

after prolonged CO_2 exposure as it is usual to observe in dogs by the rapid infusion of any electrolyte solution⁸. It can be concluded that a decrease in GFR does not account for the increment of bicarbonate threshold values in these experiments.

Hypothesis 2: A change in the activity of the carbonic anhydrase system of the renal tubules seems improbable, since CARTER *et al.*⁹ could not find any change in carbonic anhydrase concentration in the kidney of rats submitted to prolonged exposure to CO_2 .

Hypothesis 3: Potassium depletion of the tubule cells would constitute a better explanation for the enhancement of bicarbonate reabsorption following prolonged CO_2 exposure, since the reabsorption of this ion was found to be increased during potassium depletion in the dog¹⁰ and in the human¹¹. That prolonged exposure of dogs to CO_2 does not induce negative potassium balance is readily apparent from metabolic studies conducted in 6 dogs during chronic CO_2 exposure. It should be noted, however, that the usual drop in plasma potassium concentration following NaHCO_3 infusion is always more pronounced in animals previously submitted to prolonged CO_2 exposure. However, a direct action of hypokaliemia itself on bicarbonate reabsorption seems to be ruled out by the lack of effect of insulin or bicarbonate-induced hypokaliemia on bicarbonate reabsorption¹¹.

Hypothesis 4: Hypochloremia induced by renal adjustment to chronic respiratory acidosis¹² seems to constitute the main cause of the enhancement of tubular bicarbonate reabsorption following prolonged exposure to CO_2 atmosphere. Comparison between control dogs and animals breathing room air but having previously inhaled CO_2 for 4 to 6 days (Fig. 1) shows the following points: (1) arterial $p\text{CO}_2$ has practically the same mean value in both groups (46 and 51 mm Hg, respectively); (2) plasma chloride concentration values are very different: 99 mEq/l in the controls and 79 mEq/l in the experiments involving previous exposure to CO_2 ; (3) bicarbonate threshold values vary accordingly: 22.5 mM/l in the controls and 32.0 mM/l in the second group of experiments.

Comparison between the acute respiratory acidosis experiments, and similar experiments involving previous exposure of the animals to CO_2 atmosphere for 4 to 6 days, yields identical results (Fig. 2): (1) arterial $p\text{CO}_2$ has the same mean value in both groups (73 and 76 mm Hg); (2) plasma chloride concentration values are 94 and 81 mEq/l respectively; (3) bicarbonate threshold values are 27.5 and 39.7 mM/l respectively. It can be seen that for the two groups of chronic experiments a mean decrease of some 17 mEq/l in plasma chloride concentration is accompanied by a mean increase of approximately 11 mM/l in bicarbonate threshold value for similar arterial $p\text{CO}_2$ levels.

In Figure 3, bicarbonate excretion rates at normal $p\text{CO}_2$ levels in dogs previously submitted to prolonged CO_2 exposure are compared to bicarbonate excretion rates

(51 clearance periods) at slightly higher arterial $p\text{CO}_2$ levels in 13 animals made acutely hypochloremic by hemodialysis³ or peritoneal lavage³. Plasma chloride concentration is decreased to approximately the same mean value (84 and 81 mEq/l respectively) in both groups.

There is obviously no difference between the bicarbonate excretion rate-plasma concentration relationships in the two types of hypochloremia investigated. Thus, despite entirely different experimental procedures and marked difference in durations of induction, an equal drop in plasma chloride concentration is accompanied by a rise in tubular bicarbonate reabsorption of an equal magnitude.

On the other hand, an increase in plasma chloride concentration has been shown to decrease bicarbonate reabsorption in the dog, during acute respiratory acidosis¹³ or at normal $p\text{CO}_2$ levels⁵.

It is concluded that hypochloremia is the main cause, perhaps the only cause, of the supplementary increase in tubular bicarbonate reabsorption observed after prolonged exposure to CO_2 . The mode of action of the Cl ion on the bicarbonate reabsorption mechanism is unknown.

CH. TOUSSAINT, M. TELERMAN, and
P. VEREERSTRAETEN

Laboratoire de Médecine expérimentale, Université Libre de Bruxelles et Fondation Médicale Reine Elisabeth, Bruxelles (Belgique), May 15, 1959.

Résumé

L'excrétion du bicarbonate a été étudiée chez des chiens ayant préalablement séjourné pendant des périodes de 4 à 6 jours dans une atmosphère contenant de 7 à 10% de CO_2 .

Ce procédé a pour effet d'accroître fortement la réabsorption tubulaire du bicarbonate par un mécanisme distinct de l'action de l'accroissement de la pression partielle du CO_2 et analogue à celui qui augmente la réabsorption du bicarbonate au cours de l'hypochlorémie aiguë réalisée par des procédés de vividialyse.

¹³ J. G. HILTON, N. E. CAPECI, G. T. KISS, O. R. KRUESI, V. V. GLAVIANO, and R. WEGRIA, *J. clin. Invest.* 35, 481 (1956).

Oxydation von Bernsteinsäure durch Leber akut urämischer Ratten¹

5. Mitteilung
über Untersuchungen der Rest-N-fractionen bei Urämie

In der akut urämischen Rattenleber sind Desaminierung und Transaminierung von DL-Alanin signifikant gesteigert². Dieser Befund ist für den urämischen Organismus in zweifacher Hinsicht bedeutungsvoll.

Aminosäuren werden entweder zu Ketosäuren desaminiert bzw. transaminiert oder zu Aminen dekarboxyliert. Bekanntlich haben Amine an Mensch und Tier pharmakologisch-toxische Wirkungen. Da bei akuter experimen-

¹ Die vorliegende Arbeit wurde mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds durchgeführt.

² R. BOSSHARDT, H. THÖLEN und F. ENDERLIN, *Exper.* 13, 497 (1957).

⁷ D. D. THOMPSON and M. J. BARRETT, *Amer. J. Physiol.* 176, 201 (1954).

⁸ L. G. WESSON, JR., W. P. ANSLOW, JR., L. G. RAISZ, A. A. BOLOMEY, and M. LADD, *Amer. J. Physiol.* 162, 677 (1950).

⁹ N. W. CARTER, D. W. SELDIN, and H. C. TENG, *J. clin. Invest.* 38, 949 (1959).

¹⁰ Unpublished data.

¹¹ K. E. ROBERTS, H. T. RANDALL, H. L. SANDERS, and M. HOOD, *J. clin. Invest.* 34, 666 (1955).

¹² H. LEVITIN, W. BRANSCOME, and F. H. EPSTEIN, *J. clin. Invest.* 37, 1667 (1958).

teller Urämie die Desaminierung von Aminosäuren vermehrt ist, darf man wohl annehmen, dass weniger Aminosäuren zu toxischen Aminen dekarboxyliert werden. In diesem Sinne wirkt die akut urämische Rattenleber entgiftend.

Andererseits führt die vermehrte Bildung von Ketosäuren bei Urämie zur Erhöhung organischer Säuren in der extrazellulären Flüssigkeit und zur Verstärkung der metabolischen Azidose, wenn nicht gleichzeitig der oxydative Abbau der Ketosäuren innerhalb des Trikarbonsäurezyklus intensiviert ist. Über die Umsatzgeschwindigkeit innerhalb des Zitronensäurezyklus in der Leber bei akuter experimenteller Urämie sind keine Untersuchungen bekannt. Wir bestimmten deshalb in der akut urämischen Rattenleber die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrase. Gleichzeitig wurde der Glukoseabbau gemessen.

Methode. Der Einfluss der urämischen Stoffwechselstörung auf den oxydativen Abbau von Bernsteinsäure durch Lebergewebe wurde mit zwei Methoden untersucht: Bernsteinsäure-Oxydation durch Lebergewebe akut urämischer Ratten a) und durch Lebergewebe gesunder Ratten nach 20stündiger Einwirkung von urämischem Rattenserum b).

a) Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs durch Leberhomogenat nach Bernsteinsäurezusatz bei 10 normalen und 10 urämischen Ratten (48 h nach Nephrektomie; Harnstoff im Serum durchschnittlich 360 mg%). 24stündige Nahrungskarenz vor Dekapitation der Tiere. Die Leber wurde sofort in eisgekühlte 0,9% NaCl-Lösung gebracht und anschliessend mit dem Apparat von POTTER und ELVEHJEM³ homogenisiert (1 g Leber-Feuchtgewicht ad 8 ml Totalvolumen mit 0,25 M Glukoselösung). Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs im Warburg-Apparat: Totalvolumen 2,5 ml (Homogenat 0,5 ml, Sörensenpuffer 0,33 M pH 7,35 1,5 ml, Adenylsäure 0,87% 0,1 ml, KCl 4,66% 0,1 ml, MgSO₄ · 7 H₂O 4,13% 0,1 ml, Bernsteinsäure 2,95% 0,1 ml, KOH 6 n 0,1 ml im Gefässzentrum). Milieu: Luft. Dauer 1 h bei 37°C. Berechnung: mm³ O₂/g Trockengewicht/h. Sauerstoffverbrauch der Normalratten = 1.

b) Homogenisierung der Leber von 10 normalen Ratten wie bei a). 0,3 ml Serum akut urämischer Ratten wurden 0,5 ml Homogenat zugesetzt (Kontrollen mit Normalserum). 20 h bei 0°C. Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs wie bei a); anstatt 1,5 ml Sörensenpuffer 1,2 ml Sörensenpuffer + 0,3 ml Serum. Sauerstoffverbrauch der Kontrollen = 1.

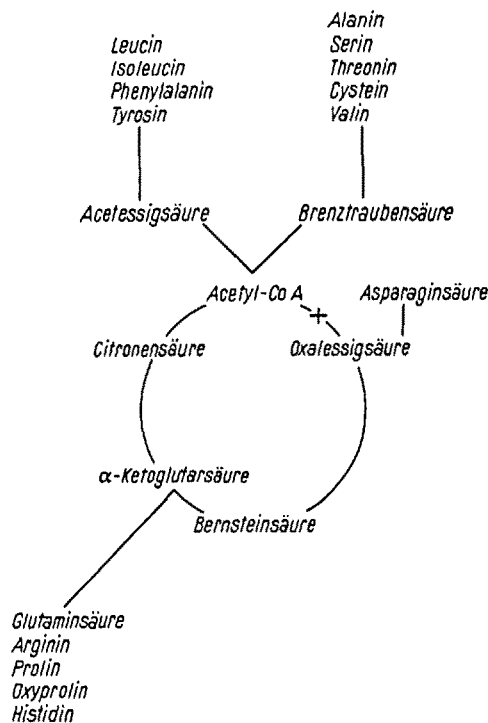
Der Glukose-Abbau durch Leberhomogenat wurde mit der Sauerstoffaufnahme gemessen. Methode wie bei a); anstatt 0,1 ml Bernsteinsäure gleiche Menge Sörensenpuffer. Werte der Normalratten = 1.

Resultate (Tab.): Signifikante Steigerung der Bernsteinsäure-Oxydation in Lebern akut urämischer Ratten und in Normalrattenlebern nach 20stündiger Einwirkung von urämischem Rattenserum.

Durchschnittliche Abnahme des Glukose-Abbaus in der akut urämischen Rattenleber; signifikante Reduktion der Glukose-Oxydation in Lebern normaler Ratten nach 20stündiger Einwirkung von urämischem Rattenserum.

Diskussion. Durch Desaminierung und Transaminierung von Aminosäuren entstehen Ketosäuren, die via Zitronensäure-Zyklus zu Kohlensäure und Wasser abgebaut werden (Abb.). In einer früheren Arbeit wurde gezeigt, dass Desaminierung und Transaminierung von DL-Alanin durch Lebergewebe akut urämischer Ratten verglichen mit Kontrollen gesteigert sind². Kontrolluntersuchungen

ergaben, dass sowohl L- als auch D-Alanin durch urämische Lebern stärker desaminiert werden. In der Leber akut urämischer Ratten ist demnach die Wirkung von L- und D-Aminosäureoxydasen im Vergleich zu Normaltieren erhöht. Beide Fermente sind stereochemisch spezifisch. Dagegen sind für die meisten L- oder D-Aminosäuren keine spezifischen Oxydasen bekannt. Die D-Aminosäureoxydase greift ausser Glykokoll, Lysin, Serin und Glutaminsäure alle D-Aminosäuren an⁴. Nach GREEN *et al.*⁵ werden folgende L-Aminosäuren durch die L-Aminosäureoxydase desaminiert: Leucin, Methionin, Norleucin, Norvalin, Phenylalanin, Tryptophan, Isoleucin, Tyrosin, Cystin, Valin, Histidin und Alanin.



Verbindungen zwischen Aminosäurenabbau und Zitronensäurezyklus nach einem Schema von BESSEY⁶

Steigerung der oxydativen Desaminierung von Aminosäuren führt zu Vermehrung der entsprechenden Ketosäuren, die im urämischen Organismus retiniert werden. Dadurch wird die metabolische Azidose (Kussmaul'sche Atmung) verstärkt; ferner vermutet man ursächliche Beziehungen zwischen Vermehrung organischer Säuren im Serum und anderen Urämiesymptomen.

Unsere Untersuchungen ergaben Steigerung der Bernsteinsäure-Oxydation durch Lebergewebe akut urämischer Ratten. Möglicherweise werden im aktivierten Zitronensäurezyklus Ketosäuren, die infolge vermehrter Aminosäurendesaminierung und renaler Retention erhöht sind, vermehrt zu Kohlensäure und Wasser oxydiert. Dadurch werden toxische Wirkungen der Ketosäuren vermindert. Die gebildeten Abbauprodukte belasten die Nierenfunktionen nicht, da sie pulmonal ausgeschieden werden.

Ob bei chronischer experimenteller Urämie dieselben Stoffwechselveränderungen auftreten, ist nicht bekannt.

⁴ K. LANG, *Der intermediäre Stoffwechsel* (Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952).

⁵ D. E. GREEN, V. NOCITO und S. RATNER, *J. biol. Chem.* **148**, 461 (1943).

⁶ O. A. BESSEY, *J. Amer. med. Ass.* **164**, 1224 (1957).

³ V. R. POTTER und A. ELVEHJEM, *J. biol. Chem.* **114**, 195 (1936).

Bernsteinsäureoxydation und Glukoseabbau in Lebern normaler und akut urämischer Ratten und in Normalrattenlebern nach 20stündiger Einwirkung von Normal- oder Urämieserum.
Werte der Kontrollen = 1

Methode	Untersuchungs-material	Resultate	Signifikanz
Bernsteinsäureoxydation	Leber: Normalratten	1,0	$p < 0,01$
	akut urämische Ratten	1,14	
	Normalratten-leber nach 20stündiger Einwirkung von Normalserum	1,0	$p < 0,001$
	Urämieserum	1,12	
Glukoseoxydation	Leber: Normalratten	1,0	$p > 0,3$
	akut urämische Ratten	0,93	
	Normalratten-leber nach 20stündiger Einwirkung von: Normalserum	1,0	$p < 0,001$
	Urämieserum	0,84	

Vermutlich werden Leberfunktionen durch toxische biogene Amine, Xanthoproteinsubstanzen, Azidose, Elektrolyt- und Wasserhaushalt-Störungen, Anämie und Vitaminmangel bei chronisch-urämischen Zuständen geschädigt. Zum Beispiel könnte die Bildung biogener Amine zunehmen, da Aminosäuren bei abnehmendem Sauerstoffgehalt der Gewebe vermehrt dekarboxyliert werden.

Der Glukose-Abbau war in der Leber akut urämischer Ratten nicht signifikant, in Lebergewebe, das 20 h mit Urämieserum in Kontakt war, signifikant vermindert. Die Aktivierung des Zitronensäurezyklus kann deshalb nur auf Steigerung von Fettsäuren- und/oder Aminosäureabbau zurückgeführt werden.

H. THÖLEN

Medizinische Universitätsklinik Basel, 22. Juli 1959.

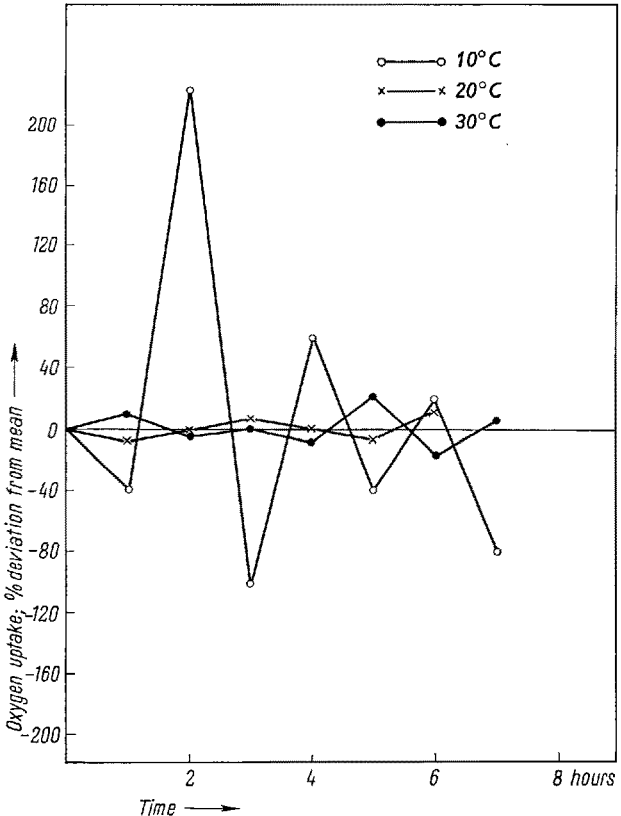
Summary

The oxydative desamination of amino acids in the liver of acute uremic rats is increased. Simultaneously the citric acid cycle in the liver of these rats is stimulated. It is suggested that the ketone-acids formed by the increased amino acid degradation are removed by the activated citric acid cycle.

Oscillatory Respiration
in *Balanus amphitrite* Darwin

Attention has been drawn by GRAINGER¹ to the fact that a sudden rise or fall in temperature, following upon maintenance under constant conditions, leads to an over-

shoot in the oxygen consumption of a number of crustaceans. This overshoot takes the form of a damped oscillation leading eventually to a steady value which is typical of the new temperature. He detected no such oscillations in carbon dioxide output, and the respiratory quotient must, therefore, fluctuate with oxygen consumption. He points out that the phenomenon of overshoot may be explained if the organism is considered as a steady state system and if, on transference to the new conditions, there is a temporary accumulation or deficiency of metabolic substances before the appropriate steady state is established. Oscillatory metabolic changes are also known to occur in the general adaptation response that follows shock and these lead either to a state of exhaustion (persistent shock) or to a state of resistance (counter shock).



Oxygen uptake of *Balanus amphitrite* as percentage deviations from means.

Attention is here drawn to the oscillatory character of the oxygen consumption, following a reduction in temperature, in *Balanus amphitrite*. The animals were taken from the Salton Sea, Southern California, where there is a dense population on all submerged material. The 'Sea' although extremely saline² (33‰) is not marine and has a somewhat different ionic composition from that of sea water. The animals were maintained in Salton Sea water at the prevailing temperature of 20–25°C between collection and the experiments. The experiments, which formed part of a large series, were made on isolated animals detached from their calcareous shells by cutting through the small muscles attaching the body to the opercular valves; injury was slight and had no detectable effect on the results (see BARNES and BARNES³ for further details).

² L. H. CARPELAN, Limnol. Oceanogr. 3, 373 (1958).
³ H. BARNES and M. BARNES, Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerhaven (in press).

¹ J. N. R. GRAINGER, Nature 178, 930 (1956).