

microsomal N-demethylation of Natulan and other drugs like methixen¹³ and aminopyrine¹⁴ are of a similar order of magnitude (1.7, 0.3, and 3.0 $\mu\text{M}/\text{h}/100\text{ g}$ body weight respectively¹⁵).

¹³ H. AEBI, J. QUITT, and E. LAUBER, Arch. exp. Path. Pharmac. 224, 477 (1963).

¹⁴ H. AEBI and G. ROGGEN, Pharm. Acta Helv. 33, 413 (1958).

¹⁵ Acknowledgment: The authors thank Messrs. F. Hoffmann-La Roche & Co. for a generous gift of $^{14}\text{CH}_3$ -Natulan which was synthesized by D. J. WÜRSCH.

Zusammenfassung. Die intraperitoneale Verabreichung von $1\text{-}^{14}\text{CH}_3$ -Natulan bei der Maus und der Ratte hat eine Ausscheidung von $^{14}\text{CO}_2$ in der Atemluft zur Folge. Die Demethylierungsrate in vivo beträgt bei der Maus 3,1, bei der Ratte 1,7 $\mu\text{M}/\text{h}/100\text{ g}$ Körpergewicht. Sie wird bei der Ratte durch Behandlung mit Phenobarbital mehr als verdoppelt. Über das Substrat der N-Demethylierung lässt sich keine sichere Aussage machen.

M. BAGGIOLINI, M. H. BICKEL, and F. S. MESSIHA

Medizinisch-Chemisches Institut der Universität Bern (Switzerland), March 2, 1965.

β -Glucuronidase Activity in the Liver of Infant Mammals

The metabolism of glucuronides has received much attention because of its relationship to neonatal jaundice (Symposium 1959¹, Symposium 1963², MARSH and LEVY³, CONCHIE and LEVY⁴). The development of conjugation ability has been studied to a large extent, but surprisingly enough the development of β -glucuronidase activity in the liver has been followed in mice only. It has been reported (KARANURAITNAM et al.⁵) that activity is much higher in new-born and infant mammals than in adult animals. It has been shown in previous work (HERINGOVÁ et al.⁶) that in the rat ileum there is a rise in activity after birth and a fall after weaning. This is in contrast to the finding of KARANURAITNAM et al.⁵ for mice liver β -glucuronidase. Hence it was decided to study the development of β -glucuronidase activity in the liver of infant mammals of different species, i.e. those born in a mature and those born in an immature state.

Activity was determined according to TALALAY et al.⁷ in the liver of rats, mice, rabbits and guinea-pigs. Phenolphthalglucuronide served as the substrate, the pH being adjusted to 4.5 in acetate buffer. Activity is expressed in

μg released phenolphthaline/mg wet weight/60 min at 38°C.

The Figure shows that activity in new-born rats is significantly lower than in adult animals. There is a rise after birth, and a fall to adult values at the time of weaning. In guinea-pigs activity is highest at birth and then gradually decreases up to day 24. In rabbits values increase up to day 3 and then remain unchanged. In mice

¹ Kernicterus. Symposium IXth Int. Congr. Ped. (1959) (Ed.: A. SASS-KORTSÁK; University of Toronto Press, 1961).

² Symposium on Fetal and Infant Liver Function and Structure. Ann. N.Y. Acad. Sci. 111, 1 (1963).

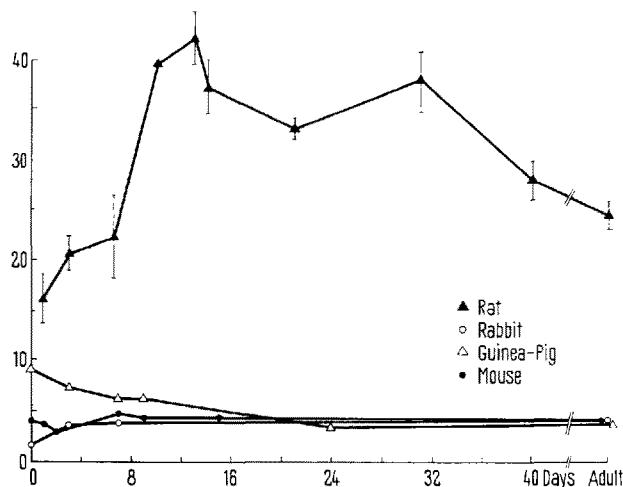
³ C. A. MARSH and G. A. LEVY, in *Progress in Nutrition and Allied Sciences* (Ed.: D. P. CUTHBERTSON; Oliver and Boyd, Edinburgh and London 1963), p. 307.

⁴ J. CONCHIE and G. A. LEVY, in *Progress in Nutrition and Allied Sciences* (Ed.: D. P. CUTHBERTSON; Oliver and Boyd, Edinburgh and London 1963), p. 313.

⁵ M. C. KARANURAITNAM, L. M. H. KERR, and G. A. LEVY, Biochem. J. 45, 496 (1949).

⁶ A. HERINGOVÁ, V. JIRSOVÁ, and O. KOLDOVSKÝ, Canad. J. Biochem., 43, 173 (1965).

⁷ P. TALALAY, W. H. FISHMAN, and C. HUGGINS, J. biol. Chem. 166, 757 (1946).



β -glucuronidase activity in the livers of different species. Abscissa: age in days after birth. Adult animals 3–4 months old. Male and

female animals in the same proportion. Ordinate: β -glucuronidase activity expressed in μg phenolphthalin liberated/mg wet weight/60 min. The final concentration of phenolphthalglucuronide in the assay according to TALALAY et al.⁷ is 0.001 M. Each circle is the average of 10 determinations. Vertical lines: S.E., if larger than circle. Statistical significance: Rats. 1-day-old against 10, 13, 14, 20, 32, and 40-day-old and adult for $p < 0.001$. 3-day-old against 10, 13, 14, 22, and 32-day-old for $p < 0.001$, against 40-day-old for $p < 0.02$. 6-day-old against 10, 13, 14, 22, and 32-day-old for $p < 0.001$. 10-day-old against 22 and 32-day-old and adults for $p < 0.001$. 13-day-old against 22-day-old for $p < 0.02$, against 40-day-old for $p < 0.01$ and adults for $p < 0.001$. 14-day-old against 40-day-old and adults for $p < 0.001$. 22-day-old against 40-day-old and adults for $p < 0.01$. 32-day-old against 40-day-old for $p < 0.02$ and adults for $p < 0.001$. Mice. 0-day-old against 2-day-old for $p < 0.02$, against 7-day-old for $p < 0.05$. 1-day-old against 7-day-old for $p < 0.05$. 2-day-old against 7 and 9-day-old for $p < 0.001$, against adults for $p < 0.01$. 7-day-old against adults for $p < 0.02$. Rabbits. 0-day-old against 3 and 7-day-old and adults for $p < 0.001$. Guinea-pigs. 0-day-old against 3-day-old for $p < 0.02$, against 7-day-old for $p < 0.01$, against 9-day-old for $p < 0.02$, against 24-day-old and adults for $p < 0.001$. 7-day-old against 24-day-old for $p < 0.001$, against adults for $p < 0.01$. 9-day-old against 24-day-old for $p < 0.002$, against adults for $p < 0.01$, 24-day-old against adults for $p < 0.05$.

there is only a significant decrease between day 0 and day 3, followed by a rise up to day 7, after which no further change occurs.

The difference between our results in mice and those of KARANURAITNAM et al.⁵ may be due to the different strains or the different substrate used (phenylglucuronide instead of phenolphthalinglucuronide). It is known that the affinity of β -glucuronidase differs for different substrates (LEVY and MARSH⁶).

The main conclusion of our work is that the opinion voiced repeatedly in the literature that infants tend to have a higher β -glucuronidase activity in the liver applies to mice only, and only if phenylglucuronide is used as the substrate. Hence it will be necessary to further define the enzyme and also to determine its activity in man before any definite statement as to its development can be made.

Zusammenfassung. Niedrige Leber- β -Glucuronidase (Phenolphthaleinglucuronid-Substrat) neugeborener Rat-

ten steigt in der dritten Woche auf Erwachsenenwerte. Die Aktivität sinkt bei Meerschweinchen von der Geburt an, steigt bei Kaninchen zwischen Geburt und drittem Lebenstag und zeigt bei Mäusen während der postnatalen Entwicklung geringe Schwankungen.

O. KOLDOVSKÝ, V. JIRSOVÁ,
and A. HERINGOVÁ

Institute of Physiology, Laboratory of Developmental Nutrition, Czechoslovak Academy of Sciences and Institute for Mother and Child Care, Praha-Podolí (Czechoslovakia), January 11, 1965.

⁶ G. A. LEVY and C. A. MARSH, in *The Enzymes* (Ed. P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK; Academic Press, New York and London 1960), p. 397.

Magnesium und Calcium enthaltende Einschlusskörper in den Mitteldarmzellen von Aphiden

Die Zellen des Mitteldarmepithels siebröhrensaugender Aphiden sind sehr stark mit Einschlusskörpern angefüllt, die besonders in vivo mittels Phasenkontrastmikroskopie gut dargestellt werden können (Figur 1). Auf das Vorkommen dieser auffällig stark gehäuft Granula war bereits hingewiesen worden¹, ohne dass ihre Zusammensetzung befriedigend geklärt werden konnte. Deshalb sollte die Entstehung und Natur dieser meist die gesamte Zelle erfüllenden Gebilde näher untersucht werden.

Der Durchmesser der kugeligen Körperchen schwankt zwischen 1 und 5 μ ; ihre Verteilung über das Darmepithel ist ungleichmässig. In den Zellen des vordersten, sackartig erweiterten Mitteldarmabschnittes, des sogenannten Magens, sind sie sehr gross und stark gehäuft, am Beginn des sich anschliessenden, ebenfalls zum Mitteldarm gehörenden Dünndarms wesentlich kleiner und weniger dicht gelagert; sie nehmen aber in Richtung auf den Enddarm an Zahl und Grösse stark zu. Die Zellen am Ende des Mitteldarms weisen die zahlreichsten und grössten Granula auf; ihre Zellkerne sind kaum zu erkennen (Figur 1). Im hinteren Dünndarmbereich finden sich stets an der gleichen Stelle im Epithel 3 oder 4 Zellpaare, die teils keine, teils andersartige Einschlusskörper enthalten².

Die stärkste Häufung dieser Körperchen findet sich in den Darmzellen adulter Tiere; sie sind jedoch auch in allen Larvenstadien anzutreffen. Dabei ist eine stetige Zunahme der Granula vom ersten bis vierten Larvenstadium sowie im weiteren Lebensablauf der Erwachsenen festzustellen. Sie fehlen lediglich bei Larven, die noch keine Nahrung aufgenommen haben, sind dann aber wenige Stunden nach Saugbeginn im Mitteldarmepithel nachweisbar. Mit steigendem Lebensalter des Insekts werden die Zellen des Dünndarms schneller als die des Magens mit Granula angereichert. Ihre Häufung wird durch Häutungen nicht beeinflusst. Unter mehreren Hundert präparierter Darmtrakte fand sich keiner, dessen

Zellen die Einschlusskörper nicht aufwies. Sie konnten in keinem Fall im Darmlumen beobachtet werden.

Die Natur der Granula wurde an präparierten Organen von *Megoura viciae* Buckt. untersucht. Die Gebilde konnten auch in weiteren 25 Aphidenarten, darunter *Myzus persicae* (Sulz.), *Aphis fabae* Scop., *Acyrtosiphon pisum* (Harr.) und *Lachnus roboris* L., nachgewiesen werden, so dass man sie als charakteristisch für das Mitteldarmepithel von Aphiden ansehen kann. Die Nachweisreaktionen wurden meist in vivo am intakten Darmepithel oder an isolierten Granula in Quetsch- oder Ausstrichpräparaten unter dem Mikroskop durchgeführt.

Die Einschlusskörper sind auch in sehr verdünnten Säuren leicht löslich, in Neutralsalzlösungen, Wasser, Äthanol, Benzol und Aceton dagegen unlöslich. Auch nach Einwirkung konzentrierter, heisser Alkalien gehen

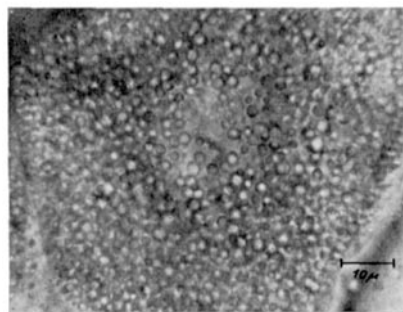


Fig. 1. Mitteldarmzelle von *Megoura viciae* Buckt. aus dem hintersten Dünndarmbereich, stark angefüllt mit Einschlusskörpern. Phasenkontrastaufnahme in vivo.

¹ P. EHRHARDT, Z. Morphol. Ökol. Tiere 52, 597 (1963).

² P. EHRHARDT, Z. vgl. Physiol., im Druck (1965).