

Rats were examined without selection of sex. However, at 42 days of age, there was not any significant difference in serum DBH activity between male and female rats.

The recovery of a pure DBH preparation from the bovine adrenal medulla that was added to incubation mixture was similar (95%) with each serum sample of various ages. This confirms that the observed developmental changes in rat serum DBH activity is not due to formation of endogenous inhibitors or activators in rat serum.

DBH activity in the brain was reported to increase progressively with maturation¹⁰. DBH activity in peripheral sympathetic nerves may also increase in a similar way as in the brain. In contrast, increase in body weight is slow during the first weeks and rapid after 2–3 weeks of age.

Developmental changes in serum DBH activity may be determined by the ratio between the rate of development of the sympathetic nerves and the rate of increase of the blood volume. The rapid increase in serum DBH activity up to 14 days may suggest that the development of sympathetic nerves after birth may be rapid up to

14 days as compared with the increase in the blood volume. Gradual decrease in DBH activity after 14 days of age may indicate that the rate of development of the peripheral sympathetic nerves in rat may become slow as compared with the increase of blood volume or serum protein after 14 days of age.

These results agree with our previous results in SH rats and Wistar-Kyoto rats in that serum DBH activities are relatively high only when they are young and decrease with age during development. Therefore, the elevation of serum DBH activity in young animals and its decrease during their development appears to be general phenomena in rats, and not to be specific for Wistar-Kyoto rats and SH rats.

Since serum DBH level can be determined as a steady state level between the rate of secretion from the sympathetic nerves and the rate of inactivation during circulation, the possibility of changes in the rate of inactivation of serum DBH during development must be also considered. This remains for further investigation.

¹⁰ J. T. COYLE and J. AXELROD, *J. Neurochem.* 19, 449 (1972).

Die Cholesterin-7 α -Hydroxylase-Aktivität der Rattenleber nach Hypophysectomie und nach Substitution mit Hypophysenhormonen

Cholesterol 7 α -Hydroxylase Activity of the Rat Liver after Hypophysectomy and Administration of Hypophyseal Hormones

H. SCHRIEFERS und W. WAGNER¹

Institut für Physiologische Chemie der Universität Essen, Hufelandstrasse 55, D-43 Essen (Bundesrepublik Deutschland, BRD) und Sektion für Gastroenterologie der Universität Ulm, Steinhövelstrasse 9, D-79 Ulm (Bundesrepublik Deutschland, BRD), 26. August 1975.

Summary. In order to elucidate the role of the hypophysis in the regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase activity, male and female rats hypophysectomized on day 50 of life were treated with different hypophyseal hormones and tested on day 85 of life. Only a crude extract from human hypophysis and ovine prolactin was able to enhance the enzyme activity, thereby restoring the level of intact controls.

Nach Hypophysectomie erlischt der circadiane Rhythmus der Cholesterin-7 α -Hydroxylase-Aktivität; sie bleibt auf ihrem in den Vormittagsstunden liegenden Tiefstwert stehen^{2,3}. GIELEN et al.^{2,4} führen die Folgen der Hypophysectomie auf einen Ausfall der Nebennierenrindenfunktion zurück, geben aber zu bedenken⁴, dass «other factors might also control this enzymic activity». Auf der Suche nach solchen Faktoren wurden die Auswirkungen der Zufuhr verschiedener Hypophysenhormone auf die Cholesterin-7 α -Hydroxylase-Aktivität hypophysenloser Tiere studiert.

Material und Methoden. Den hypophysectomierten Ratten (SPF-Stamm Chbb: THOM, Operation am 50. Lebenstag) wurde eins der folgenden Hormone bzw. Hormonpräparationen verabreicht: GH (human growth hormone, Präparation Dr. Schleyer, Ulm) 25 μ g i.p. täglich, 9 Tage lang; PRL (ovine prolactin, Präparat NIH-P-S11) 125 μ g s.c. 2 $\times$ täglich, 11 Tage lang; TSH (bovine thyroid stimulating hormone, Thyreostimulin®) 40 mIU s.c. täglich, 16 Tage lang; ACTH (adrenocorticotrophic hormone, ACTH-Depot-Schering®) 2 IU i.m. täglich, 10 Tage lang; PMS (pregnant mare's serum gonadotropins, Anteron®) 100 IU i.m. täglich, 6 Tage lang; CG (human chorionic gonadotropin, Primogonyl®) einmalige i.m.-Injektion von 100 IU 6 Tage vor Tötung der Tiere; HHE (human hypophyseal extract, Präparation

Dr. Schleyer, Ulm) 0,1 ml (äquivalent 50 μ g GH) i.p. täglich, 9 Tage lang. Tötung der Tiere am 85. Lebenstag, 24 h nach der letzten Injektion, 8 Uhr vormittags.

Zusammensetzung des Testansatzes in Anlehnung an MAYER et al.⁵: 0,1 ml Substrat-Puffer-Gemisch, pH = 7,4 (0,2 μ Ci [4-¹⁴C]-Cholesterin, Phosphat-Puffer 100 mM, Cysteamin 35 mM), 0,05 ml Wasser mit den Komponenten eines NADPH-generierenden Systems (Glucose-6-phosphat 50 mM, NADP 5 mM, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase 0,035 IU) und 0,02 ml Mikrosomensuspension äquivalent 5 mg Leber in 0,25 M Saccharose. Präparation des Substrat-Puffer-Gemisches: Zusatz von Tween 20 (0,16 mg/ μ Ci) zum in Benzol gelösten Substrat; Entfernung des Benzols im Vakuum unter N₂, Zugabe von Puffer-Cysteamin-Lösung (0,5 ml/ μ Ci). Start der

¹ Diese Arbeit wurde im Rahmen des Sonderforschungsbereiches Endokrinologie (SFB 87) von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

² J. GIELEN, B. ROBAYE, J. VAN CANTFORT und J. RENSON, *Archs. int. Pharmacodyn. Théor.* 183, 403 (1970).

³ D. MAYER und A. VOGES, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 353, 1187 (1972).

⁴ J. GIELEN, J. VAN CANTFORT, R. ROBAYE und J. RENSON, *Eur. J. Biochem.* 55, 41 (1975).

⁵ D. MAYER, F.-W. KOSS und A. GLASENAPP, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 353, 921 (1972).

Die Aktivität* der Cholesterin-7 α -Hydroxylase der Rattenleber nach Hypophysektomie und nach Substitution mit Hypophysenhormonen

		Hypophysektomierte Tiere ^c							
		Vehikel	HHE	PRL	GH	ACTH	TSH	PMS	CG
Männlich	5,5 $\pm$ 1,1	0 ^d	6,5 $\pm$ 1,5	4,2 $\pm$ 1,4	0	0	0	0	0
Weiblich	5,3 $\pm$ 1,0	0	7,1 $\pm$ 1,3	5,1 $\pm$ 1,8					

*Hydroxylierungsrate^a γ bezogen auf 100 mg Leber, Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, 3 Inkubationen je Tier. ^b8 Tiere für jedes Geschlecht. ^c4 Tiere für jedes Geschlecht. ^d γ < 1,0.

Reaktion durch Eingabe der Mikrosomensuspension, Beendigung nach 60 min (37 °C) durch Zusatz von 0,6 ml Äthanol-Aceton (1:1, v/v). Der Eindampfrückstand von 0,2 ml des nach Zentrifugation erhaltenen Überstandes wurde auf Kieselgel-G-Platten (Schichtdicke 250 μ m) aufgetrennt (System Benzol-Äthylacetat 7:13, v/v). Aus den Ergebnissen der Scintillationszählung von eluiertem Substrat und eluiertem Reaktionsprodukt wurde die Hydroxylierungsrate γ (s. Ref.⁵) berechnet.

Ergebnisse und Diskussion. Nach Hypophysektomie sinkt die Aktivität der Cholesterin-7 α -Hydroxylase bei männlichen wie bei weiblichen Tieren auf Werte unterhalb der Nachweisgrenze (γ < 1,0) ab. Auf eine Behandlung sprechen nur die Tiere an, die entweder HHE oder PRL erhielten (völlige Normalisierung der Aktivität). Im übrigen hatten die Hormonbehandlungen in allen Fällen die erwarteten biologischen Effekte (Details hierzu s. Ref.⁶).

Mit dieser Arbeit ist erstmalig eine Wirkung von PRL auf die Aktivität der Cholesterin-7 α -Hydroxylase konstatiert. Nimmt man den kürzlich erhobenen Befund⁷ einer Beteiligung von PRL an der Regulation der Aktivität von Enzymen des Steroidhormonstoffwechsels hinzu, so könnte in diesen Fakten eine Antwort auf die in letzter Zeit wiederholt gestellte Frage^{8,9} nach der Funktion der

hepatischen Rezeptoren für PRL liegen, deren Synthese unter hormonaler Kontrolle steht, so unter der von PRL selbst¹⁰, so auch unter der von Thyroxin⁹. Besondere Beachtung verdient vor allem der letztere Befund, seit man weiss, dass die Schilddrüse in die hormonale Regulation der Cholesterin-7 α -Hydroxylase-Aktivität eingreift¹¹. Ob und wie sich in diesen Zusammenhang die Rolle der Glucocorticoide^{2,4} einordnen lässt, ist völlig offen. Künftige Untersuchungen werden möglicherweise zwischen einer hormonalen Regulation der Basisaktivität und einer hormonalen Regulation ihres circadianen Rhythmus zu differenzieren haben.

⁶ E. R. LAX, R. GHRAF, H. SCHRIEFERS, M. HERRMANN und D. PETUTSCHNIGK, *Acta endocr.*, Copenh., im Druck (1975).
⁷ H. SCHRIEFERS, E. KECK, S. KLEIN und E. SCHRÖDER, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 356, 1535 (1975).
⁸ B. I. POSNER, P. A. KELLY und H. G. FRIESEN, *Proc. natn. Acad. Sci., USA* 71, 2407 (1974).
⁹ M. GELATO, S. MARSHALL, M. BODREAU, J. BRUNI, G. A. CAMPBELL und J. MEITES, *Endocrinology* 96, 1292 (1975).
¹⁰ B. I. POSNER, P. A. KELLY und H. G. FRIESEN, *Science* 188, 57 (1975).
¹¹ N. TAKEUCHI, M. ITO, K. UCHIDA und N. YAMAMURA, *Biochem. J.* 148, 499 (1975).

The Role of Zinc in the Activation of the Enzyme Cellulase in Termites

F. T. ABUSHAMA¹ and M. A. KAMBAL

Zoology Department, University of Khartoum, P.O. Box 321, Khartoum (Sudan), 7 July 1975.

Summary. Chemical analysis had revealed an exceptionally high amount of zinc in the worker bodies of termites. Further investigation of the digestion of cellulose in vitro demonstrated that zinc functions as activator of the enzyme cellulase.

Analysis of the inorganic constituents of the worker bodies of the termite *Microtermes tragardi* (Sjostedt), using a quartz-prism spectrograph type NCII-28 and a binocular projector type DCII-1, revealed an exceptionally high amount of zinc: This reached 3% of the ashed weight and 0.01% of the dry weight of each worker. However, the concentration of zinc in the termite nest soil and in the sugar cane dry stems, on which the termites were feeding proved to be much lower. It was 0.003% of the ashed nest soil and 0.002% of the dry nest soil by weight. The sugar cane stems only contained traces of zinc. This indicated that worker termites actively accumulated zinc in their bodies.

Such a phenomenon and its functional significance has not been reported in insects. In higher animals, however,

the role of zinc in the activation of enzymes was demonstrated on several occasions: The amount of zinc in the prostate gland of the rat was shown to increase during infancy to reach 10 times the amount found in any other tissue of the rat. This was related to the increase in the activity of the enzyme carbonic anhydrase²⁻⁴. The presence of high concentration of zinc was also reported in the prostate gland of the ox and man⁵. Yeast-alcohol

¹ Present address: Zoology Department, University of Kuwait.
² M. I. FISCHER, A. O. TIKKALA and C. A. MAWSON, *Can. J. Biochem.* 33, 181 (1955).
³ F. A. GILBERT, *Mineral Nutrition and the Balance of Life* (University of Oklahoma Press, Oklahoma 1957).
⁴ D. A. SCOTT and J. R. MENDIVE, *J. biol. Chem.* 140, 445 (1941).
⁵ R. HOARE, E. E. DELONG and D. W. PENNER, *Cancer* 9, 721 (1956).