

with albumin and with mixtures of the three. Fibrinogen hardly produces any foam. Globulins build a good foam column but they do not reach the albumin results. Albumin is the main factor in foam building. Mixtures of the albumin and globulin yield more foam than the column equivalents of each of these proteins separately. Since fibrinogen is of no importance, the test can and should be made with serum and not with plasma.

Two more facts could be observed: (1) Quick and short heating to 100°C before shaking increases the foam-production double or even threefold. The test-tubes are photographed by pairs, those tubes with the higher foam level demonstrating the heating effect.

(2) Though the foam column shrinks to a very small ring after standing for about two hours, the phenomenon of foam production can be quantitatively reproduced by renewed shaking and it can be repeated several times.

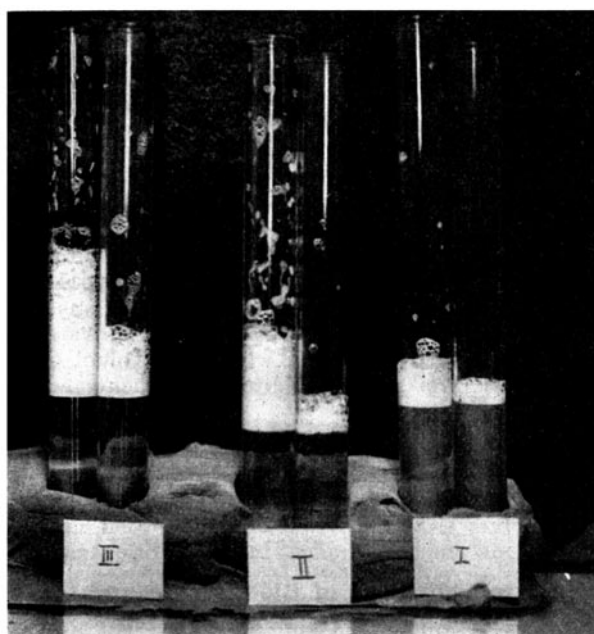


Fig. 1.

There is one exception to the rule of the relation between foam amount and the quantity of serum total-protein. It was to be expected that large amounts of lipids as highly surface-tension-active material diminish foam production. Values above 500 mg% cholesterol in the serum make the size of the foam column smaller than the actual amount of serum total-protein would yield. Serum of a diabetic patient was shaken in the described manner, before and after a fat meal. The foam column of the second specimen was about 0.5 cm less high due to the presence of 550 mg% total cholesterol. Serum of a patient with a nephrotic syndrome, where the total cholesterol of the serum was 1000 mg% and total-protein 6.0 g%, had a foam column of only 1.0 cm and not 2.0 or 2.2 cm as it should be expected at this protein level.

Thus, actual lipemia or very high cholesterinemia forbid the application of this test.

Otherwise this foam test seems suitable as a quick estimation method (not determination) for total-protein in the serum.

Details of the technique and its results will be published.
J. KLEEGERG

Medical Division A Rothschild-Hadassah-University Hospital, Jerusalem (Israel), November 10, 1950.

Zusammenfassung

Wenn Blutserum als eine kolloidale Eiweißlösung mit *Aqua dest.* kräftig geschüttelt wird, dann bildet sich Schaum. Der Schaum wird hauptsächlich vom Albumin gebildet. Es besteht in grober Annäherung eine direkte Beziehung zwischen Eiweißmengen und Schaumhöhe. Deshalb kann man diese einfache Methode zur raschen Schätzung des Gesamteiweißes im Serum benutzen.

Comportamento dell'azoto non proteico (A.N.P.) del sangue e dei tessuti nell'avitaminosi B₁

Generalmente non si ammettono diretti rapporti tra tiamina e metabolismo proteico e secondo qualche ricercatore risulterebbe anche dimostrato che la tiamina non deve considerarsi come un fattore essenziale per il metabolismo protidico. Infatti secondo DANN¹ ratti che ricevono una dieta sintetica contenente 80% di caseina purificata possono essere mantenuti per oltre un anno senza tiamina. Tuttavia non mancano ricerche tendenti a dimostrare che la tiamina direttamente o indirettamente è connessa con il metabolismo protidico. Prima di ogni altro i risultati di LAVROFF e JARUSSOVA², i quali con ricerche di bilancio azotato sul piccione tenuto a digiuno proteico (regime a base di amido), osservano che mentre in assenza di tiamina il catabolismo azotato è molto intenso (bilancio azotato fortemente negativo), in presenza di tiamina invece esso è più ridotto, l'eliminazione dell'N si stabilizza e la sopravvivenza dell'animale è prolungata. Secondo i suddetti autori, la tiamina permette all'organismo di utilizzare le sostanze ternarie economizzando proteine e stabilendo il livello della distruzione proteica a un valore più basso. L'alterato metabolismo proteico, secondo queste vedute, dipenderebbe dall'impossibilità dell'organismo beriberico di utilizzare gli idrati di carbonio.

Che il bilancio azotato diventi progressivamente negativo col procedere dell'avitaminosi è un fatto assodato da tempo: solo che la maggior parte degli autori attribuisce questo comportamento allo stato d'inanizione cui vanno incontro gli animali in avitaminosi.

Da ricerche sul bilancio azotato in ratti in avitaminosi B₁ eseguite in questo Istituto da OTTELLI³ e da DE CARO⁴ risulta che il bilancio azotato può diventare negativo nell'avitaminosi B₁ anche indipendentemente dallo stato di inanizione.

Inoltre, per quanto riguarda l'escrezione urinaria azotata, è importante considerare, in relazione ad una eventuale ridotta utilizzazione protidica, che il rapporto dell'N ureico all'N totale è abbassato (KRITZMANN⁵).

Un interessante gruppo di lavori di BRAUNSTEIN e KRITZMANN si riferisce alle alterazioni della transaminazione, che esprimerebbe una particolare insufficienza del metabolismo intermedio.

Questi autori osservano che nei tessuti (muscolo, fegato, cervello, rene) dei ratti in avitaminosi B₁, incubati con acido L-glutammico e piruvico, il trasferimento del

¹ W. G. DANN, *Federation Proc.* 4, 153 (1945).

² B. A. LAVROFF e N. S. JARUSSOVA, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 21, 1139 (1939).

³ M. OTTELLI, *Quad. Nutriz.* 7, 342 (1941).

⁴ L. DE CARO, *Farmaco* 1, 16 (1946).

⁵ H. G. KRITZMANN, *Biokimiyia* 8, 85 (1943), in: *Brit. Abstr.* [A] 3, 422 (1944).

gruppo NH_2 dal primo al secondo è considerevolmente minore che nei tessuti normali. Anche la deaminazione della *l*-alanina (ma non della *d*-) o dell'acido *l*-glutammico e l'aminazione riduttiva dell'acido piruvico sono notevolmente depresse nell'avitaminosi B_1 . A queste alterazioni è ascritta l'aumentata eliminazione urinaria di aminoacidi e chetoacidi nell'avitaminosi B_1 . KRITZMANN¹ osserva che la velocità di transaminazione dell'acido glutammico e aspartico è notevolmente ridotta nei muscoli e nel fegato di piccioni in avitaminosi B_1 , particolarmente quando non si aggiunge alcun eccesso di acido α -chetoglutarico. Nei tessuti dei piccioni a digiuno totale la transaminazione è normale.

Altre insufficienze del metabolismo intermedio nell'avitaminosi B_1 consistono nella diminuita velocità di ossidazione e condensazione degli α -chetoacidi del ciclo di KREBS (BARRON e coll.²). L'aumentato contenuto in arginasi e istidasi nel fegato di animali privi di B_1 è considerato da EDLBACHER³ come un meccanismo di adattamento per provvedere alla formazione di una ulteriore quantità di acido glutammico e chetoglutarico per compensare l'insufficiente formazione di queste sostanze dai carboidrati.

Mettendo da parte, per il momento, la questione se le alterazioni del metabolismo protidico sono da considerare come conseguenze o meno dell'alterato metabolismo glucidico, resta da esaminare la natura e l'entità dell'alterazione del metabolismo protidico nell'avitaminosi B_1 .

Le presenti ricerche sono rivolte a studiare il comportamento dell'N non proteico del sangue e dei tessuti a digiuno e dopo l'ingestione della dieta.

Ratti del peso iniziale di 55–60 g, tenuti a dieta sintetica priva di vitamina B_1 (amido di frumento 65 %, caseina sgrassata e lavata 18 %, olio d'oliva 10 %, olio di fegato di merluzzo 2 %, miscela salina di OSBORNE e MENDEL 5 %) integrata con l'aggiunta, in quantità opportuna, delle altre vitamine del gruppo B (riboflavina, piridossina, niacina, acido pantotenico, biotina, inositolo e colina), venivano utilizzati per la ricerca quando il loro peso, dopo essere aumentato per circa 2–3 settimane, ritornava poco al di sopra di quello di partenza. Come controlli venivano usati ratti dello stesso peso iniziale alimentati con la stessa dieta, completata da 10 γ di aneurina cloridrato per ciascuno, *pro die*.

Per la determinazione dell'A.N.P., tenendo presente il metodo di MEZINCESCO e SZABO⁴, abbiamo operato nel seguente modo. I ratti venivano sacrificati per decapitazione e si raccoglieva il sangue in capsuline paraffinate, con tracce di ossalato di potassio. Si prelevava rapidamente 1 cm^3 di sangue che veniva laccato in una bevutina con 6 cm^3 di H_2O distillata; si precipitavano le proteine con l'aggiunta di 2 cm^3 di una soluzione fresca di acido tricloroacetico 20 %. Contemporaneamente si prelevava, sempre con la massima rapidità, circa 1 g di muscolo della coscia destra, 1 g circa del lobo sinistro del fegato e la stessa quantità di cervello che venivano ricoperti di neve carbonica, fino alla loro completa solidificazione. In pesafiltri tarati si ponevano 1 o 2 g di muscolo della coscia sinistra, di fegato e il resto del cervello. Queste ultime porzioni si ponevano in stufa a 110° fino a peso costante per la determinazione dell' H_2O nei tessuti.

¹ H. G. KRITZMANN, *Biokimya* 5, 281 (1940), in: *Brit. Abstr.* [A] 3, 684 (1941).

² E. S. G. BARRON, C. M. LYMAN, M. A. LIPTON e J. M. GOLLINGER, *J. Biol. Chem.* 141, 957 (1941).

³ S. EDLBACHER e G. VIOLIER, *Helv. chim. acta* 26, 1978 (1943); *Helv. Physiol. Pharm. Acta* 1, C 43 (1943).

⁴ M. D. MEZINCESCO e F. SZABO, *J. Biol. Chem.* 115, 131 (1936).

I pezzi che erano stati posti in neve carbonica venivano rapidamente pesati, ancora solidi, in pesafiltro, posti in mortai di porcellana con sabbia di quarzo lavata e calcinata. Dopo aggiunta di un numero di cm^3 di H_2O distillata uguale a 4 volte il suo peso, il tessuto veniva ridotto nel più breve tempo possibile, con energica triturazione, in poltiglia. Si aggiungeva un volume di acido tricloroacetico al 20 % uguale a quello dell' H_2O distillata precedentemente aggiunto e si triturava di nuovo in modo da ottenere una sospensione omogenea. Si lasciava a sé per un'ora, agitando col pestello di tanto in tanto; indi si filtrava. Dopo lo stesso tempo si filtrava anche il sangue. Le determinazioni dell'N venivano fatte col microkjeldahl secondo PARNAS-WAGNER-PREGL, usando 1 cm^3 del filtrato di cervello, fegato, muscolo e 5 cm^3 del filtrato di sangue.

Per il calcolo si teneva conto anche dell' H_2O propria del tessuto, considerando l'A.N.P. distribuito nel volume finale di liquido costituito dall' H_2O aggiunta + l' H_2O propria del tessuto + l'acido tricloroacetico. Con ovvio calcolo il contenuto dell'A.N.P. veniva riferito a 100 g di tessuto fresco.

Nelle tabelle I e II sono riportati *in extenso* i risultati da noi ottenuti sugli animali in avitaminosi e normali,

Tabella I¹
Ratti in avitaminosi

Tempo dal pasto h	Azoto non proteico			
	Sangue mg/100 cm^3	Cervello g %	Fegato g %	Muscolo g %
5	58,4	0,220	0,219	0,473
5	55,2	0,198	0,214	0,339
5	48	0,218	0,186	0,276
5	48,2	—	0,197	0,389
5	46,5	0,202	0,204	0,314
5	56,5	0,197	0,223	0,338
5	46,5	0,200	0,204	0,314
24	36,3	0,168	0,179	0,286
24	44	0,155	0,163	0,306
24	37,6	0,180	0,190	0,308

¹ Ognuno dei valori qui riportati è stato ottenuto dall'analisi di tessuti prelevati da 2 ratti per volta.

Tabella II²
Ratti normali

Tempo dal pasto h	Azoto non proteico			
	Sangue mg/100 cm^3	Cervello g %	Fegato g %	Muscolo g %
5	55,2	0,14	0,16	0,31
5	30	0,15	0,19	0,29
5	40	0,16	0,18	0,24
5	31	0,16	0,18	0,29
5	51	0,18	0,17	0,29
5	66,4	0,18	0,20	0,33
24	51	0,19	0,20	0,34
24	36,1	0,14	0,18	0,29
24	34,4	0,15	0,16	0,26
24	39,2	0,16	0,13	0,23
24	48,2	0,18	0,17	0,31
24	43,5	0,17	0,18	0,31
24	51,6	0,18	0,18	0,29
24	53,4	0,15	0,16	0,29

² Ognuno dei valori qui riportati è stato ottenuto dall'analisi di tessuti prelevati da 2 ratti per volta.

mentre nelle tabelle III e IV sono riunite le medie calcolate sugli stessi dati.

Tabella III
Ratti normali

Tempo dal pasto h	Azoto non proteico			
	Sangue mg/100 cm ³	Cervello g%	Fegato g%	Muscolo g%
5	45,6	0,161	0,180	0,291
24	44,6	0,165	0,170	0,290

Tabella IV
Ratti in avitaminosi

Tempo dal pasto h	Azoto non proteico			
	Sangue mg/100 cm ³	Cervello g%	Fegato g%	Muscolo g%
5	51,3	0,205	0,206	0,349
24	39,3	0,167	0,177	0,300

Dai dati delle tabelle I, II, III, IV risulta che, mentre negli animali normali l'A.N.P. del sangue e dei tessuti (cervello, fegato, muscolo) non presenta differenze 5 ore dopo il pasto e 24 ore dopo il pasto, come già noto (VAN SLVKE), negli animali in avitaminosi, invece, il contenuto dell'A.N.P. nel sangue e nei tessuti 5 ore dopo il pasto è sempre significativamente più elevato del contenuto dopo 24 ore il quale, in valore assoluto, coincide praticamente con i valori delle 5 e 24 ore degli animali normali. Questo aumento dell'A.N.P. nel sangue e nei tessuti inerente all'apporto alimentare può essere espressione di una ridotta capacità dei tessuti a fissare l'N alimentare e quindi di una rallentata sintesi protidica.

L. DE CARO e G. RINDI

Istituto di Fisiologia Umana dell'Università di Pavia,
1° novembre, 1950.

Summary

In avitaminosis B₁ (rats) the N.P.N. (non-protein nitrogen) of the blood and tissues (brain, liver, muscles) five hours after a meal is always higher than that of the controls. 24 hours after a meal, N.P.N. is reduced to normal values, i.e. equal to controls.

This behaviour may be interpreted as an expression of a reduced power of the tissues to fix food nitrogen and consequently of a retarded protein synthesis.

Influence of Thyroid Status on Body Growth

The functions of the thyroid during growth could be better understood, if it could be quantitatively expressed in terms of the amount of thyroxine, secreted by the thyroid gland. As the thyroxine secretion rate/100 g body weight decreases, with advancing age (MAQSOOD, 1950¹), it was decided to find out the levels of thyroidal stimulation which would accelerate growth rate in the male rabbit and the ram. Should a constant dose of

thyroxine be administered throughout the growth period or should the dosage levels be increased or decreased in accordance with the rate of thyroxine secretion in various species of animals, needed further investigations. With these objects in view, it was decided to administer known quantities of either thyroidal materials or goitrogens or both for varying periods, keeping in mind the estimated thyroxine secretion rate for that particular age group, in order to study the influence of thyroid status on growth in the young male rabbit.

Administration of L-thyroxine in amounts about 30 to 50 per cent above the estimated normal thyroxine secretion rate for a period of four weeks, significantly accelerated growth rate in the young male rabbit at different ages. In long term experiments growth stimulation was obtained by reducing the dosage of exogenous thyroxine corresponding to the observed decline in the thyroxine secretion rate, with advancing age, thereby maintaining the thyroxine level within the optimal physiological limits in the young male rabbit. Growth retardation was observed in the rabbit by greatly increasing the dosage of thyroprotein with advancing age. Administration of thyroxine in doses below or equal to the estimated normal thyroxine secretion rate did not affect the body weight gains in the rabbit. Mild thyroidal stimulation significantly accelerated the growth rate in the young ram. Factors like age and season influenced the response of the body towards exogenous thyroxine.

Administration of thiouracil retarded body growth in the young male rabbit and the ram. The decrease in the body weight gain was more marked in younger than in mature rabbits. Thyroidectomy performed in the newly born male rabbit also markedly retarded body growth. The growth retarding effect of thiouracil-treatment was checked by the simultaneous administration of thyroxine in doses equal to the estimated thyroxine secretion rate in the growing male rabbit.

In general, it can be concluded that thyroidal stimulation within the physiological limits accelerated body growth while thyroidal inhibition markedly arrested body growth in the young male mouse¹ rabbit and the ram. The work will be published elsewhere.

I am thankful to Dr. J. HAMMOND, F.R.S. and Dr. ARTHUR WALTON for their interest and help during the course of the present work and to Mr. A. G. CARRUTHERS for the statistical analyses of the results.

M. MAQSOOD

School of Agriculture, University of Cambridge, England, October 1, 1950.

Zusammenfassung

Optimale Reizung der Thyreodea innerhalb physiologischer Grenzen beschleunigte das Körperwachstum beim jugendlichen männlichen Kaninchen und beim Schafbock in verschiedenen Altersstufen. Eine Wachstumsbeschleunigung ließ sich über längere Zeit auch erhalten, wenn die Dosierung der exogenen Schilddrüsenstoffe mit zunehmendem Alter herabgesetzt wurde. Damit wurde die Thyroxinkonzentration innerhalb physiologischer Grenzen gehalten. Ein durch Thiouracil hervorgerufener Hypothyreoidismus hemmte das Körperwachstum beim jugendlichen männlichen Kaninchen und beim Schafbock.

¹ M. MAQSOOD and E. P. REINEKE, Amer. J. Physiol., 160, 253 (1950).

¹ M. MAQSOOD, Nature (London) 166, 735 (1950).