L2). Die sedimentierten Mikrosomen wurden nach Abgießen des Überstandes und Abspülen der lose aufliegenden Schichten in frischem Phosphatpuffer unter Zurücklassung des Glykogensedimentes rehomogenisiert und erneut 60 min bei 105000 xg zentrifugiert. Die so gewaschenen Mikrosomen wurden derart in frischem Puffer aufgenommen, daß etwa 40 mg Protein/ml suspendiert waren.

Als Maß der Aktivität mikrosomaler Enzyme diente die oxydative O-Demethylierung von p-Nitroanisol, gemessen in Anlehnung an die von Netter (1963) angegebene Methode. Dabei enthielten 2 ml Inkubationsansatz 200 µMol Phosphatpuffer pH 7,4, 5,5 µMol Glucose-6-Phosphat (Boehringer), 12,5 µMol Nicotinsäureamid, 30 µMol $MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$, 0,3 µMol p-Nitroanisol, 2 mg mikrosomales Protein, 800 mU Glucose-6-Phosphatdehydrogenase. Der Inkubationsansatz wurde mit O_2 gesättigt und in eine 1 cm Küvette gefüllt.

Nach ca. 3 min Vorinkubation bei 37 °C wurde die Reaktion mit der Zugabe von 0,02 µMol NADP gestartet. Das entstehende p-Nitrophenol wurde durch die Extinktionszunahme bei 420 nm im Spektrophotometer PM Q_2 (Zeiss) gegen eine Referenzküvette (ohne NADP) in Zeitintervallen von 1 min über eine Dauer von 15 min registriert. Die Reaktion verlief etwa bis zur 10. min mit konstanter Geschwindigkeit. Für Mikrosomen unbehandelter Normaltiere betrug der p-Nitroanisolumsatz 0,72 nMol/mg mikrosomales Protein/10 min bei 37 °C. Dieser Wert wurde in jeder Serie an Hand von zwei Kontrolltieren überprüft, gleich 100 % gesetzt und darauf die Enzymaktivität der mit Tetrachlordiphenyl behandelten Ratten bezogen.

Analytik

Die Bestimmung des Eiweißgehaltes der Mikrosomenpräparationen erfolgte mit der Biurot-Reaktion mit Rinderalbumin als Eichsubstanz. Zur Bestimmung des PCB-Gehaltes in der Leber wurde 1 g Gewebe mit wasserfreiem Na_2SO_4 zu einem trockenen Pulver verrieben, zweimal mit 40 ml $CHCl_3$ p.A. extrahiert, die vereinigten $CHCl_3$-Auszüge wurden im Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft und der Rückstand (im folgenden als Gesamtlipid bezeichnet) gravimetrisch bestimmt. Die Extraktion des PCB aus diesem Gesamtlipid erfolgte nach Grant et al. (1971) und die quantitative Bestimmung nach Benthe et al. (1972). Die Ausbeute betrug nach diesem Verfahren 85 ± 5,1 %.

Alle Chemikalien waren analysenrein, Hexan und Heptan spektralrein (Uvasol, Merck), G-6-P, G-6-PDH, NADP von Fa. Böhringer, p-Nitroanisol p.A. Schuchardt. Für die Überlassung des Tetrachlordiphenyl Aroclor® 1248 und des Dichlordiphenyl Aroclor® 1232 danken wir der Herstellerfirma Monsanto.

Ergebnisse

Zur Ermittlung einer geeigneten Dosierung wurde das PCB in zunehmender Menge an Ratten verabfolgt und die mikrosomale Aktivitätssteigerung nach 2 bzw. 4 Tagen gemessen (Tabelle 1).

Demnach dürfte die Schwellendosis um 5 mg/kg TCB liegen, während für DCB eine erheblich höhere Dosis erforderlich ist. Um in den weiteren Untersuchungen mit TCB eine deutliche mikrosomale Aktivitätssteigerung erwarten zu können, wurde eine Dosis von 500 mg/kg TCB gewählt. Wie Tabelle 1 zeigt, hat die äquimolare Dosis DCB einen wesentlich schwächeren Effekt.

DSW 031239

STLCOPCB4015201

Tabelle 1. *Steigerung der oxidativen Demethylierung in Abhängigkeit äquimolarer Mengen TCB und DCB. Mittelwerte von 4 Tieren ± s*

mg PCB/kg	Tage nach Injektion	mikrosomale p-Nitroanisol-Demethylierung % der Kontrolle
Kontrolle	2	100* ± 4,6
Kontrolle	4	100 ± 4,6
5 TCB	2	146 ± 65,0
5 TCB	4	108 ± 31,2
25 TCB	4	146 ± 35,8
50 TCB	4	208 ± 29,0
500 TCB	4	488 ± 14,0
38,2 DCB	4	146 ± 25,0
382 DCB	2	315 ± 34,4
382 DCB	4	266 ± 52,7

* 100 % = 6,72 ± 0,31 nMol p-Nitrophenol/mg mikrosomales Protein · 10 min.

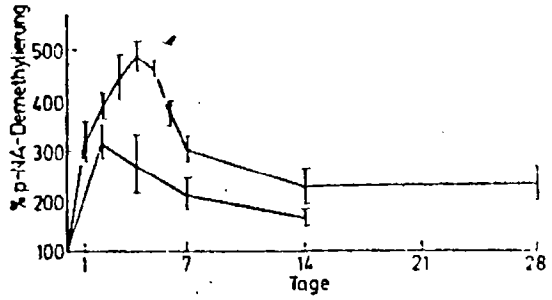

Abb. 1. p-Nitroanisol-Demethylierung in Prozent der Kontrolle (100 % = 6,72 nMol ± 0,31 nMol p-Nitrophenol/mg mikrosomales Protein/10 min) in Abhängigkeit von der Zeit nach einmaliger i.p. Injektion von 500 mg TCB (obere Kurve) bzw. 382 mg DCB/kg KG (untere Kurve). Mittelwerte von fünf Ratten ± s

Eine Prüfung des zeitlichen Verlaufs des Induktionseffektes ergibt, daß das Maximum 3 bis 4 Tage nach 500 mg/kg TCB erreicht wird, bis zum 7. Tag erfolgt eine rasche Abnahme der Aktivität, um danach kaum noch abzunehmen, so daß auch 28 Tage nach PCB-Applikation die mikrosomale Aktivität den Kontrollwert um mehr als das Doppelte überschreitet. Einzelmessungen 8 und 13 Wochen nach Applikation ergaben immer noch erhöhte Werte. Relativ zum TCB ist demgegenüber das Aktivierungsausmaß nach einer äquimolaren Dosis DCB erheblich niedriger, schon nach 2 Tagen scheint das Maximum erreicht zu sein. Der Effekt ist jedoch nach 14 Tagen noch deutlich nachweisbar (Abb. 1).

DSW 031240

STLCOPCB4015202

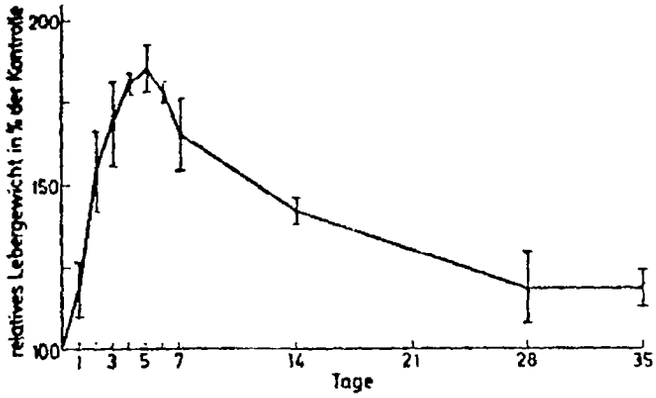

Abb. 2. Relatives Lebergewicht (g/100 g KG) in % der Kontrolle in Abhängigkeit von der Zeit nach einmaliger i.p. Injektion von 500 mg TCB/kg KG. Mittelwerte von sechs Ratten (Wert nach 35 Tagen von 4 Ratten) ± s

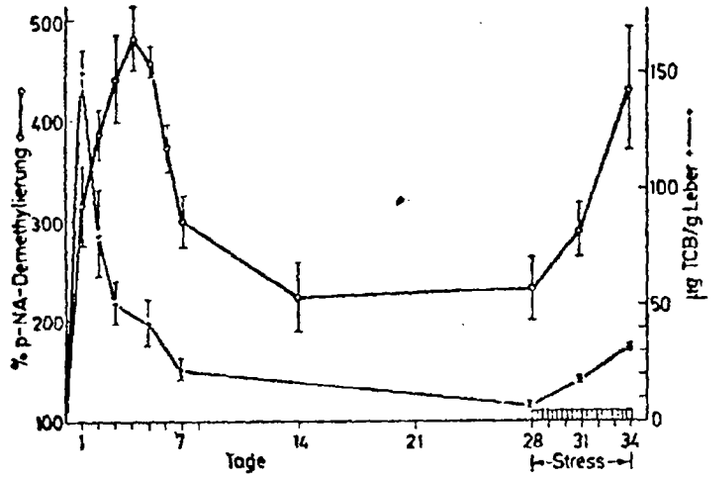

Abb. 3. Abhängigkeit der TCB-Konzentration der Leber und der mikrosomalen p-Nitroanisol-Demethylierung (in % der Kontrolle) in Abhängigkeit von der Zeit nach einmaliger Gabe von 500 mg TCB/kg KG (s. Abb. 1) und ab 28. Tag von der Stressdauer. Für je 6 Kontrolltiere 100 % = 6,72 ± 1,5 (28. Tag), 13,2 ± 2,15 (31. Tag), 10,2 ± 1,2 (34. Tag) nMol p-Nitrophenol/mg mikrosomales Protein/10 min

Der Aktivitätserhöhung geht eine Erhöhung des Lebergewichtes parallel (Abb. 2). Einer steilen Gewichtszunahme innerhalb der ersten 5 Tage folgt ein langsamer Abfall, erst nach 4 Wochen nähert sich das Lebergewicht dem der Kontrollen.

DSW 031241

STLCOPCB4015203

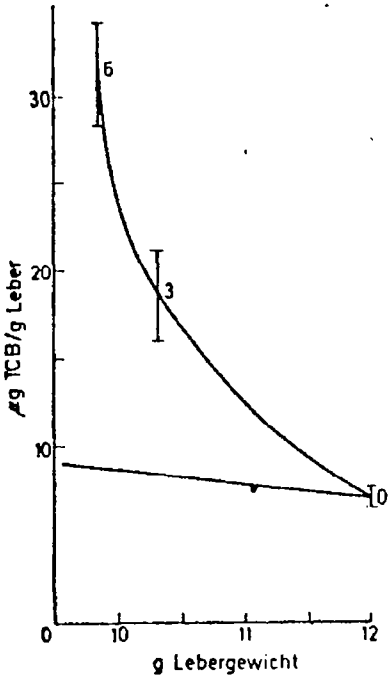

Abb. 4

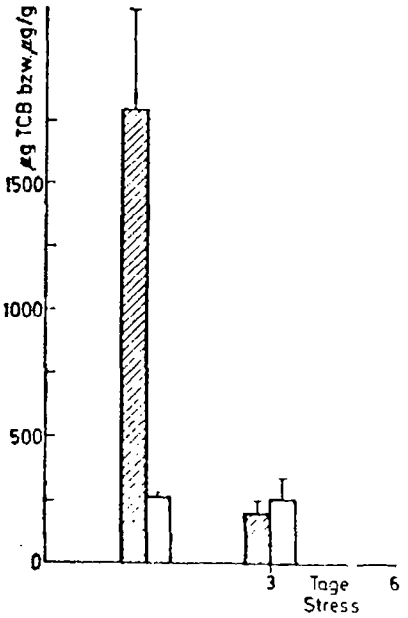

Abb. 5

Abb. 4. TCB-Einstrom in die Leber unter Stressbedingungen. Obere Kurve: TCB-Konzentration zu Beginn und nach 3 und 6 Tagen Stress aufgetragen gegen entsprechende Lebergewichte. Untere Kurve: Umrechnung der TCB-Konzentration am Stressbeginn (28. Tag nach TCB-Applikation) auf abnehmende Lebergewichte

Abb. 5. TCB-Menge (µg TCB) im gesamten retroperitonealen Fettgewebe (schraffierte Säulen) und TCB-Konzentration (µg/g Fettgewebe) nach einmaliger Injektion von 500 mg TCB/kg KG und anschließendem 3tägigen Stress. Mittelwerte von 6 Ratten ± s_x

Für die PCB-Konzentration in der Leber (Abb. 3) wird ein maximaler Wert (150 µg TCB/g) 24 Std nach Applikation gemessen, der dann innerhalb von 7 Tagen in annähernd exponentiellem Verlauf auf einen Wert von 22 µg/g absinkt, um sich danach nur noch langsam zu verringern.

Ein Vergleich zwischen TCB-Gehalt und mikrosomaler Stimulation zeigt, daß die Stimulierung mit einer zeitlichen Phasenverschiebung von 2 bis 3 Tagen dem PCB-Gehalt in der Leber parallel läuft.

Aus früheren Verteilungsstudien (Benthe et al., 1972) ist bekannt, daß PCB in das Fettgewebe umverteilt wird. In den vorliegenden Untersuchungen betrug 28 Tage nach Applikation die PCB-Konzentration 252 µg/g Fettgewebe. Es ergibt sich nun die Frage, ob unter

DSW 031242

STLCOPCB4015204

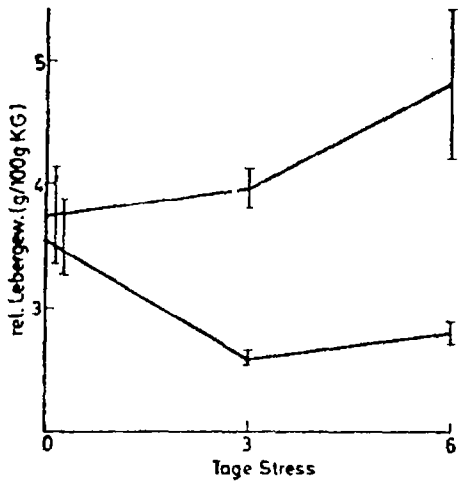

Abb. 6. Verhalten des relativen Lebergewichtes (g/100 g KG) TCB behandelter Ratten (obere Kurve) und unbehandelter Kontrolltiere unter den Bedingungen des Stress. Ausgangswert 4 Wochen nach einmaliger i.p.-Injektion von 500 mg TCB/kg KG

Stressbedingungen das im Fettgewebe gespeicherte PCB mobilisiert wird und eine erneute Steigerung der Enzymaktivität in der Leber auslöst. Zu diesem Zweck wurden die Ratten 28 Tage nach PCB-Applikation einer Umgebungstemperatur von 3 °C ausgesetzt und ihnen das Futter entzogen.

An zwei Tiergruppen wurden jeweils nach 3 und 6 Tagen folgende Größen bestimmt: O-Demethylierung, TCB-Konzentration von Leber und Fettgewebe und relatives Lebergewicht. Als Vergleich dienten unter den gleichen Bedingungen Kontrolltiere desselben Rattenkollektivs, die mit Olivenöl behandelt waren. Wie Abb. 3 zeigt, ist bereits nach 3 Tagen Stress die TCB-Konzentration in der Leber auf über das Doppelte angestiegen (von 7,0 auf 18,2 µg/g), nach 6 Tagen Stress auf 32 µg/g. Diese Konzentrationszunahme kann nicht mit der Abnahme des absoluten Lebergewichtes erklärt werden. Trägt man nämlich die PCB-Ausgangskonzentration in Abhängigkeit vom Lebergewicht auf, so erhält man die untere Kurve der Abb. 4; die tatsächlich gemessenen Konzentrationen entsprechen der oberen Kurve und zeigen eine überaus steile Zunahme. Diese Zunahme beruht auf einer Mobilisierung des TCB aus dem Fettgewebe. Abb. 5 zeigt, daß unter Stress die TCB-Menge im gesamten Fettgewebe abnimmt, infolge der Lipolyse die TCB-Konzentration (µg/g Fett) jedoch konstant bleibt. Nach 6 Tagen Stress war alles retroperito-

DSW 031243

STLCOPCB4015205

neale Fettgewebe eingeschmolzen, so daß keine Messung mehr durchgeführt werden konnte.

Mit der Konzentrationszunahme an TCB in der Leber erfolgt eine erneute mikrosomale Stimulierung, die nach 6 Tagen Stress 434% beträgt und damit das Maximum der Anfangsstimulation nach 500 mg/kg TCB fast wieder erreicht.

Auch die zu Anfang gefundene Gewichtszunahme der Leber wird unter Stressbedingungen erneut meßbar (Abb. 6): Während das relative Lebergewicht der Kontrollgruppe in den ersten 3 Tagen steil abfällt, zeigt es bei TCB-behandelten Tieren eine deutliche Tendenz zur Zunahme.

Diskussion

Bisher veröffentlichte Untersuchungen über die Induktion mikrosomaler Leberenzyme an Kaninchen (Villeneuve, 1971), Ratten (Street zit. nach Peakall u. Linder, 1970) und Falken (Linder u. Peakall, 1970) mit höher chlorierten Diphenylen (Penta- bis Heptachlordiphenyl) waren jeweils singuläre Beobachtungen am Ende chronischer Fütterungsversuche. Nissen (1970) konnte dagegen zeigen, daß schon eine einmalige kurzzeitige Exposition diese Induktion bewirkte.

Wie Tabelle 1 und Abb. 1 zeigen, führen auch niederchlorierte Diphenyle nach einmaliger Applikation zu einer mikrosomalen Stimulation. Es interessierte nun die Frage, wie schnell das TCB aus der Leber eliminiert wird und wie lange im Verhältnis dazu die erhöhte Aktivität der mikrosomalen Enzyme anhält. Während vom klassischen Induktor Phenobarbital z. B. die mikrosomale Aminopyrin-Demethylase 4 Tage nach der letzten Injektion wieder normal gefunden wird (Orrenius u. Ernster, 1964) dauert die erhöhte Enzymaktivität nach DDT mehrere Wochen an (Ghazal et al., 1964). Die Wirkung des TCB läßt sich danach sehr gut mit dem DDT vergleichen: 4 Wochen nach der TCB-Gabe ist die Aktivität der p-Nitroanisol-Demethylase auf 47% des Maximalwertes abgesunken und noch genau so hoch wie nach 2 Wochen. Einzelmessungen nach 8 bis 13 Wochen ergaben noch keine Normalwerte. Der TCB-Gehalt der Leber sinkt dagegen innerhalb der ersten 3 bis 5 Tage steil, danach aber nur sehr langsam. Nach 4 Wochen sind noch 5% des Ausgangswertes in der Leber enthalten (Abb. 3). Dieser Befund stimmt gut mit den Analysen von Grant et al. (1971) überein, der 3 Wochen nach Gabe von 500 mg/kg Pentachlordiphenyl (Aroclor 1254) noch 13% der Konzentration des 2. Tages fand. Auch die Zunahme des relativen Lebergewichtes durch Aroclor 1254 gilt ebenfalls für TCB (Aroclor 1248). Der zeitliche Verlauf (Abb. 2) geht mit mikrosomaler Aktivität parallel und erreicht maximal mit 6.75% (des Körpergewichts) das doppelte Gewicht der Kontrolle. Dabei ist fraglich, ob diese gewaltige Zu-

DSW 031244

STLCOPCB4015206

ahme allein mit der Zunahme des endoplasmatischen Reticulum rklärt werden kann.

Vergleicht man die zeitlichen Verläufe des TCB-Gehaltes der Leber mit dem des Fettgewebes, dann wird deutlich, daß ein großer Teil des TCB aus der Leber ins Fettgewebe umverteilt wird, wie wir dies auch nach PCB-Applikation mittels Aerosol nachweisen konnten (Benthe et al., 1972).

Die Frage lautete nun: Ist das im Fettgewebe deponierte TCB mobilisierbar, wenn unter lipolytischen Bedingungen Fettgewebe eingeschmolzen wird. Für das DDT ist diese Rückverteilung aus dem Fettgewebe mehrfach beschrieben (Dale et al., 1962; Brown, 1970; Findlay u. Freitag, 1971). Wenn außerdem 7 µg TCB/g Leber noch ausreichen, die mikrosomale Aktivität auf einem höheren Niveau zu halten, dann könnte im Falle einer Rückverteilung eine nochmalige Steigerung der Induktion erwartet werden unter der Voraussetzung, daß das TCB lange genug auf die Leber einwirken kann. Die Abb. 4 und 5 zeigen die Bestätigung unserer Hypothese, daß bei der Einschmelzung des Fettgewebes TCB mobilisiert wird und die Leberkonzentration erneut ansteigt. Die erreichte Konzentration entspricht mit 32 µg/g Lebergewebe etwa dem 7 Tage-Wert nach der i.p.-Injektion. Die Steigerung der O-Demethylierung nach 3 Tagen Stress entspricht mit knapp 300% dem 7 Tage-Wert und erreicht nach 6 Tagen fast wieder Maximalwerte. Die Steigerungen beziehen sich auf unbehandelte Kontrolltiere des gleichen Kollektivs, die denselben Bedingungen unterworfen waren. Dies ist auch deswegen wichtig, da die Bedingungen des Hungers allein schon zu einer Aktivitätszunahme mikrosomaler Enzyme führen (Abb. 3), wie schon Kato (1967) und Gram et al. (1970) gezeigt haben. Mit diesen Befunden stimmt ebenfalls die Zunahme des relativen Lebergewichtes überein. Dazu muß bemerkt werden, daß die Abnahme des absoluten Körpergewichtes in den Kollektiven keine signifikanten Unterschiede aufwies.

Es kann damit als erwiesen gelten, daß unter den Bedingungen der Lipolyse eine Konzentration von 260 µg TCB/g Fettgewebe ausreicht, mikrosomale Enzyme der Rattenleber zu induzieren. Diese Konzentration liegt zwar 40fach höher als im Fettgewebe von Normalpersonen (6 ppm) (Quentin, 1972), aber angesichts der langen Verweildauer im Fettgewebe könnte es bei beruflicher Exposition leicht zu einer Kumulation bis in diese Konzentrationsbereiche kommen.

Literatur

Bagley, G. E., Reichel, W. L., Cromartie, E.: Identification of polychlorinated biphenyls in two bald eagles by combined gas-liquid chromatography mass spectrometry. J. Ass. Offic. Anal. Chem. 53, 251 (1970).

Benthe, H. F., Knop, J., Schmoldt, A.: Aufnahme und Verteilung nach Inhalation polychlorierter Biphenyle (PCB). Arch. Toxikol. 29, 85—95 (1972).

DSW 031245

STLCOPCB4015207

Biros, E. J., Walker, A. C., Medbury, A.: PCB's in human adipose tissue. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 5, 371 (1970).
Brown, J. R.: The effect of environment and dietary stress on the concentration of DDT in rats. Toxicol. appl. Pharmacol. 17, 504 (1970).
Dale, W. E., Gaines, T. B., Hayes, W. J.: Storage and excretion of DDT in starved rats. Toxicol. appl. Pharmacol. 4, 89 (1962).
Duke, T. W., Lowe, J. J., Wilson, A. J., Jr.: A polychlorinated Biphenyl (Arochlor 1254) in the water, sediment and biota of Escambia Bay, Florida. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 5, 171 (1971).
Findlay, G. M., Freitag, A. S. W. de.: DDT movement from adipocyte to muscle cell during lipid utilization. Nature (Lond.) 229, 63 (1971).
Ghazal, A., Koransky, W., Portig, J., Klempau, J.: Beschleunigung von Entgiftungsreaktionen durch verschiedene Insektizide. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 249, 1 (1964).
Gram, T. E., Guarino, A. M., Schroeder, D. H., Davis, D. C., Reagan, R. L., Gilette, J. R.: The effect of starvation on the kinetics of drug oxidation by hepatic microsomal enzymes from male and female rats. J. Pharmacol. exp. Ther. 175, 12 (1970).
Grant, D. L., Phillips, W. E., Villeneuve, D. C.: Metabolism of a polychlorinated Biphenyl (Arochlor 1254) mixture in the rat. Bull environ. Contam. Toxicol. 6, 102 (1971).
Holmes, D. C., Simmons, J. H., Tatton, O. G.: Chlorinated hydrocarbons in British wildlife. Nature (Lond.) 216, 227 (1967).
Kato, R.: Effects of starvation and refeeding on the oxidation of drugs by liver microsomes. Biochem. Pharmacol. 16, 871 (1967).
Koeman, J. H., Noever, de Brauw, M. C. ten, Vos, R. H. de: Chlorinated Biphenyls in fish, mussels and birds from river Rhine and the Netherlands coastal area. Nature (Lond.) 221, 1126 (1969).
Orrenius, S., Ernster, L.: Phenobarbital induced synthesis of the oxidative demethylating enzymes of rat liver microsomes. Biochem. biophys. Res. Commun. 16, 60 (1964).
Netter, K. J.: Untersuchungen über die Hemmung des oxidativen und hydrolytischen Arzneimittelstoffwechsels. Habilitation, Hamburg 1963.
Nissen, K.: Der Einfluß chlorierter Diphenyle auf die Leberfunktion von Ratten. Dissertation, Hamburg 1970.
Peakall, D. B., Lincer, J. C.: Polychlorinated Biphenyls. Another long life wide spread chemical in the environment. Biol. Sci. 20, 958 (1970).
Quentin, K. E.: Pestizide im Wasser — Bestimmung, Entfernung und Grenzwerte. Vortrag, Hamburg 1972.
Risebrough, R. W., Rieche, P., Peakall, D. B., Hermann, S. G., Kirven, M. N.: PCB in the global Ecosystems. Nature (Lond.) 220, 1098 (1968).
Villeneuve, D. C., Grant, D. L., Phillips, E. J., Clark, M. L., Clegg, O. J.: Effects of PCB administration on microsomal enzyme activity in pregnant rabbits. Bull. Environ, Contam. Toxicol. 6, 120 (1971).

Professor Dr. H. F. Benthe
Pharmakologisches Institut
der Universität
Universitäts-Krankenhaus Eppendorf
D-2000 Hamburg 20
Martinistraße 52
Deutschland

DSW 031246

STLCOPCB4015208