

Auffällig bei allen bestimmten Grössen ist die weitgehende Übereinstimmung der Werte der mit H_2S begasten Organismen, d.h. die An- oder Abwesenheit von Sulfat in der Nährlösung vermag keine signifikanten Veränderungen zu erzeugen.

Dieser Befund führte dazu, zu prüfen, wie weit mit H_2S begaste Organismen noch Sulfat aufnehmen. Dabei musste neben spezifisch auf die Sulfataufnahme gerichteten Wirkungen auch mit unspezifischen Hemmwirkungen auf die Stoffaufnahme im allgemeinen gerechnet werden. Um beide Wirkungen unterscheiden zu können, untersuchten wir den Einfluss von H_2S auf die Sulfataufnahme in Doppelmarkierungsexperimenten mit $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ und $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$. Dieses Ion verhält sich in vielen Aufnahmeexperimenten völlig gleich wie Sulfat¹⁶.

Die Wirkung der Begasung mit Luft und 18 ppm H_2S auf die Phosphat- und die Sulfataufnahmerate von *Lemna minor* geht aus Figur 2 hervor.

Bei der Hemmung der Sulfataufnahme durch H_2S dürften sich eine ganze Reihe von regulierenden Prozessen überlagern. Ein sehr rascher Prozess scheint dabei nicht spezifisch auf die Sulfataufnahme gerichtet zu sein, so dass er seine Wirkung in einem gewissen Masse auch auf Phosphat zu erstrecken vermag. Allgemein wird aus schnellen Abnahmen der Aufnahmeraten auf ATP-Mangel geschlossen¹⁸. Die Untersuchungen von ERISMANN¹⁷ weisen darauf hin, dass in *Lemna minor* bei Begasung mit H_2S ein ATP-Mangel auftritt, welcher im vorliegenden Fall für die erste rasche Abnahme der Aufnahmeraten von Phosphat und Sulfat verantwortlich sein könnte. Daneben aber müssen Regulationsmechanismen wirksam werden, welche sich ausschliesslich auf die Sulfataufnahme erstrecken.

Bei anderen Organismen scheint der intrazelluläre Cystein-^{18,19} oder Sulfatgehalt¹⁹ die Sulfataufnahme zu regulieren. In *Lemna minor* steigen bei H_2S -Begasung

Sulfat- (Tabelle und Figur 3) und Cysteingehalt (Figur 4). Dabei steigt der Sulfatgehalt auch bei Einsatz von hohen H_2S -Konzentrationen nur langsam, während Cystein bereits bei mässigen H_2S -Konzentrationen rasch annähernd die doppelte Konzentration erreicht. Deshalb könnte zuerst Cystein, später zusätzlich Sulfat, entstanden durch Oxidation von H_2S , hemmend auf die Sulfataufnahme wirken.

Bei der Umstellung auf die Begasung mit Luft allein nimmt die Phosphataufnahmerate sehr rasch wieder ihren ursprünglichen Wert an, weil offenbar der ATP-Mangel behoben wird. Die Sulfataufnahmerate steigt nach Aufhebung der H_2S -Begasung nur langsam an. Offenbar sind die Verbindungen, welche die Aufnahme hemmen, noch in zu hoher Konzentration vorhanden, und die Enthemmung erfolgt nur allmählich im Masse der Normalisierung der Poolgrössen.

Die dargestellte Hemmung der Sulfataufnahme durch H_2S erinnert stark an das gut untersuchte System $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Hier kann die reduzierte Form die Aufnahme und die Assimilation der oxidierten Form weitgehend hemmen²⁰⁻²⁴. In Anbetracht der Ähnlichkeit von Schwefel und Stickstoff in biologischen Systemen²⁵ könnten weitere Untersuchungen der Kompetition zwischen H_2S und SO_4^{2-} zeigen, dass hier ähnliche Regulationsmechanismen wirksam sind, wie im System $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$.

Summary. *Lemna minor* L. was cultivated with 6 ppm H_2S in atmospheric air. Compared to organisms in H_2S -free air, it had a smaller but constant specific growth rate for 36 days. It showed a pronounced increase in sulfate concentration. H_2S quickly reduced the sulfate uptake. The mechanism of regulation of sulfate uptake is discussed.

CHR. BRUNOLD und K. H. ERISMANN

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern,
Altenbergrain 21, CH-3013 Bern (Schweiz),
24. September 1973.

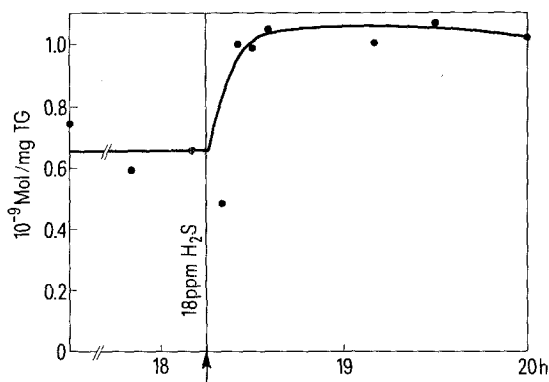


Fig. 4. Veränderung des Cysteingehalts von *Lemna minor* beim Übergang von der Begasung mit Luft zur Begasung mit Luft und 18 ppm H_2S .

¹⁶ J. WEIGL, *Planta* 75, 327 (1967).

¹⁷ K. H. ERISMANN, Referat am Int. Meeting Soc. exp. Biol. (Göteborg 1971).

¹⁸ J. W. HART und P. FILNER, *Plant Physiol.* 44, 1253 (1969).

¹⁹ G. BRADFIELD, P. SOMERFIELD, T. MEYN, M. HOLBY, D. BABCOCK, D. BRADLEY und I. H. SEGEL, *Plant Physiol.* 46, 720 (1970).

²⁰ J. MORRIS und P. J. SYRETT, *Arch. Mikrobiol.* 47, 32 (1963).

²¹ L. BEEVERS, L. E. SCHRADER, D. FLESHER und R. H. HAGEMAN, *Plant Physiol.* 40, 691 (1965).

²² A. R. FERGUSON, *Planta* 88, 344 (1969).

²³ K. W. JOY, *Plant Physiol.* 44, 845 (1969).

²⁴ L. K. SMITH und J. F. THOMPSON, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 35, 939 (1969).

²⁵ R. S. BANDURSKI in *Plant Biochemistry* (Eds. BONNER und VARNER; Academic Press, New York 1965), p. 467.

In vitro Effects of Lead on Enzymatic Activities of Rabbit Kidney Mitochondria

Early signs of the kidney damage which is known to occur in lead intoxication may be found in the mitochondria of the renal tubular lining cells. Ultramicroscopic studies of these mitochondria in experimental lead poisoning have revealed structural abnormalities, including ruptured outer membranes, vacuolated inner compartments, and a distorted arrangement of cristae^{1,2}. Furthermore, renal mitochondria isolated from lead-

intoxicated rats show reduced respiration and uncoupled oxidative phosphorylation³, impairment of electron-transport mechanism⁴, inhibition of pyruvate and succinate exchange diffusion rates³, and decrease in cytochrome and protein content⁵.

Since the changes in enzyme activities responsible for these structural and biochemical alterations have not yet been well defined, it seemed to us of interest to study the

Enzymatic activities of rabbit kidney mitochondria previously incubated with 0.5 mM or 2 mM lead acetate

	Control	Lead acetate (0.5 mM)	Lead acetate (2 mM)
Succinate oxidase ^a	174 ± 15	100 ± 12	9 ± 4
Succinate dehydrogenase ^b	153 ± 7	150 ± 12	152 ± 13
NADH cytochrome-c reductase ^b	228 ± 18	42 ± 16	19 ± 7
Cytochrome oxidase ^a	1900 ± 150	1500 ± 206	850 ± 162
Glutamate dehydrogenase ^b	102 ± 6	36 ± 7	21 ± 6
Monoamine oxidase ^a	6.2 ± 0.8	6.5 ± 0.5	6.2 ± 0.6

The results given are means ± S.D. ^a Enzymatic activities are expressed as nmoles of O₂ consumed/min/mg protein. ^b Enzymatic activities are expressed as nmoles of substrate oxidized or reduced/min/mg protein.

in vitro effects of lead on some enzymes contained in the inner membrane and cristae (succinate oxidase, succinate dehydrogenase, NADH cytochrome-c reductase, and cytochrome oxidase), in the matrix (glutamate dehydrogenase), or in the outer membrane (monoamine oxidase) of mitochondria⁶.

Material and methods. Mitochondria were isolated from rabbit kidney homogenate by centrifugation in a solution containing 210 mM mannitol, 70 mM sucrose, 1 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) and 0.1 mM disodium EDTA⁷, and incubated for 30 min at 37°C in the same mannitol-sucrose-Tris solution containing either 0.5 or 2 mM lead acetate without EDTA. Mitochondria were then centrifuged at 12,000 g for 15 min, and washed twice with the mannitol-sucrose-Tris solution without lead or EDTA added. Finally, the mitochondrial pellets were assayed for succinate oxidase⁸, succinate dehydrogenase⁹, NADH cytochrome-c reductase¹⁰, cytochrome oxidase¹¹, glutamate dehydrogenase¹², and monoamine oxidase¹³ activities, and protein content¹⁴.

Results and discussion. Succinate oxidase system showed a strong reduction of enzymatic activity (Table). Also NADH cytochrome-c reductase and cytochrome oxidase were markedly reduced, while succinate dehydrogenase was normal. It seems likely, then, that succinate oxidase system is altered in vitro because the sequence of electron-transfer reactions is inhibited in cytochromes by lead.

Monoamine oxidase was unchanged, while glutamate dehydrogenase activity was significantly diminished; this is in agreement with the reduction of glutamate dehydrogenase found in homogenates of kidney tissue of lead-intoxicated guinea-pigs¹⁵.

Riassunto. Dopo incubazione con acetato di piombo (2 mM o 0.5 mM) e successivo lavaggio i mitocondri delle cellule renali del coniglio mostrano una significativa diminuzione dell'attività della succinato-ossidasi, della NADH-citocromo c-reduttasi, della citocromo-ossidasi e

della glutammato-deidrogenasi, mentre la succinato-deidrogenasi e la monoamino-ossidasi non risultano modificate.

A. IANNACCONE, P. BOSCOLO, E. BERTOLI and G. BOMBARDIERI

Istituto di Medicina del Lavoro and Istituto di Clinica Medica, Università Cattolica, Via Pineta Sacchetti 526, I-00168 Roma (Italy), and Istituto di Chimica Biologica, Università di Bologna, I-40126 Bologna (Italy), 11 October 1973.

¹ R. A. GOYER, Lab. Invest. 19, 71 (1968).

² R. A. GOYER, A. KRALL and J. P. KIMBALL, Lab. Invest. 19, 78 (1968).

³ A. R. KRALL, T. T. MENG, S. J. HARMON and W. J. DOUGHERTY, Fedn. Proc. 30, No. 3, part II, abstr. 1357 (1971).

⁴ R. A. GOYER and R. KRALL, J. Cell Biol. 41, 393 (1969).

⁵ B. C. RHYNE and R. A. GOYER, Expl. molec. Path. 14, 386 (1971).

⁶ A. L. LEHNINGER, Biochemistry (Worth Publishers, New York 1970), p. 398.

⁷ N. YAGO and S. ICHII, J. Biochem., Tokyo 65, 215 (1969).

⁸ T. E. KING, in *Methods in Enzymology* (Eds. S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN; Academic Press, New York 1967), vol. 10, p. 202.

⁹ E. C. SLATER and W. D. BONNER, Biochem. J. 52, 185 (1952).

¹⁰ Y. HATEFI and J. S. RIESKE, in *Methods in Enzymology* (Eds. S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN; Academic Press, New York 1967), vol. 10, p. 225.

¹¹ W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS and J. F. STAUFFER, *Manometric Techniques*, 3rd edn. (Burgess Publishing Co., Minneapolis 1957), p. 173.

¹² H. J. STRECKER, in *Methods in Enzymology* (Eds. S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN; Academic Press, New York, 1955), vol. 2, p. 220.

¹³ N. H. CREASEY, Biochem. J. 64, 178 (1956).

¹⁴ O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL, J. biol. Chem. 193, 265 (1951).

¹⁵ G. C. SECCHI, L. ALESSIO and A. CIRLA, Clin. chim. Acta 27, 467 (1970).

Lipid Lowering Effect of Allicin (Diallyl Disulphide-Oxide) on Long Term Feeding to Normal Rats

Many therapeutic virtues have been ascribed to garlic among which its use in diabetes and in diseases of bacterial origin and cardiac ailments have received particular attention¹⁻⁵. A decoction of garlic with milk is used in small doses for heart disease⁶. The active principles present in garlic have been found to be mainly the sulphur containing compounds. The essential oil of garlic contains 6% allyl propyl disulphide and 60% diallyl disulphide⁶. The latter is produced from allicin, an antibiotic during

steam distillation of garlic juice⁷. Allicin is identified as

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C}_3\text{H}_5-\text{S}-\text{S}-\text{C}_3\text{H}_5 \end{array}$$

diallyl disulphide-oxide (C₃H₅-S-S-C₃H₅) by CAVALLITO et al.^{8,9}. It is present in garlic to the extent of 0.15%. In a preliminary study the authors have found that feeding of garlic juice to normal rats for a period of 2 months significantly reduced the lipid levels in serum and liver¹⁰. It has also been observed that daily administration of garlic juice to hypercholesterolaemic human beings