

Comparative results with the antifibromatogenic action of progesterone (32 animals) and of Δ^{11} -dehydroprogesterone (30 animals).—24 animals with progesterone belonging to older work also have been added.

Groups	No. of animals	Steroid per day μ g	Fibrous Tumoural Effect ²	Coefficient ² Q_{2-3}	Uterine weight gm
Progesterone ¹					
I	4	284 (255–306)	1.3 (1–1.5)	0	1.1 (0.5–1.5)
II	6	144 (126–176)	1.3 (1–1.5)	0	1.5 (1.1–2.2)
III	5	92 (83–108)	1.0 (1–1)	0	1.5 (1.0–2.3)
IV					
V	12	32 (21–47)	1.4 0.5–1.5)	0	2.1 (0.9–2.5)
VI	5	15 (13–19)	1.4 (1–1.5)	0	2.5 (1.8–3.1)
VII ⁴	12	15 (13–24)	1.5 (1.5–1.5)	0	2.9 (1.7–5.1)
VIII ⁴	12	9 (5–12)	3.6 (1.5–8)	1.0	3.2 (1.9–5.2)
Δ^{11} -dehydroprogesterone ³					
III	6	102 (90–106)	1.3 (1–1.5)	0	1.6 (0.9–2.5)
IV	4	64 (56–70)	1.5 (1–2)	0	2.1 (1.6–3.7)
V	8	32 (27–37)	1.9 (1–2)	0.25	2.2 (1.4–3.2)
VI					
VII					
VIII	12	8 (5–12)	2.3 (0.5–6)	0.3	2.9 (1.7–5.3)
IX	8	0	6.3 (3–11)	2.1	5.1 (2.8–9.8)

¹ 1, ½, and ¼ pellet of pure progesterone in I, II, and III; 1, ½, or ¼ mixed pellet in V to VIII.

² A. LIPSCHUTZ and M. MAASS, Cancer Res. 4, 18 (1944).

³ 1 and ½ pellet of pure Δ^{11} compound in III and IV; 3 mixed pellets in V; 1 or 2 mixed pellet in VIII.

⁴ These two groups belong to work formerly published (LIPSCHUTZ *et al.*, 1944) and are given for comparison. Group VI and VII are

coincident as to quantities absorbed per day. It will be seen how greatly actual results coincide with those in experiments made 10 years ago. It may be seen also how satisfactorily our classification though arbitrary is working; classification of results of these older experiments has been made anew and produced the same figures as before: 1.5 instead of 1.4, and 3.6 instead of 3.4.

fibrous effect is not a complete one (see discussion in LIPSCHUTZ¹, p. 133–135). The present results give new evidence as to this (group I). Likewise, complete inhibition was not attained with the maximal quantities of the Δ^{11} compound used (group III).

The comparative action of the two gestagens on the uterus also deserves interest. Progesterone counteracts the oestrogen-induced increase of uterine weight. As the vaginal entrance becomes closed under the influence of progesterone these small uteri may become distended (IGLESIAS *et al.*²; see also LIPSCHUTZ¹). All this occurred also with the Δ^{11} compound.

With reference to the uterine weight the following finding is remarkable. As seen from the table the decrease of the antifibromatogenic effect was with the threshold quantity not smaller than with the largest quantities used; on the contrary, quantities larger than the threshold quantity are necessary to counteract the abnormal increase of the uterine weight. This again applies both to progesterone and to the Δ^{11} compound.

Steroids were very generously supplied by Dr. A. WETTSTEIN, Ciba, Basel (Δ^{11} -dehydroprogesterone); by Drs. A. WHITE, Director of Research, and I. V. SOLLINS, Director, Chemical Specialities, New York, and Syntex, México (progesterone and oestradiol). Cordial thanks are due to them.

E. MARDONES, R. IGLESIAS, and
A. LIPSCHUTZ

Department of Experimental Medicine, National Health Service, Av. Irarrázaval 849, Santiago, Chile, April 20, 1953.

¹ A. LIPSCHUTZ, *Steroid Hormones and Tumors* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1950).

² R. IGLESIAS, A. LIPSCHUTZ, and G. NIETO, Cancer Res. 4, 510 (1944).

Zusammenfassung

Gleich Progesteron besitzt auch das Δ^{11} -Dehydroprogesteron starke antifibromatogene Wirkung, das heisst die Fähigkeit, die Entwicklung des durch Oestradiol beim Meerschweinchen erzeugten Fibroms der Abdominalserosa zu verhindern. Die hierzu benötigten Mengen des Δ^{11} -Dehydroprogestérons betrugen, wie beim Progesteron, bloss wenige Mikrogramme pro Tag, wenn aus subkutanen Tabletten absorbiert. Die Frage, ob mit der grösseren progestativen Wirkung des Δ^{11} -Dehydroprogestérons auch eine grössere antifibromatogene Wirkung einhergeht, bleibt einstweilen offen. Auch die durch Oestradiol erzeugte abnorme Vergrösserung des Uterus wird wie mit Progesteron so auch mit Δ^{11} -Dehydroprogesteron verringert. Die Absorptionsgeschwindigkeit des Δ^{11} -Dehydroprogestérons ist um mehr als das Doppelte geringer als diejenige des Progesterons.

Die Beeinflussung der Fruktoseaufnahme des isolierten Zwerchfells durch Insulin

Aus folgenden Untersuchungen ergibt sich, dass der Umsatz von Fruktose weniger insulinabhängig ist als derjenige von Glukose:

1. Der oxydative Abbau C¹⁴-markierter Fruktose durch Leberschnitte alloxandiabetischer und gesunder Ratten zeigt keinen Unterschied, während die Glukose-

oxydation bei alloxandiabetischen Tieren vermindert ist (CHERNIK und CHAIKOFF¹).

2. Bei eviszerierten Ratten und normalen Hunden beeinflusst Insulin den Gesamtfruktosegehalt, die Blutfruktosekonzentration und den Gesamtfruktoseumsatz nicht (CORI und CORI², WIERZUCHOWSKI und PIESKOW³, PLETSCHER und HESS⁴, WIERZUCHOWSKI, PIESKOW und OWSIANI⁵).

3. Bei diabetischen Menschen und pankreatektomierten Hunden wird Fruktose besser verwertet als Glukose (ROOT, STOTZ und CARPENTER⁶, CRAIG und Mitarbeiter⁷, LEUBNER und GABL⁸, PLETSCHER, FAHLÄNDER und STAUB⁹, STRAUSS und HILLER¹⁰, WEINTRAUT und LAVÈS¹¹, VERZAR¹², PLETSCHER und HESS⁴).

Die geringe Insulinabhängigkeit der Fruktose ist wahrscheinlich dadurch erklärt, dass die Fruktosephosphorylierung durch 2 Fermente (Hexokinase und Ketokinase), die Glukosephosphorylierung lediglich durch Hexokinase beschleunigt wird (CORI und SLEIN¹³, LEUTHARDT und TESTA¹⁴, STAUB und VESTLING¹⁵). Die Hexokinasewirkung wird durch Insulin beeinflusst (PRICE, CORI und COLOWICK¹⁶). Der wenig oder nicht gestörte Fruktoseumsatz bei Insulinmangel (siehe oben) spricht für Insulin-Unabhängigkeit der Ketokinase.

Die zitierten Experimente wurden an Leberschnitten oder an ruhenden Menschen und Tieren ausgeführt. Ziel der vorliegenden Arbeit war, Anhaltspunkte über die Wirkung von Insulin auf den Fruktosestoffwechsel der Muskulatur zu erhalten.

1. *Methodik.* Messung der Insulinwirkung modifiziert nach GEMILL und Mitarbeiter¹⁷, und des Glykogengehaltes der Zwerchfelle modifiziert nach PFLÜGER¹⁸ und PARNAS¹⁹: Bei 100–120 g schweren nüchternen männlichen Ratten vom gleichen Stamm wurden nach Dekapitation beide Zwerchfelloberflächen mit einem Irismesser entnommen und in eiskühler Pufferlösung nach KREBS und HENSELEIT gewaschen (pH nach Durchströmung mit 95 % O₂ und 5 % CO₂ = 7,4). Doppelan-sätze (I und II) von je 2,3 oder 4 Zwerchfelloberflächen gleicher Tiere in 2–4 ml Puffer mit 200 mg % Fruktose wurden mit und ohne Insulin («Vitrum») in O₂/CO₂ Atmo-

sphäre 90' lang geschüttelt (Frequenz 200/min). Entsprechende Doppelansätze ohne Insulin dienten als Kontrollen. Zuckerbestimmung der Inkubationsflüssigkeit am Anfang und Ende des Versuches nach HAGENDORN-JENSEN, Berechnung der verschwundenen Zuckermenge auf 100 mg Zwerchfelloberflächengewicht (nach Trocknen mit hartem Filtrierpapier). Vergleichende Untersuchungen mit 200 mg % Glukose in der Inkubationsflüssigkeit. Glykogenbestimmung: Die Zwerchfelloberflächen wurden nach beendeter Inkubation mit Fruktosepuffer in 2,7 ml eiskühlem destilliertem Wasser homogenisiert (Glas-homogenisator nach POTTER) und je Ansatz 2mal 1 ml Homogenat 1 h lang mit je 1 ml 60 % KOH im Wasserbad gekocht. Fällung des Glykogens mit 2 ml heissem Wasser und 4 ml 96 % Alkohol, Abzentrifugieren nach 3–4 Stunden und Auswaschen mit 2 ml 60-, 2 ml 80-, 2mal 2 ml 96 % Alkohol und 2 ml Äther. Invertierung nach NERKING¹ durch Kochen mit 5 ml 2,2 % HCl im Wasserbad. Bestimmung der Glukose nach HAGENDORN-JENSEN im ganzen Hydrolysat nach Erkalten und Neutralisation mit 2 % NaOH (gegen Methylorange). Berechnung des Glykogengehaltes auf 100 mg Gesamt-N (Bestimmung nach KJELDAHL).

2. *Resultate.* Tabellen 1–3: Zuckerverbrauch und Glykogenbildung von Zwerchfelloberflächen gleicher Tiere mit und ohne Insulin (II und I).

a) *Glukose- und Fruktoseaufnahme ohne Insulinzusatz* (Tab. I und II). Es wurde in allen Versuchen mehr Glukose aufgenommen als Fruktose. Der Unterschied ist signifikant ($p < 0,01$).

Tabelle I
Zuckerverbrauch mg/100 mg Zwerchfell

Ohne Insulin I	10 ⁻² Eh Insulin II	Differenz (II – I) mg/100 mg Zwerchfell	%
0,435	0,54	0,105	23
0,32	0,52	0,20	62
0,38	0,25	– 0,13	–34
0,12	0,25	0,13	108
0,31	0,50	0,19	61
0,34	0,475	0,135	39
0,25	0,66	0,41	116
0,345	0,405	0,06	17
0,38	0,45	0,07	18
0,405	0,55	0,145	35
0,40	0,485	0,085	21
0,44	0,52	0,08	18
0,42	0,51	0,09	21
0,29	0,425	0,135	46
0,295	0,405	0,110	37
0,244	0,399	0,155	63
0,215	0,37	0,155	72
0,25	0,345	0,095	38
0,19	0,31	0,120	63
0,205	0,335	0,130	63
0,28	0,425	0,145	51
0,325	0,36	0,035	10
0,38	0,48	0,10	26
0,35	0,435	0,085	24
0,36	0,375	0,015	4
0,225	0,525	0,300	133
0,295	0,345	0,05	17
0,225	0,32	0,095	42
0,325	0,54	0,215	66
Mittelwert: 0,310 ± 0,015 ²	0,431 ± 0,018	0,121 ± 0,017	40,0

¹ S. S. CHERNIK und I. L. CHAIKOFF, J. biol. Chem. 188, 389 (1951).
² G. T. CORI und C. F. CORI, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 26, 432 (1929).
³ M. WIERZUCHOWSKI und W. PIESKOW, Acta biol. exper. (Warschau) 5, 95 (1930); ref. Ber. Physiol. 61, 676 (1931).
⁴ A. PLETSCHER und W. HESS, Helv. physiol. Acta 9, 338 (1951).
⁵ M. WIERZUCHOWSKI, W. PIESKOW und E. OWSIANI, Biochem. Z. 230, 146 (1931).
⁶ H. F. ROOT, E. STOTZ und T. M. CARPENTER, Amer. J. Med. Sci. 211, 189 (1946).
⁷ J. W. CRAIG, W. R. DRUCKER, M. MILLER, J. E. OWENS, H. WOODWARD, B. BROFMANN und W. H. PRITCHARD, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 78, 698 (1951).
⁸ H. LEUBNER und F. GABL, Wien. Z. inn. Med. 29, 545 (1948).
⁹ A. PLETSCHER, H. FAHLÄNDER und H. STAUB, Helv. physiol. Acta 9, 46 (1951).
¹⁰ E. STRAUSS und J. HILLER, Ärztl. Forsch. 6, 1/326 (1952).
¹¹ W. WEINTRAUT und E. LAVÈS, Z. physiol. Chem. 19, 603, 629 (1894).
¹² F. VERZAR, Biochem. Z. 66, 75 (1914).
¹³ G. T. CORI und M. W. SLEIN, Fed. Proc. (Am.) 6, 245 (1947).
¹⁴ F. LEUTHARDT und E. TESTA, Helv. chim. Acta 33, 1919 (1950); 34, 931 (1951).
¹⁵ A. STAUB und C. S. VESTLING, J. biol. Chem. 191, 395 (1951).
¹⁶ W. H. PRICE, C. F. CORI und S. P. COLOWICK, J. biol. Chem. 160, 633 (1945).
¹⁷ C. L. GEMILL und L. HAMMAN, Bull. Johns Hopkins Hosp. 68, 50, 329 (1941).
¹⁸ E. PFLÜGER, Pflügers Arch. 96, 1 (1903).
¹⁹ J. K. PARNAS, Biochem. Z. 116, 71 (1921).

¹ J. NERKING, Pflügers Arch. 85, 320 (1901).
² Mittlere quadratische Abweichung.

b) Beeinflussung der Fruktoseaufnahme durch Insulin (Tab. I).

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied der Fruktoseaufnahme von $0,026 \pm 0,014$. Die Vermehrung der Fruktoseaufnahme durch Insulin ist signifikant ($p < 0,001$).

c) Beeinflussung der Glukoseaufnahme durch Insulin (Tab. II).

Tabelle II
Zuckerverbrauch mg/100 mg Zwerchfell

Ohne Insulin I	10^{-2} Eh Insulin II	Differenz (II – I) mg/100 mg Zwerchfell	%
0,52	0,808	0,28	53
1,31	1,64	0,33	25
0,89	1,28	0,39	43
0,73	1,00	0,27	37
0,87	1,16	0,29	33
0,96	1,34	0,38	39
0,99	1,32	0,33	33
0,80	1,21	0,41	51
1,22	1,46	0,24	19
1,20	1,46	0,26	21
1,04	1,44	0,40	39
Mittelwert: $0,95 \pm 0,069$	$1,28 \pm 0,071$	$0,325 \pm 0,059$	36

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied der Glukoseaufnahme von $0,025 \pm 0,035$. Die Vermehrung der Glukoseaufnahme durch Insulin ist signifikant ($p < 0,001$).

d) Glykogengehalt der Zwerchfelle (Tab. III).

Tabelle III

Ohne Insulin mg/100 mg N I	10^{-2} Eh Insulin mg/100 mg N II	Differenz (II – I) mg/100 mg N
5,29	5,72	+ 0,43
4,69	6,19	+ 1,50
5,25	5,95	+ 0,70
4,67	6,47	+ 1,80
6,70	6,96	+ 0,26
9,45	12,60	+ 3,15
6,52	7,68	+ 1,16
6,62	10,40	+ 3,78
8,86	11,60	+ 2,74
		Mittelwert: $+ 1,72 \pm 0,21$

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied des Glykogengehaltes von $0,32 \pm 0,035$. Die Vermehrung des Glykogengehaltes durch Insulin ist signifikant ($p < 0,001$).

3. Diskussion. Im Vergleich zu Glukose verminderte Aufnahme von Fruktose durch isoliertes Rattenzwerchfell, Leber- und Hirnschnitte konnte auch von GEMILL und HAMMAN¹ sowie HELMREICH, STUHLFAUTH und GOLDSCHMIDT² beobachtet werden. Die geringere Fruktoseaufnahme kann bedingt sein durch langsamere Dif-

fusion oder durch primär verminderten enzymatischen Umsatz der Fruktose im Vergleich zu Glukose. Nach WILBRANDT¹ diffundiert Fruktose langsamer durch die Membran menschlicher Erythrozyten als Glukose und andere Aldohexosen. Andererseits wird möglicherweise in der Muskulatur die Fruktosephosphorylierung vorwiegend durch Hexokinase, welche geringere Affinität zu Fruktose besitzt als zu Glukose, beschleunigt (SLEIN, CORI und CORI², MEYERHOF und WILSON³, WIEBELHAUS und LARDY⁴). Es kann durch unsere Versuche nicht entschieden werden, auf welchem Mechanismus das verschiedene Verhalten von Glukose und Fruktose beruht. Der Befund steht im Widerspruch zu Beobachtungen an Mensch und Tier, wo Fruktose rascher umgesetzt wird als Glukose. Möglicherweise kommen Diffusionseffekte *in vivo* weniger zur Geltung als *in vitro*, da die Zucker durch die Blutbahn rasch an die Zellen des gesamten Organs herangebracht werden.

Insulin bewirkt am isolierten Zwerchfell gleiche prozentuale Erhöhung von Fruktose- und Glukoseaufnahme. Die Fruktosemehraufnahme ist, sicher teilweise, durch vermehrten Fruktoseumsatz bedingt, da mit Insulin der Glykogengehalt des Zwerchfells grösser ist als ohne Insulin. Diese Feststellung steht im Widerspruch zur geringen Insulinempfindlichkeit des Fruktosestoffwechsels bei Mensch und Tier und kann eventuell folgendermassen erklärt werden:

a) Insulin beschleunigt die Fruktosediffusion, wobei Diffusionsunterschiede *in vivo* weniger zur Geltung kommen als *in vitro* (siehe oben). Gegen diese Auffassung sprechen Befunde von GOLDSTEIN und Mitarbeitern⁵, wonach Diffusion von Fruktose bei eviszerierten, nephrektomierten Tieren durch Insulin nicht beschleunigt wird.

b) Möglicherweise wird der Fruktoseumsatz im Zwerchfell vorwiegend durch die insulinabhängige Hexokinase gesteuert, im Gegensatz zur Leber, wo die wahrscheinlich insulinunabhängige Ketokinase überwiegt.

Der Wirkungsmechanismus des Insulins auf die Fruktoseaufnahme durch isoliertes Rattenzwerchfell muss durch weitere experimentelle Untersuchungen abgeklärt werden.

P. VON PLANTA und A. PLETSCHER

Medizinische Universitätsklinik Basel, den 28. April 1953.

Summary

The effect of insulin on the absorption of glucose and fructose, as well as the formation of glycogen from fructose, was studied in the isolated diaphragm of the rat.

Results: 1. In the absence of insulin more glucose was taken up by the diaphragm than fructose.

2. Insulin increases the absorption of glucose and fructose as well as the synthesis of glycogen from fructose. The percentage increase of absorption of glucose and fructose remained unchanged.

¹ W. WILBRANDT, Pflügers Arch. 241, 302 (1939).

² M. W. SLEIN, G. T. CORI und C. F. CORI, J. biol. Chem. 186, 763 (1950).

³ O. MEYERHOF und J. R. WILSON, Arch. Biochem. 19, 502 (1948).

⁴ V. D. WIEBELHAUS und H. A. LARDY, Arch. Biochem. 21, 321 (1949).

⁵ M. S. GOLDSTEIN, L. HENRY, B. HUDDLESTON und R. LEVINE, Fed. Proc. 11, 56 (1952).

¹ C. L. GEMILL und L. HAMMAN, Bull. Johns Hopkins Hosp. 68, 50, 329 (1941).

² E. HELMREICH, K. STUHLFAUTH und S. GOLDSCHMIDT, Z. Naturforsch. 7b, 418 (1952).