

activation of pro-tyrosinase during storage at low temperature is not excluded. However, because of the low protein nitrogen content of the skin enzyme preparations derived from the garpike and the Australian lungfish, the loss of inhibitor(s) and/or production of activator(s) appears to be a more reasonable explanation. The ultimate decrease in tyrosinase activity seen after a lengthy period of storage, may be the result of a gradual disappearance of activator(s) but, more probably, the inactivation of tyrosinase itself. In addition, the described findings indicate that the 3 species utilized in the present study, although difficult to procure, may prove to be of considerable utility in the study of natural mechanisms controlling melanogenesis⁵.

Résumé. L'activité de tyrosinase intéguementale est augmenté par un séjour de 10–18 jours à 0–4 °C sous oxygène

ou en plein air mais pas nitrogène. Les 3 espèces vertébrés qui montrent cette réaction sont *Myxine glutinosa*, *Lepisosteus osseus* et *Neoceratodus fosteri*.

Y. M. CHEN and W. CHAVIN

Department of Biology⁶, Wayne State University, Detroit (Michigan 48202, USA), 5 March 1968.

⁵ This work was supported by U.S.P.H.S. Grant No. CA 07273-05 from the National Cancer Institute.

⁶ Contribution No. 194, Department of Biology.

Liver Glycogen Concentration in Patients with Chronic Uremia

An impaired galactose tolerance test, decreased hyperglycemic response to adrenaline and glucagon in uremic patients, as well as decreased liver glycogen concentration in experimental uremia led COHEN¹ to the assumption, that impaired liver glycogenesis is the cause of glucose intolerance in uremia. There are some additional data supporting the view that the liver plays a decisive role in this failure^{2,3}. On the other hand, the decreased hyperglycemic response on glucagon administration was not proved by other authors^{3,4}. Therefore the inhibitor of glycolysis was proposed as the cause of abnormal carbohydrate metabolism in the liver³. It was presumed worthwhile to determine liver glycogen concentration in uremic individuals to solve these contradictory findings.

Methods. Liver glycogen concentration in 9 control (i.e. patients with diseases not involving the liver or the kidney) and in 10 uremic patients was determined. The pertinent clinical data of the latter group are summarized in Table I.

Glycogen concentration was determined in patients on ad libitum intake of a minimum of 150 g carbohydrate on the 3 days preceding the test. On the preceding evening the uremics as well as the controls were given 50 g glucose orally. Percutaneous liver biopsy was taken in a standard manner next morning between 08.00 and 08.30. Liver specimen was divided into 2 parts: The one was examined

¹ B.D.COHEM, Ann. intern. Med. 57, 204 (1962).

² R.G.LUKE, A.J.DINWOODLE, A.L.LINTON and A.C.KENNEDY, J. clin. lab. Invest. 64, 731 (1964).

³ R.H.HUTCHINGS, R.M.HEGSTROM and B.H.SCRIBNER, Ann. intern. Med. 65, 275 (1966).

⁴ C.L.HAMPERS, J.S.SOELDNER, P.B.DOAK and J.P.MERRILL, J. clin. Invest. 45, 1719 (1966).

⁵ B.F.WESTERVELT Jr., and G.E.SCHREINER, Ann. intern. Med. 57, 266 (1962).

Table I. Clinical data at the time of percutaneous liver biopsy

Patient No.	Primary cause of uremia	Blood urea mg %	Standard bicarbonate mE/l	Blood erythrocytes 10 ⁶ /mm ³	Glucose tolerance test ^a
Individuals with normal glucose tolerance test					
1	Glomerulonephritis	63	18	4.24	— 15
2		155	19	3.80	+ 8
3	Pyelonephritis	66	17	4.38	+ 8
4		90	17	4.08	+ 18
5	Amyloidosis	108	13	2.66	+ 10
Individuals with abnormal glucose tolerance test					
6	Glomerulonephritis	58	22	4.36	+ 46
7		264	20	3.02	+ 39
8		177	10	2.38	+ 58
9	Pyelonephritis	210	22	2.32	+ 45
10		126	17	2.40	+ 72

^a Values were calculated as the difference between glycemia at 120 min and fasting glycemia. Normal values do not exceed + 20 mg % ^b.

histologically (patients with pathological changes were omitted from this study). In the second part of the specimen glycogen concentration was determined by the anthrone method⁶ after repeated ethanol precipitation.

Results. Table II presents the results of glycogen analysis. The mean value of glycogen concentration in control

Table II. Liver glycogen g/100 g wet weight

	Controls	Uremic patients glucose tolerance	
		normal	abnormal
	5,25	3,90	4,30
	4,15	3,88	0,89
	6,10	3,11	2,58
	5,14	0,49	3,47
	5,32	4,35	6,48
	1,92		
	2,62		
	5,15		
	1,39		
M	4,34	3,15	3,55
σ	$\pm 1,70$	$\pm 1,59$	$\pm 2,07$

M, arithmetic mean, σ , standard deviation.

patients conforms well with the results of other authors^{7,8}. The differences between the arithmetic means of either group are not significant. Nevertheless in 2 uremic patients (one in each group) the liver glycogen concentration was lower than normal with 97,5% probability (the lowest normal glycogen concentration limited by 2 standard deviations is 0.94 g/100 g wet weight). On the base of these results, impaired glycolysis rather than decreased glycogenesis seems to play a part in impaired glucose tolerance in uremia.

Zusammenfassung. Die Glykogenkonzentration in der Leber von urämischen Patienten und gestörter Glukosetoleranz ist nicht signifikant niedriger als diejenige bei den Kontrollen.

R. DZÚRIK and E. BRIXOVÁ

III. Medical Clinic, Comenius University,
Medical School, Bratislava (Czechoslovakia).

⁶ D. L. MORRIS, Science 107, 254 (1948).

⁷ J. E. SOKAL and K. E. GERSZI, J. lab. clin. Med. 53, 876 (1959).

⁸ A. MARTINSSON, H. SUNZEL and B. HOOD, Acta med. scand. 173, 745 (1963).

Fehlende Wasserstoff-Übertragung von Östradiol auf Androstendion im Diäthylnitrosamin-induzierten Hepatom der Ratte

In Leberschnitten von erwachsenen männlichen Ratten ist eine Kopplung der Östradiol-Oxydation mit der Reduktion von Androgenen nachweisbar^{1,2}. Dabei wird das Tritium des Östradiol-17 α -T in der Leber von weiblichen Tieren in die 3- und 17-Stellung des aus Δ_4 -Androsten-3,17-dion entstehenden 5 α -Androstan-3 α ,17 β -diols eingebaut, während in der Leber von Rattenmännchen *trans*-Androstandiole entstehen, die Tritium in Position 4 oder 5 enthalten.

Die vorliegende Arbeit vergleicht den Tritiumeinbau aus Östradiol-17 α -T in Reduktionsprodukte des Androstendions und in Wasser bei der Leber von gesunden Weibchen und bei experimentell erzeugtem Leberkarzinom.

Ausserdem wurde bei gesunden Ratten und bei Tieren mit Leberkarzinom die zeitliche Abhängigkeit der In-vivo-Oxydation von Östradiol-17 α -T gemessen³.

Material und Methoden. Tiere: Ausgewachsene weibliche Wistar-Albino-Ratten eigener Zucht erhielten zur Erzeugung von isolierten Leberkarzinomen hepatozellulären Typs täglich für die Dauer von 7 Monaten ungefähr 2,5 mg Diäthylnitrosamin/kg Ratte im Trinkwasser⁴ verabreicht.

Gewebe: Die Ratten wurden durch Äther getötet; nach dem Ausbluten wurden die Lebern entnommen, die makroskopisch als Karzinome imponierenden Knoten freipräpariert und nach der Methode von DEUTSCH⁵ in Gewebeschnitte zerlegt. Ausserdem wurden Leberschnitte normaler Tiere hergestellt.

Die Inkubation und die Aufarbeitung der Ansätze ist in ² ausführlich beschrieben.

Isolierung und Identifizierung der Metaboliten: Nach Inkubation von Östradiol-17 α -T und inaktivem Androstendion mit Gewebeschnitten von Hepatomen wurde das radioaktive Haupt-Maximum nach Dünnschicht-Chromatographie durch folgende Schritte identifiziert: 1. Dünnschichtchromatographie in unterschiedlichen Entwicklungssystemen und Vergleich mit authentischen Referenzsubstanzen; 2. Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin; 3. mehrmaliges Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmitteln mit 0,2 g inaktiven Östradiols bis zur Konstanz der spezifischen Aktivität.

Messung der Radioaktivität: Ein- und zweidimensionale Dünnschichtchromatogramme wurden direkt auf der unveränderten Platte mit dem Berthold-«Dünnschicht-Scanner»⁶ ausgemessen⁷. Radioaktive Lösungen wurden in einer Dioxan-Szintillationslösung nach Butler im Flüssig-Szintillationszähler «Tri-Carb» der Firma Packard

¹ M. WENZEL, K. POLLOW und T. ZIEBARTH, Z. Naturf. 22b, 894 (1967).

² M. WENZEL und K. POLLOW, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 1667 (1967).

³ M. WENZEL, H. KLEUKER und P. E. SCHULZE, Z. Naturf. 21b, 1178 (1966).

⁴ Wir danken Herrn Dr. KURRECK vom Organ.-Chem. Institut der Freien Universität Berlin für die Überlassung von Diäthylnitrosamin.

⁵ W. DEUTSCH, J. Physiol. 87, 56P (1936).

⁶ Laboratorium Prof. Dr. BERTHOLD, 7547 Wildbad (Schwarzwald).

⁷ F. BERTHOLD und M. WENZEL, in *Instrumentation in Nuclear Medicine* (Ed. G. HINE; Academic Press, New York 1967), p. 251.