

	1th day	2nd day	3rd day	4th day	5th day
Inulin space (yeast-resistant)	17.7 ± 3.2 n = 18	22.6 ± 4.1 n = 18	27.0 ± 4.7 n = 15	33.2 ± 4.9 n = 8	38.0 ± 8.8 n = 3
P	< 0.001 < 0.01 < 0.02 > 0.05				
Inulin space (alkali-resistant)	17.2 ± 2.1 n = 19	23.4 ± 4.2 n = 19	27.8 ± 5.3 n = 15	36.9 ± 11.4 n = 7	41.1 ± 11.7 n = 4
P	< 0.001 < 0.01 < 0.05 > 0.05				
Inulin space after-loaded (yeast-resistant)	—	—	19.6 ± 2.6 n = 7	19.7 ± 1.5 n = 5	23.3 n = 2
P	< 0.01 ¹ < 0.001 ¹ > 0.05 ² > 0.05 ²				
Inulin space after-loaded (alkali-resistant)	—	—	17.5 ± 2.5 n = 8	20.2 ± 4.5 n = 5	20.0 n = 1
P	< 0.01 ¹ < 0.02 ¹ > 0.05 ² > 0.05 ²				

¹ Against non-after-loaded series of the same day.

² Against non-after-loaded series of the first day.

Zusammenfassung

Der Verteilungsraum des Inulins beim nephrektomierten Hund am Operationstag wurde bei 17% des Körpergewichts gefunden. In den nächsten Tagen verminderte sich die Seruminulinkonzentration fortlaufend, unter scheinbarer Vergrößerung des Verteilungsraumes. Am 3. bis 5. Tag wurden einige Tiere erneut oder zum ersten Mal mit Inulin belastet, und es konnte festgestellt werden, dass keine wirkliche Vergrößerung des Verteilungsraumes eintritt. Für die Verminderung der Seruminulinkonzentration wird auf Grund von JANCÓS Untersuchungen eine intrazelluläre Speicherung als wahrscheinlich angenommen.

Co-enzyme A Content in the American Cockroach (*Periplaneta americana* L.) and the Housefly (*Musca domestica* L.)

In view of the importance assumed in the last few years by CoA as regulator of many metabolic mechanisms¹, and also in relation with earlier work by the present authors² on the insecticidal action of iodo-, bromo-, and chloroacetic acids (halogen-containing alkylating agents), whose toxic action develops by the alkylation of -SH groups (CoA contains an -SH group, to which its activity is closely bound), it was decided to estimate this co-enzyme in insects.

Adult males of the American cockroach (*Periplaneta americana*) and adult females of the housefly (*Musca domestica*) were used as biological material. CoA estimation was carried out as follows: 1 g of material is kept in the bottom of a test tube in a boiling water bath for 10 min, and then transferred to a cooled glass mortar at 0° and ground up with quartz sand after addition of 5 ml of iced water. The extract is left at 0° for 15 min and then centrifuged in a refrigerated centrifuge. 0.5 ml of extract prepared in this way are estimated for CoA by

¹ G. FORNAINI and E. MARINELLO, *Giorn. Biochim.* 3, 97 (1954).
² S. BETTINI and M. BOCCACCI, *Riv. Parass.* 13, 165 (1952); *R. C. Ist. Sup. Sanità* 17, 188 (1954); *Riv. Parass.* 16, 13 (1955). — S. BETTINI, M. BOCCACCI, and C. ROSSI, *Riv. Parass.* 16, 103 (1955).

the 'acetylation of sulfanilamide' method, as reported by NOVELLI³.

Some of the coxal muscles (red muscles) of *P. americana* contain considerably higher quantities of succinic dehydrogenase than other muscles (white muscles) also of the coxa, as the authors have previously shown⁴; furthermore, like succinic dehydrogenase, CoA is bound to the oxidative metabolism of carbohydrates. For these reasons, it was also decided to look for differences in the CoA content of the two types of muscle. The nomenclature of the muscles tested is reported in an earlier paper⁴.

Table I.—CoA content in units/g of fresh material (*P. americana*)

Whole coxae	White coxal muscles	Red coxal muscles
11.4	6.1	28.0

It may be seen from Table I that the CoA content of the white coxal muscles is about 1/5 that of the red coxal muscles. This finding, and the fact that the red muscles contain considerably larger quantities of succinic dehydrogenase and cytochrome⁵ than the white muscles, together confirm the hypothesis that the oxidative metabolic functions are more developed in the red muscles.

In *M. domestica*, practically equal values were obtained by estimation of CoA in the whole insect and the thorax alone. The curve of CoA content against age was also studied in whole flies.

Table II.—CoA content in units/g of fresh material (whole flies) against age in *M. domestica*

Age in days	1	3	6	9	12
CoA content	2.3	5.1	5.5	7.7	6.5

It will be seen from Table II that the CoA content in *M. domestica* increases with age up to the 9th day. A similar curve had already been met with for the increase in the average diameter of the muscle sarcosomes of the

³ D. NOVELLI, in *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. II (Interscience Publishers, New York 1955), p. 201.
⁴ S. BETTINI and M. BOCCACCI, *R. C. Ist. Sup. Sanità* 17, 188 (1954).
⁵ V. B. WIGGLESWORTH, *The Principles of Insect Physiology* (Methuen, 1950), p. 410.

thorax in *Drosophila funebris* with age by WATANABE and WILLIAMS⁶. In view of HIGGINS *et al.*'s demonstration⁷ that in rat liver CoA is mostly contained in the mitochondria, the present data and those of WATANABE and WILLIAMS may together indicate indirectly that CoA is also chiefly localized in the sarcosomes in insects.

M. BOCCACCI and S. BETTINI

Department of Parasitology, Istituto Superiore di Sanità, Roma, July 4, 1956.

Riassunto

Gli autori hanno dosato il CoA nei muscoli della coxa di *Periplaneta americana* ed in *Musca domestica* in toto. Vengono messe in evidenza le differenze del contenuto in CoA dei muscoli bianchi e rossi della coxa di blatta. Viene inoltre messo in evidenza l'aumento progressivo del CoA, durante i primi 9 giorni di vita dell'adulto, in *M. domestica*.

⁶ M. I. WATANABE and C. M. WILLIAMS, J. Gen. Physiol. 37, 71 (1953).

⁷ H. HIGGINS, J. A. MILLER, J. M. PRICE, and F. M. STRONG, Proc. roy. Soc. exp. Biol. Med. 75, 462 (1950).

Über den Einfluss von Organextrakten auf den Sauerstoffverbrauch von Geweben

Untersuchungen an Leber- und Herzschnitten gesunder und skorbutkranker Meerschweinchen

Wir untersuchten den O₂-Verbrauch von Herz- und Leberschnitten gesunder und skorbutkranker Meerschweinchen und seine Veränderungen durch den Zusatz von Organextrakten. Als solche verwendeten wir den Gesamtherzextrakt «Recosen» und den Leberextrakt «Ripason».

Die Ergebnisse klinischer Untersuchungen mit diesen Extrakten haben ihre therapeutische Verwendung bestimmt. Die Schaffung experimenteller Grundlagen begegnet verschiedenen Schwierigkeiten, vor allem wenn solche Untersuchungen einer experimentellen Sicherung der klinischen Erfahrung dienen sollen, dass Extrakte bestimmter Organe besonders auf jene Organe wirken, aus denen sie gewonnen wurden. Zur Abklärung dieser Frage soll die folgende Mitteilung beitragen.

Methodik. Die Bestimmung des O₂-Verbrauches wurde in der Warburg-Apparatur unter Verwendung von Krebs-Ringer-Lösung durchgeführt. In den Gefässen befand sich ein Gesamtvolumen von 2 ml. Es wurden dünnste Rasiermesserschnitte aus Herz und Leber frisch getöteter Meerschweinchen verwendet. Die Zahl der Schnitte wurde so gewählt, dass das Gesamtrockengewicht des untersuchten Materials zwischen 4 und 8 mg lag. Der Skorbut wurde nach SHERMAN, LA MER und CAMPBELL¹ erzeugt und die Tiere nach dem 20. Skorbutdiättag während des grössten Gewichtsabsturzes getötet. Zur Sicherung eines vorliegenden Skorbutus wurde der Vitamin-C-Gehalt der Nebennieren nach TILLMANNS² (Dichlorphenolindophenol-Titration) bestimmt. Dieser war bei allen verwendeten Skorbuttieren nahezu Null.

¹ H. C. SHERMAN, V. K. LA MER und H. L. CAMPBELL, J. Amer. chem. Soc. 44, 165 (1922).

² J. TILLMANNS, Z. Lebensmittelforsch. 63, 1 (1932).

Die zur Untersuchung kommenden Organextrakte wurden so zugegeben, dass im Hauptraum eine Extraktkonzentration von 1:100 bestand.

In Voruntersuchungen wurde zunächst der Sauerstoffverbrauch von unbeeinflussten Herz- und Lebergeweben normaler und skorbutkranker Meerschweinchen ermittelt. Die Ergebnisse aus je 64 Bestimmungen an Gewebsschnitten von je 22 Versuchstieren zeigt die Tabelle I:

Tabelle I

O₂-Verbrauch (μl/mg Trockengewicht) von Meerschweinchengewebe

	nach 20 min	nach 40 min	nach 60 min
<i>Herzgewebe</i>			
Normaltiere	2,3	4,6	6,8
Skorbuttiere	2,6	5,1	7,4
<i>Lebergewebe</i>			
Normaltiere	3,9	7,4	10,5
Skorbuttiere	4,3	8,0	11,3

Es ist zu ersehen, dass sowohl Herz- als auch Lebergewebe skorbutkranker Meerschweinchen in der gleichen Zeit mehr Sauerstoff verbrauchen als die entsprechenden Gewebe gesunder Versuchstiere. Lebergewebe ist im Sauerstoffverbrauch erheblich aktiver als Herzgewebe. In allen Versuchen wird deutlich sichtbar, dass der Sauerstoffverbrauch stetig zunimmt, so dass eine lineare Beziehung zwischen Sauerstoffverbrauch und Zeit zustande kommt. Die Ergebnisse stimmen mit den Angaben von KREBS³ über den Q O₂ bei Normaltieren überein.

Wir haben die Gewebe von Herz und Leber der beiden Tiergruppen in weiteren Versuchen von vornherein mit den beschriebenen wässrigen Organextrakten in Berührung gebracht und den Sauerstoffverbrauch in je 61 Messungen an 18 Geweben verschiedener Tiere für jeden Extrakt gemessen. Die Ergebnisse fasst die Tabelle II zusammen.

Tabelle II

Q O₂ (O₂-Verbrauch in μl/mg Trockengewicht in 60 min)

	<i>Herzgewebe</i>		<i>Lebergewebe</i>	
	normal	Skorbut	normal	Skorbut
1. ohne Zusatz. . . .	6,8	7,4	10,5	11,3
2. mit Herzextrakt . .	8,4	10,0	12,0	12,8
3. mit Leberextrakt . .	7,4	8,5	13,5	14,3
4. mit Magen-Dünndarm-Extrakt . .	7,6	8,9	12,0	13,3

Das Resultat dieser Prüfung ist, dass alle von uns verwendeten Organextrakte den Sauerstoffverbrauch von Gewebsschnitten aus Herz und Leber sowohl gesunder als auch skorbutkranker Meerschweinchen steigern. Es fällt auf, dass die Atmung des Herzgewebes beider Tiergruppen besonders stark durch den Herzextrakt, und die Atmung des Lebergewebes ebenso durch den Leberextrakt gesteigert wird.

Wir haben die gesamten Messergebnisse einer statistischen Prüfung durch den Fischerschen *t*-Test unterzogen. Die Werte der Wahrscheinlichkeit *P*, die die Sicherheit eines Unterschiedes der Messergebnisse angeben, sind in Tabelle III zusammengefasst. Die Ver-

³ H. A. KREBS, Biochem. biophys. Acta 4, 249 (1950).