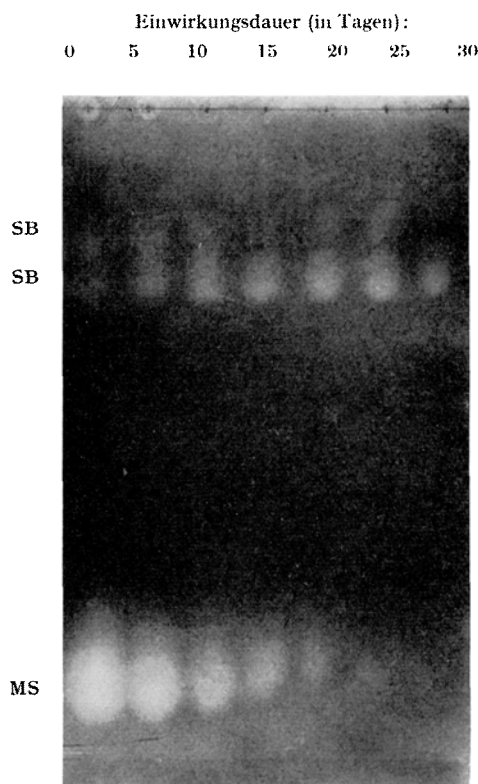


## Erläuterungen

SB: Saure Bestandteile (Salze) der Nährlösung; MS: Malonsäure;  
BS: Bernsteinsäure

Abb. 3. Chromatogramm der sauren Bestandteile einer mit *A. niger* (Myzeldecke) bebrüteten Lösung der notwendigen Nährsalze unter Zusatz von 3% Bernstein- und  $3 \cdot 10^{-1}$  Mol/l Malonsäure



## Erläuterungen

MS: Malonsäure; SB: Saure Bestandteile (Salze) der Nährlösung.  
Abb. 4. Chromatogramm der sauren Bestandteile einer mit *A. niger* (Myzeldecke) bebrüteten Lösung der notwendigen Nährsalze unter Zusatz von  $3 \cdot 10^{-1}$  Mol/l Malonsäure

Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, dass Oxalsäure – als Lieferant von Kohlendioxyd und Wasser<sup>8</sup> – lediglich in Gegenwart solcher Kohlenstoffquellen metabolisiert wird, die neben der Energielieferung zugleich einen Ersatz für die sich laufend abnutzende Zellsubstanz sicherstellen. Das entstehende Kohlendioxyd wird möglicherweise – wenigstens partiell – zur Carboxylierung von Intermediärgliedern (zum Beispiel zur Zitronensäureerzeugung) herangezogen<sup>9</sup>. Wenn man im Falle der Malonsäure eine Decarboxylierung zu Essigsäure unterstellt<sup>10</sup>, so sind – auch bei Zugabe der erstgenannten als einziger Kohlenstoffquelle – sowohl die Energiegewinnung (Zitronensäurezyklus) wie auch der Aufbau von Zellschubstanz (Glyoxylsäurezyklus) gewährleistet, das heißt das Myzel ist lebensfähig; über experimentelle Einzelheiten sowie detaillierte Ergebnisse wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

K. TÄUFEL und H. RÜTTLOFF

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Ernährung in Potsdam-Rehbrücke, 23. Mai 1958.

## Summary

Oxalic acid is only dissimilated if other carbon sources are present (e.g. citric acid, succinic acid), whereas malonic acid is also dissimilated as a single component by *A. niger*. It is supposed that the latter is used by the mould not only energetically but also for building up cell substance.

<sup>8</sup> G. BRUBACHER, M. JUST, H. BODUR und K. BERNHARD, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 304, 173 (1956).

<sup>9</sup> W. W. CLELAND und M. J. JOHNSON, J. biol. Chem. 208, 679 (1954). – Vgl. G. HALLIWELL, J. exp. Bot. 4, 369 (1953).

<sup>10</sup> Vgl. O. HAYAISHI, J. biol. Chem. 215, 125 (1955).

### Effects of Salicylate on Water and Electrolyte Content of Human Red Blood Cells

Changes in water and electrolyte content of patients treated with salicylate for acute rheumatic fever were examined by REID *et al.*<sup>1</sup>. They concluded, from plasma and urine volume and electrolyte balance determinations, that during salicylate medication the body retains sodium and loses potassium, whilst the cellular water content decreases. The observations of KELEMEN and TANOS<sup>2</sup> on rats differ from the above-mentioned statements in one point only: In their *acute* salicylate experiments, the cellular fluid did not diminish, but increase. The addition of salicylate *in vitro* leads to a great loss of potassium from isolated rat diaphragm during incubation (MANCHESTER *et al.*<sup>3</sup>).

We demonstrated that 4 h after giving a high dose of sodium salicylate (6–10 g *per os*) to normal human subjects, the erythrocytes undergo the following alterations: (1) They lose 11.95 mEq/l cell potassium ( $p < 0.001$ ). (2) They take up 4.22 mEq/l cell sodium ( $0.01 > p > 0.001$ ) and 37 ml/l cell water ( $p < 0.001$ ) with a simultaneous increase in their diameter of  $0.46 \mu$  ( $0.05 > p > 0.01$ ) (mean of 7 experiments)<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> J. REID, R. D. WATSON, J. B. COCHRAN, and D. H. SPROULL, Brit. med. J. 1951, ii, 321.

<sup>2</sup> E. KELEMEN and B. TANOS, Acta med. hung. 11, 445 (1957).

<sup>3</sup> K. L. MANCHESTER, P. J. RANDLE, and G. H. SMITH, Brit. med. J. 1958, i, 1028.

<sup>4</sup> Serum salicylate levels ranged from 32 to 48 mg %.

Furthermore the *in vitro* effect of salicylate on human red blood cells were examined. The erythrocytes were incubated in plasma at 37°C in a shaking apparatus. Sodium salicylate was added in a 50 mg% concentration. At the 60th min, glucose was added to produce a 100 mg% increase in glucose level. Erythrocytes from the same person were similarly treated except for adding salicylate. After 2 h, the potassium, sodium and water content and the average diameter of the red blood cells in both systems were determined. After washing the cells 3 times in isotonic glucose, electrolyte measurements were made in the haemolysate using a flame photometer.

On the average (mean of 7 experiments), the salicylate-treated cells extrude 8.14 mEq/l cell potassium ( $0.01 > p > 0.001$ ), take up 1.69 mEq/l cell sodium ( $p < 0.001$ ) and 45 ml/l cell water ( $p < 0.001$ ), their diameter increasing 0.385  $\mu$  ( $0.01 > p > 0.001$ ).

We interpret our findings as a form of the 'tired cell' syndrome described by ELKINTON<sup>5</sup>. Salicylate is known to uncouple oxidative phosphorylation in the cells. Another important consequence is, however, the development of an energy deficiency state (SMITH and JEFFREY<sup>6</sup>, KELEMEN and TANOS<sup>2</sup>). Owing to these alterations, the cells cannot maintain the normal concentration gradient against plasma, i. e. a netto potassium lost from the erythrocyte takes place under salicylate action. In this connection it may be mentioned that the insufficiency to maintain water and electrolyte balance in slices or mitochondrial preparations of hyperthyreotic animals—as manifested both in swelling and in potassium lost—was interpreted by AEBI and ABELIN<sup>7</sup> on the base of the insufficiency of high energy phosphate bonds, produced by uncoupling of oxidative phosphorylation in the hyperthyreotic subject.

Changes in water and electrolyte content of human red blood cells produced by salicylate

	Difference in electrolyte content in mEq/l erythrocytes		Increase in water content in ml/l cells	Increase in erythrocyte diameter in $\mu$
	K	Na		
<i>In vivo</i> . . .	– 11.95	+ 4.22	+ 37	+ 0.46
<i>In vitro</i> . . .	– 8.14	+ 1.69	+ 45	+ 0.385

The present observations suggest, that these effects of salicylate are due to a direct action on the cell requiring no mobilisation of endocrine or other mediating factors.

K. WALTNER, JR., M. CSERNOVSZKY,  
and E. KELEMEN

1st Department of Medicine, University Medical School,  
Szeged (Hungary), May 14, 1958.

#### Zusammenfassung

Es wird gezeigt, dass Natriumsalicylat *in vitro* auf menschliche Erythrozyten einen *direkten* Einfluss ausübt, indem es den Kaliumgehalt vermindert und den Natrium- sowie den Wassergehalt vermehrt. Diese Wirkung, die auch *in vivo* beobachtet werden kann, dürfte die Folge einer Energieverarmung sein, die durch eine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung zustande kommt.

<sup>5</sup> J. R. ELKINTON, *Circulation* 14, 1027 (1956).

<sup>6</sup> M. J. H. SMITH and S. W. JEFFREY, *Biochem. J.* 64, 589 (1956).

<sup>7</sup> H. AEBI and J. ABELIN, *Biochem. Z.* 324, 364 (1953).

## Beziehung zwischen Nebenniere und aktivem Kationentransport

Untersuchungen zur Abklärung der durch Herzglykoside hervorgerufenen Hemmung des aktiven Kationentransportes durch die Erythrozytenmembran haben gezeigt, dass diese Blockierung nicht auf einer energetischen Insuffizienz der Zelle im Sinne einer Abnahme energiereicher Phosphatverbindungen beruht, sondern dass ein direkter Angriffspunkt am Membrantransportmechanismus wahrscheinlich ist<sup>1</sup>. Es wurde die Interpretation der Verdrängung eines Steroidchelats durch Herzglykoside vorgeschlagen und diese experimentell durch den Nachweis einer antagonistischen Beeinflussung der Hemmwirkung von k-Strophanthosid auf den aktiven Natriumtransport durch gewisse Corticosteroide am «Kälte-Erythrozyten»<sup>2</sup> und durch eine antagonistische Wirkung von Herzglykosid und Corticosteroid auf die renale Natriumausscheidung an der adrenalektomierten Ratte gestützt<sup>3</sup>. Ausgehend von der Annahme, dass «genuine» Corticosteroide Trägermoleküle für den aktiven Kationentransport darstellen könnten, wurde der Einfluss beidseitiger Adrenalektomie auf den aktiven Natrium-Kaliumtransport beim «Kälte-Erythrozyten» neben-nierenloser Ratten und die Hemmbarkeit des aktiven Kationentransportes durch Herzglykoside im Zustand der Insuffizienz geprüft.

**Methodik.** 120–140 g schwere männliche Albinoratten wurden durch Dekapitation getötet. Das ausfliessende Blut wurde durch Rühren mit Kunststoffstäbchen defibriniert, der Hämatokritwert bestimmt und während 4–6 Tagen bei 4°C aufbewahrt. Die nachfolgenden Untersuchungen über aktiven Transport erfolgten nach der früher angegebenen Methode<sup>4</sup>. Die totale Hämolysse wurde durch Zusatz von Digitonin erreicht. Die bilaterale Adrenalektomie erfolgte nach BURN<sup>5</sup>. Da akzessorische Nebennieren nach erfolgtem Eingriff relativ häufig zu beobachten sind, wurden nur Tiere in ausgesprochenem Insuffizienz-zustand (Gewichtsabnahme, Adynamie, hoher Hämatokritwert) für die Versuche verwendet.

**Resultate.** Vergleicht man die aktive Natriumverschiebung durch die Erythrozytenmembran normaler Ratten mit derjenigen insuffizienter adrenalektomierter Tiere, so ergibt sich für die letztere Gruppe eine statistisch hoch signifikante Verlangsamung dieses Austauschvorganges. Ein Beispiel zeigt Abbildung 1. Die mittlere Stundengeschwindigkeit des Natriumaustretisses in der ersten Stunde beträgt bei intakten Kontrolltieren in meq Natrium/l Zellen  $9.89 \pm 0.90^6$  ( $n = 13$ ), bei adrenalektomierten Tieren  $2.98 \pm 0.28^6$  ( $n = 11$ ) bei einer Zufallswahrscheinlichkeit des Unterschiedes von  $P \ll 0.001$ .

In Abbildung 2 ist die mittlere Stundengeschwindigkeit des aktiven Netto-Auswärtstransportes von Natrium, bzw. des Netto-Einwärtstransportes von Kalium bei Erythrozyten normaler und adrenalektomierter Tiere gegen den Hämatokritwert aufgetragen. Ist die Verschiebung des Hämatokritwertes ein Mass für den Insuffizienz-zustand adrenalektomierter Tiere, so geht die Verlang-

<sup>1</sup> H. A. KUNZ und F. SULSER, *Exper.* 13, 365 (1957). – R. WHIT-TAM, *J. Physiol.* 137, 13 P (1957).

<sup>2</sup> F. SULSER und W. WILBRANDT, *Helv. physiol. Acta* 15, C37 (1957).

<sup>3</sup> R. GANTENBEIN, F. SULSER und W. WILBRANDT, *Helv. physiol. Acta* 15, C 64 (1957).

<sup>4</sup> H. A. KUNZ und F. SULSER, *Exper.* 13, 365 (1957).

<sup>5</sup> J. H. BURN, *Biological Standardization* (Oxford University Press, London 1950).

<sup>6</sup> Mittlerer Fehler des Mittelwertes.