

Ces expériences montrent donc que la courbe représentant la relation entre la glycémie et la vitesse d'absorption du glucose par l'intestin n'est pas une hyperbole. Nous avons alors pensé à une fonction logarithmique de la forme:

$$V = A - K \log G,$$

équation dans laquelle A et K sont deux constantes dépendant des conditions expérimentales. La figure 2 dans laquelle nous avons reporté nos résultats avec une échelle semi-logarithmique, montre que cette hypothèse est exacte: les moyennes des huit groupes de cobayes se disposent suivant une droite. Dans nos conditions expérimentales, l'équation de cette droite, déterminée graphiquement, est la suivante:

$$V = 2625 - 945 \log G,$$

V étant exprimé en mg/h et G en mg/100 cm³ de sang. Comme nous le faisons remarquer plus haut, l'absorption du groupe huit est en accord avec cette formule.

Ces expériences montrent donc que l'absorption du glucose par l'intestin est soumise à une régulation analogue à celle du fer¹ dont l'absorption est réglée par la concentration du fer sérique. Il y a cependant une différence: l'excréte du glucose par l'intestin peut être importante, alors que celle du fer est pratiquement nulle.

Conclusion.

1° Il y a une relation fonctionnelle entre la glycémie et la vitesse d'absorption du glucose par l'intestin.

2° Pour des glycémies comprises entre 125 mg % et 1400 mg % la vitesse d'absorption du glucose décroît comme le logarithme des glycémies.

3° Dans les conditions de nos expériences, l'absorption du glucose est nulle pour une glycémie de 550 mg %; pour des glycémies supérieures, l'intestin excrète du glucose, et d'autant plus que les glycémies sont plus élevées.

(Mme) M. LOURAU et O. LARTIGUE

Institut de biologie, Service de physiologie, et Laboratoire Pasteur de l'Institut du radium, Paris, le 24 juillet 1951.

Summary

(1) There is a functional relationship between the glycaemic level and the glucose absorption rate from the intestine.

(2) Over a range of 125 mg % to 1400 mg %, the glucose absorption rates are decreasing as the logarithms of glycaemic levels.

(3) Under our experimental conditions, the glucose absorption rate is zero at the glycaemic level of 550 mg %. Above this level, amounts of glucose related to the blood sugar concentration are excreted into the intestinal lumen.

¹ S. GRANICK, Chem. Rev. 38, 379 (1946).

Bestimmung der Ausscheidung von Nebennierenrindensteroiden im menschlichen Urin

Die Ermittlung des Gehaltes des menschlichen Urins an Nebennierenrindenhormonen ist heute ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel. So herrscht die Bestrebung, Bestimmungsmethoden auszuarbeiten, die einerseits für die Nebennierenrindenhormone spezifisch sind und es anderseits ermöglichen, die Nebennierenrindensterioide getrennt zu erfassen. Wir haben in zahlreichen Versuchen die Ausscheidung von Nebennierenrindenhormonen im Urin von Ratten untersucht. Obwohl es unsere Methode erlaubt, 1 γ dem Urin zugesetzten

Desoxykortikosterons wieder zu finden, konnten wir weder vor der Verabreichung von Desoxykortikosteronazetat oder -glukosid noch nach täglich wiederholter Verabreichung von 2,5 mg das Vorhandensein dieser Stoffe im Urin nachweisen. (11-Dehydrokortikosteron und Kortison können mit unserer Methode nicht bestimmt werden.) Wie von einem von uns an anderer Stelle mitgeteilt wird, wird zum Leberhomogenisat zugesetztes Desoxykortikosteron außerordentlich rasch quantitativ in eine andere, bei unserer Reaktion nicht fluoreszierende Verbindung umgewandelt. Um so auffallender ist, daß mit den bisherigen Bestimmungsmethoden normalerweise beim Menschen große Mengen Nebennierenrindenhormone im Urin festgestellt wurden, die je nach der Erkrankung innersekretorischer Drüsen ab- oder zunahmen. Die quantitativen Angaben über die normale Tagesausscheidung variieren je nach der angewandten Methode zwischen 0,03 und 2,1 mg¹. Es sei darauf hingewiesen, daß mit den bisher gebrauchten unspezifischen chemischen Bestimmungsmethoden alle Nebennierenrindensterioide erfaßt wurden. Es kann deswegen über die Natur der ausgeschiedenen Hormone nichts ausgesagt werden. STAUDINGER und SCHMEISSER² finden mit der von ihnen modifizierten Phosphormolybdänsäuremethode nach HEARD und SOBEL³ beim Menschen unter Normalbedingungen 700 ± 50 γ Nebennierenrindenhormone, wovon ein Fünftel Desoxykortikosteron sein soll und vier Fünftel Glukokortikoide⁴. Weiter fanden diese Autoren nach parenteraler Gabe von Desoxykortikosteronglukosid oder -azetat, daß davon 20 bis 25 % wieder ausgeschieden werden und nach Verabreichung von ACTH oder von 100 bis 200 mg Kortison, daß die Glukosteroide im Urin beträchtlich ansteigen.

Diese Befunde haben uns veranlaßt, auch mit unserer Methode⁵ den menschlichen Urin auf seinen Gehalt an Nebennierenrindenhormonen vor und nach Verabreichung von Desoxykortikosteronglukosid oder -azetat zu prüfen. Der Urin wurde jeweils vor der Verabreichung des Hormons während 24 h gesammelt und untersucht; nach intramuskulärer Verabreichung von Desoxykortikosteronazetat wurde ebenfalls der 24-h-Urin untersucht; nach intravenöser Zufuhr von Desoxykortikosteronglukosid wurde die Bestimmung nach 4,5 h durchgeführt. Die gesammelten Urinmengen wurden im Kühlschrank aufbewahrt. Die chemische Bestimmung wird wie folgt ausgeführt: Ein Teil des Urins, 250 bis 500 cm³, wird mit Eisessig angesäuert oder mit HCl auf pH 1 gebracht, dann fünfmal mit Chloroform 1:10 kräftig ausgeschüttelt. Die gebildete Emulsion wurde jeweils abzentrifugiert, das Chloroform abgetrennt und der überstehende Urin zum restlichen zurückgegeben. (Der Gebrauch von Aktivkohle zur Trennung der Emulsion wurde vermieden, da diese einen Teil des Hormons adsorbiert.) Der Chloroformextrakt wurde nun nacheinander mit 1 n NaOH, 0,1 n NaOH und 0,1 n HCl gewaschen, die Waschflüssigkeit wieder mit Chloroform extrahiert. Dann wurde das gesammelte Chloroform in Vakuum bei 45–50°C eingedampft (wenn not-

¹ A. ZAFFARONI, R. B. BURTON und E. H. KEUTMAN, Science 111, 6 (1950). – N. B. TALBOT, A. H. SALTMAN, R. L. WIXOM und J. K. WOLFE, J. Biol. Chem. 160, 535 (1945). – R. D. H. HEARD und H. SOBEL, J. Biol. Chem. 165, 687 (1946). – W. H. DAUGHADAY, H. JAFFE und R. H. WILLIAMS, J. Clin. Endocrinol. 8, 166, 244 (1948).

² H. STAUDINGER und U. SCHMEISSER, Z. physiol. Chem. 283, 54 (1948); Biochem. Z. 321, 83 (1950).

³ R. D. H. HEARD und H. SOBEL, J. Biol. Chem. 165, 687 (1946).

⁴ L. WEISSBECKER und H. STAUDINGER, Klin. Wschr. 29, 59 (1951).

⁵ L. LASZT und B. NEYMAN, Helv. physiol. acta [C] 9, 8–9 (1951).

| Versuchs-person | Klinische Diagnose | Ausgeschiedene Menge Nebennierenrindenhormon in Milligramm, als Desoxykortikosteron berechnet | | |
|-----------------|--------------------|---|--|--|
| | | Vor Verabreichung von Desoxykortikosteron | 4,5 h nach Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteron-glukosid intravenös | 24 h nach Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteron-acetat intramuskulär |
| K. J. | Magenkarzinom | 0 | — | — |
| B. L. | Ösophaguskarzinom | 0 | — | — |
| F. J. | Ösophaguskarzinom | 0 | — | — |
| C. R. | Nierenkarzinom | 0 | — | — |
| P. J. | Gesund | 0 | — | — |
| P. J. | Gesund | 0 | — | — |
| R. G. | Gesund | 0 | 0,400 | — |
| N. B. | Gesund | 0 | — | 0 |
| N. B. | Gesund | 0 | 0,420 | — |
| L. L. | Gesund | 0 | — | 0 |
| L. L. | Gesund | 0 | 0,350 | — |
| K. F. | Gesund | — | 0,380 | — |

wendig vorher filtriert), der Rückstand in 4 cm^3 Eisessig¹ gelöst, mit 12 cm^3 3 n HCl versetzt und während 15 min am Rückflußkühler gekocht. Nach Abkühlen wurde zur Reinigung zweimal mit 10 cm^3 Petroläther extrahiert, dann wieder mit 24 cm^3 Wasser versetzt und die Hormone viermal mit 10 cm^3 Chloroform extrahiert, das Chloroform in Vakuum bei $45-50^\circ\text{C}$ verdampft, der Rückstand in 1 cm^3 Chloroform gelöst, 4 cm^3 Dimethylsulfat² zugesetzt, in ein trockenes Reagenzglas übergeführt und im Wasserbade 20 min gekocht. Bei höherer Konzentration wird entsprechend verdünnt, so daß 1 cm^3 Chloroform nicht mehr als 8γ Hormon enthält.

Nach Abkühlen wird die Intensität der aufgetretenen Fluoreszenz mit derjenigen einer bekannten Menge des zu bestimmenden Nebennierenrindensteroids, in diesem Falle mit Desoxykortikosteron, verglichen. Die Farbe der Fluoreszenz ist je nach Steroid verschieden und variiert zwischen Gelb, Rot und Orange³. Auch sind die Reaktionszeiten, vom Beginn der Färbung bis zur Erreichung ihres Maximums, unterschiedlich. Die Messung ist am genauesten, wenn die zu bestimmende Menge pro 1 cm^3 Chloroform und 4 cm^3 Dimethylsulfat 1 bis 8γ beträgt, das heißt 0,2 bis $1,6 \gamma$ pro Kubikzentimeter Reaktionsgemisch. Für kleinere Mengen Hormon kann dementsprechend weniger Chloroform, bzw. Dimethylsulfat verwendet werden, so daß die Konzentrationsverhältnisse dieselben bleiben. Die Farbintensität bleibt im Dunkeln unter Luftabschluß tagelang konstant. Eine chromatographische Trennung der verschiedenen Nebennierenrindensteroide war nicht notwendig. Wie die Tabelle zeigt, finden wir im Urin männlicher Versuchspersonen von 25 bis 73 Jahren keine der mit Dimethylsulfat reagierenden Nebennierenrindensteroide. Auch nach intramuskulärer Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteronacetat wird im Gegensatz zu den Befunden von STAUDINGER und SCHMEISSER (l. c.), keines dieser Hormone im Urin nachgewiesen. Hingegen fanden wir nach intravenöser Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteronglukosid einen geringen Teil davon als solches im Urin wieder.

Kontrollversuche haben ergeben, daß 10γ dem Urin beigefügtes Desoxykortikosteronglukosid mittels unserer Methode mit einem Fehler von $\pm 10\%$ bestimmt werden können. Die Streuung ist wesentlich kleiner, wenn Deso-

xykortikosteron oder Desoxykortikosteronacetat zugegeben wird. Es wird die Aufgabe weiterer Arbeiten sein, zu untersuchen, wie die Nebennierenrindensteroide im menschlichen Organismus umgewandelt werden und ob bei verschiedenen Funktionsstörungen nach Verabreichung von Desoxykortikosteronglukosid Veränderungen in der Ausscheidung feststellbar sind.

L. LASZT und B. NEYMAN

Physiologisches Institut der Universität Fribourg, den 4. August 1951.

Summary

A method is described for the chemical estimation of corticosteroids in the urine. The method is suitable for the determination of all corticosteroids, except 11-dehydrocorticosterone and cortisone, and allows the evaluation of fractions of 1γ of biologically active steroids.

None of the corticosteroids determined is excreted by the urine, either under normal conditions or after intra-muscular injection of 10 mg of desoxycorticosterone-acetate. If, however, it is intravenously injected in the glucoside form, part of the desoxycorticosterone is excreted by the urine.

PRO EXPERIMENTIS

Chemoresistenz von Bakterien und Newcombe-Test

Von NEWCOMBE¹ wurde 1949 ein Plattentest angegeben, mit dessen Hilfe es gelingt, aufzuklären, ob phagenresistente Bakterienvarianten aus sensiblen Formen durch spontane oder induzierte Mutationsschritte hervorgehen, die nicht an die Anwesenheit des Phagen gebunden sind, oder ob die Resistenz erst unter der Einwirkung des Phagen entsteht.

Eine ähnliche Fragestellung ist bei Chemoresistenzen gegeben. Auch bei Chemoresistenzen läßt sich das von NEWCOMBE angegebene Testverfahren in etwas modifizierter Form anwenden, um aufzuklären, ob chemoresistente Bakterienvarianten vor oder erst unter der Einwirkung des chemischen Agens (allein oder in Kombination mit anderen Noxen) entstehen.

Dem Newcombe-Test liegt der einfache Gedanke zugrunde, daß durch Verteilen der in einer einzigen Mikrokolonie enthaltenen Bakterien zahlreiche Kolonien erhalten werden können. Dies gilt auch, wenn auf demselben Nährboden nebeneinander verschiedene Bakterienarten, bzw. Varianten der gleichen Art gewachsen

¹ Eisessig pro Analyse Merck.

² Das Dimethylsulfat (reines Handelsprodukt) darf weder gefärbt sein noch freie Schwefelsäure enthalten.

³ Ch. DHÉRÉ und L. LASZT, C. r. Acad. Sci., Paris 224, 681 (1947).

1 H. B. NEWCOMBE, Nature 164, 150 (1949).