

Fig. 3.—Blinded, leg-less *Maja verrucosa* on turntable for rotation around vertical axis (dorsal view).

with a velocity which seemed independent of the degree of angular acceleration or deceleration.

Isolated elimination of the SH caused a complete loss of all gravitational reflexes. Rotation reflexes on turning around the vertical axis were unchanged, and similar reflexes on rotation around both horizontal axes were present (including typical after effects). After additional elimination of the FH all rotation reflexes were changed; complicated, long-lasting after effects were observed.

Elimination of both TH and SH resulted in a complete loss of all eye stalk reflexes, even though the FH were left untouched. So the FH seem to exert only a regulating or inhibiting influence on the rotatory reflexes which are elicited by stimulation of the TH.

A full account of the present investigation (including the tonic influence of the statocysts, the effects of unilateral eliminations etc.) will be published elsewhere⁷.

S. DIJKGRAAF

Zoological Station, Naples, and Laboratory of Comparative Physiology, Utrecht, July 29, 1956.

Zusammenfassung

In Fortsetzung früherer Untersuchungen an der Krabbenstatocyste wurden einige weitere Tatsachen festgestellt.

Bei erwachsenen *Carcinus maenas* und *Maja verrucosa* wurden erstmalig die Statolithen aufgefunden und beschrieben. Sie werden von aussen her aufgenommen. Nur wenige Hakenhaare stehen mit diesen Statolithen in Kontakt (Statolithenhaare). Die Mehrzahl der Hakenhaare steht auf einem eigenen Feld und ist ganz frei beweglich (freie Hakenhaare).

An Hand der Augenstielreflexe geblendeter Krabben (*Maja*) bei Rotation und mittels isolierter Nervendurchschneidungen liess sich zeigen: dass die Statolithenhaare die einzigen Schwererezeptoren sind; dass die Fadenhaare Rotationsrezeptoren sind, die bei Drehung um alle Achsen ansprechen; dass die freien Hakenhaare vermutlich ebenfalls Rotationsrezeptoren sind; dass deren Beteiligung jedoch bloss in einer Veränderung (Hemmung) der durch Fadenhaarreizung ausgelösten Augenstielreflexe zum Ausdruck kommt.

⁷ Z. vergl. Physiol.

Die Wirkung von Adrenalin auf das Ruhepotential von Myokardfasern des Vorhofs*

Es ist bekannt, dass Vagusreiz bzw. Acetylcholin-Applikation das Ruhepotential der Fasern des Vorhofs erhöht¹; dabei nimmt der Membranwiderstand ab²: die Vagushemmung tritt ein. Es liegt nach diesen Befunden nahe, die Wirkung des Antagonisten Adrenalin mit der des Acetylcholin zu vergleichen.

Methodik. Die Präparate waren aus dem rechten Vorhof oder Aurikel des Hundes ausgeschnittene, etwa 10 mm lange und 1 mm dicke Muskelstreifen. Der Muskel wurde zwischen 2 Zangen in einem 5 mm breiten Spalt gehalten, durch den etwa 60 cm³/min Tyrodelösung (37°C, gesättigt mit 95% O₂ und 5% CO₂, pH = 7,2) zirkulierten³. Adrenalin und Acetylcholin wurden 4 cm vor dem Präparat innerhalb 0,5 s in den zuführenden Schlauch injiziert, die Dosis dürfte sich dabei in etwa 1 cm³ verteilen. Danach müsste zum Beispiel bei Injektion von 10 γ eine Lösung 1:10⁵ für 1 s am Präparat vorbeifliessen; die tatsächlich an der Zelle herrschende Konzentration ist wesentlich geringer, wird jedoch länger einwirken. Das Präparat schlug nicht spontan, es konnte durch elektrischen Reiz jederzeit zum Schlagen gebracht werden. Die Messung erfolgte mit zwei Glaskapillarelektroden: mit der einen wurde intrazellulär das Membranpotential gemessen, die andere wurde in 5–500 μ Abstand in das Syncytium eingestochen und rechteckige Impulse durch sie appliziert.

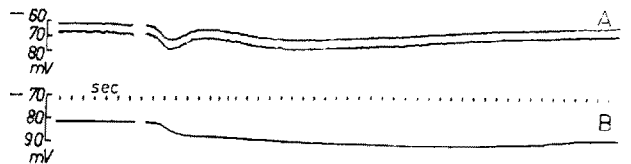


Abb. 1A und 1B. Ruhepotentiale von Vorhoffasern des Hundeherzens. Abszisse Zeit in Sekunden. In A ist die untere Linie das Ruhepotential, auf das katelektrotonische Impulse gesetzt sind. Bei Unterbrechung wurden in A 1 γ , in B 100 γ Adrenalin gegeben.

Ergebnisse. Wirkt Adrenalin kurze Zeit auf die Muskel-fasern des Vorhofs ein, so nimmt vorübergehend das Ruhepotential zu (Abb. 1, 2 und 3), der Effekt wurde 47mal registriert. Die Grösse und Dauer dieser Polarisation sind sehr verschieden. Sie hängen ab von der Dosis und der Höhe des Ruhepotentials, daneben offensichtlich auch von einer gewissen Adrenalin-Empfindlichkeit des Präparates. Auch bei Nor-Adrenalingabe vergrössert sich vorübergehend das Ruhepotential.

Die Abbildung 1A zeigt das Ruhepotential einer Vorhoffaser, auf das katelektrotonische Impulse gesetzt sind, unter der Einwirkung von 1 γ Adrenalin. Es ergibt sich eine zweiphasische Polarisation: zunächst schnell von 68 mV auf 77 mV, später noch einmal langsamer auf 76 mV. Nach 100 γ Adrenalin nimmt in der Abbildung 1B das Ruhepotential von 81 mV auf 92 mV zu; die zwei Phasen lassen sich nicht mehr voneinander abgrenzen, und die Polarisation hält länger an. Diese beiden Kurven

* Ausgeführt mit Unterstützung der deutschen Forschungsgemeinschaft.

¹ W. H. GASKELL, J. Physiol. 7, 451 (1886). – A. S. V. BURGEN und K. G. TERROUX, J. Physiol. 120, 449 (1953). – O. F. HUTTER und W. TRAUTWEIN, J. Gen. Physiol. 39, 715 (1956). – J. DEL CASTILLO und B. KATZ, Nature 175, 1035 (1955).

² W. TRAUTWEIN, S. W. KUFFLER und CH. EDWARDS, J. Gen. Physiol. (1956), in press.

³ J. DUDEL und W. TRAUTWEIN, Cardiologia 25, 344 (1954).

entsprechen zwei Reaktionstypen: die deutlich abgesetzte zweiphasische Wirkung in Abbildung 1A wird besonders bei geringen Adrenalin Dosen beobachtet, dabei wechselt das Verhältnis der Polarisation in den beiden Phasen stark. Die Form der Polarisation in Abbildung 1B ist dagegen typisch für hohe Dosen. Obwohl in Abbildung 1B die hundertfache Menge Adrenalin gegeben wurde, ist das Ausmass der Polarisation nur wenig grösser. Es ist jedoch in Abbildung 1A das Ruhepotential 13 mV kleiner, bei niedrigerem Ruhepotential ist nun die Polarisation relativ gross (siehe unten). Der Einfluss verschiedener Dosen auf die Grösse der Polarisation bei annähernd gleichem Ruhepotential an derselben Faser ist deutlicher sichtbar in Abbildung 2 (Mitte, sec 10 und 85).

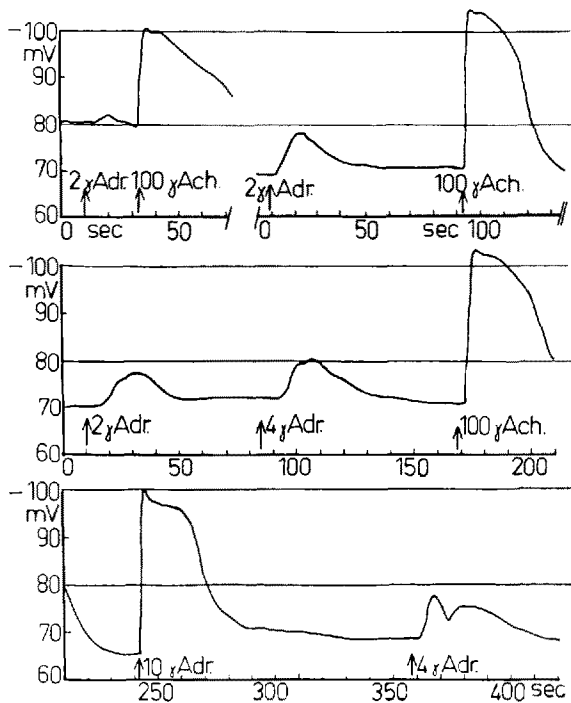


Abb. 2. Zeitgeraffte Darstellung des Verlaufs des Ruhepotentials in einer Vorhoffaser des Hundes bei Applikation von Adrenalin und Acetylcholin. Sec 0 (links oben) sofort nach Stillstellung des Muskels. Nach sec 70 15 min Unterbrechung bei stillstehendem Präparat. Am Ende der obersten Abszisse wieder 10 min Unterbrechung.

Die Ruhepotentiale von Vorhoffasern, die längere Zeit schlagend gehalten wurden, betragen, wie auch bei HOFFMAN und SUCKLING⁴, etwa 85 mV. Steht das Präparat, so verringert sich langsam das Ruhepotential, es hat in Abbildung 2, oben, in 16 min von 82 mV auf 71 mV abgenommen. Wird der Muskel wieder zum Schlagen gebracht, so erhöht sich das Ruhepotential in wenigen Minuten wieder auf den Ausgangswert. Gibt man nun bei schlagendem Präparat Adrenalin, so beobachtet man eine Polarisation um nicht mehr als 2 mV. Der gleiche Effekt tritt auf, wenn wie in Abbildung 2, links oben, Adrenalin unmittelbar nach Stillstellung des Präparates einwirkt. Nach 16 min ist das Ruhepotential um 11 mV kleiner, jetzt polarisieren wieder 100 μ Adrenalin um 7 mV, das gleiche zeigt sich nach weiteren 12 min Stillstand in Abbildung 2, Mitte, sec 10. Insgesamt sind

die Polarisationen nach Adrenalin bei hohem Ruhepotential (über 80 mV) kleiner, bei niedrigerem Ruhepotential haben wir Polarisationen bis zu 13 mV beobachtet.

In der Abbildung 2 sind zum Vergleich Polarisationen nach Acetylcholingabe gezeigt. Sie sind immer wesentlich grösser als die durch Adrenalin ausgelösten; die Potentiale überschreiten hier 100 mV. Nach Abklingen der Acetylcholinwirkung ist das Ruhepotential kleiner als zuvor, während nach Adrenalin das Potential eher erhöht bleibt. In sec 240 wurde Adrenalin kurz nach einer Acetylcholinpolarisation gegeben, die folgende Erhöhung des Ruhepotentials ist unverhältnismässig gross; wir sehen hier eine Verstärkung der Adrenalinwirkung nach Acetylcholin, die regelmässig auftrat.

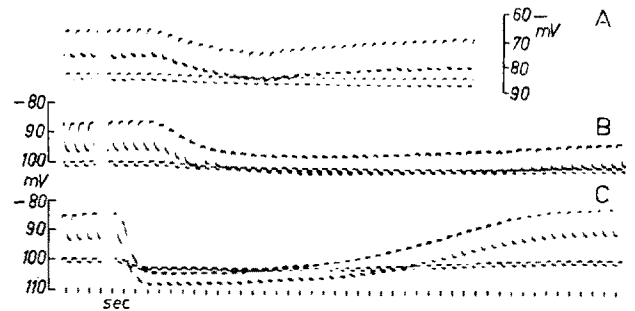


Abb. 3 A, B und C. Zeitlicher Verlauf des Ruhepotentials von Vorhoffasern mit aufgesetzten elektrotonischen Impulsen (wie in Abb. 1A), jeweils in zwei Verstärkungen; die Eichungen gelten für die grösseren Verstärkungen. Die applizierten Rechteckstösse sind 100 ms lang und haben 100 ms Abstand. A Anelektrotonus (Ruhepotential obere Linie), B und C Katelektrotonus (Ruhepotential untere Linie). Bei Unterbrechung wurden in A 10 μ Adrenalin, in B 100 μ Adrenalin, in C 100 μ Acetylcholin gegeben. Beachte auch die Verkürzung der Zeitkonstante der Impulse in B und C.

Für die Erklärung der Polarisation nach Adrenalin ist das gleichzeitige Verhalten des Membranwiderstandes, bzw. des Elektrotonus von Bedeutung. Abbildung 1A, 3A und B zeigen Polarisationen nach Adrenalin, dabei sind auf das Ruhepotential elektrotonische Impulse gesetzt. In Abbildung 1A und 3A ist die Amplitude des elektrotonischen Potentials, soweit messbar, unverändert. Dieses Verhalten ist typisch für kleine Dosen und relativ geringe Polarisation. Im Versuch der Abbildung 3B wurde die hohe Dosis von 100 μ Adrenalin gegeben. Trotz des hohen Ruhepotentials reagierte die Faser mit einer starken Polarisation. Hier nimmt die Amplitude des elektrotonischen Potentials auf 72% ab, dem entspricht etwa eine Abnahme des Membranwiderstandes auf die Hälfte; gleichzeitig verkürzt sich die Zeitkonstante der Impulse beträchtlich. Kleinere Dosen (10 μ) zeigten im weiteren Verlauf des Versuchs keine Abnahme des elektrotonischen Potentials. Verminderungen des Membranwiderstandes fanden wir mehrmals unter entsprechenden Bedingungen.

Diskussion. Beim Versuch einer Erklärung der beobachteten Polarisationen auf Grund von Änderungen der Membranpermeabilität liegen nach der Iontheorie (HODGKIN⁵, Membranschema siehe COOMBS, ECCLES und FATT⁶) zwei Möglichkeiten nahe. Das Ruhepotential befindet sich auf Grund einer hohen Kaliumpermeabilität (P_K) in der Nähe des Kaliumgleichgewichtspotentials (E_K). Die Abweichung des Ruhepotentials von E_K ent-

⁵ A. L. HODGKIN, Biol. Rev. 26, 339 (1951).

⁶ J. S. COOMBS, J. C. ECCLES und P. FATT, J. Physiol. 130, 326 (1955).

⁴ B. F. HOFFMAN und E. E. SUCKLING, Amer. J. Physiol. 173, 312 (1953).

steht dadurch, dass P_{Na} nicht unendlich klein gegen P_K ist. Polarisation ist möglich erstens durch Erhöhung von P_K und zweitens durch Abnahme von P_{Na} . Im Falle des Acetylcholins spricht viel dafür, dass die erste Möglichkeit vorliegt: die Permeabilität für K_{42} ist erhöht⁷, und der Membranwiderstand nimmt stark ab.

Für das Adrenalin kann ebenfalls die zweite Möglichkeit, Abnahme von P_{Na} , nicht die Hauptursache der Polarisation sein: einmal wurde niemals die zu fordernde Zunahme der Amplitude des elektrotonischen Potentials beobachtet, und weiter zeigte sich in einem orientierenden Versuch der Polarisationsseffekt durch Reduktion der Na^+ -Konzentration in der Badelösung auf $1/5$ unbeeinflusst. Für den Adrenalineinfluss auf die Permeabilität von K_{42} wurde von GOFFART und PERRY⁸ am Skelettmuskel in den ersten 13 min eine Abnahme, dann eine länger dauernde Zunahme gefunden. Es ist anzunehmen, dass hier bei hoher Adrenalindosis und Verringerung der Amplitude des Elektrotonus ebenfalls eine Zunahme von P_K vorliegt. Die Adrenalinpolarisationen ohne Veränderung des Elektrotonus bleiben vorläufig ungeklärt. Die Diskussion berührte nur die passiven Permeabilitäten, ein Einfluss des Adrenalins auf den aktiven Ionen-transport ist wahrscheinlich, seine Diskussion erfordert jedoch weitere Befunde.

J. DUDEL und W. TRAUTWEIN

Physiologisches Institut der Universität Heidelberg, den 31. Juli 1956.

Summary

Dog auricle fibres were impaled by 2 intracellular electrodes. The first electrode measured the effect of adrenaline on the resting potential, and through the second one electrotonic impulses were applied.

Adrenaline increases the resting potential by 1–35 mV. The polarisation is higher at a low resting potential and increases with the dose.

Small polarisations were not accompanied by a detectable change of the membrane resistance. During higher polarisations, the membrane resistance was reduced to 50%.

⁷ E. J. HARRIS und O. F. HUTTER, *J. Physiol.* (1956), in press.

⁸ M. GOFFART und W. L. M. PERRY, *J. Physiol.* 112, 95 (1951).

PRO EXPERIMENTIS

A Simple Microcolorimetric Method for the Determination of Pyruvate in 0.1 ml Samples of Blood

In the literature at least two micromethods for the blood pyruvate are reported¹, but they require special equipment and techniques. We report here a simple and rapid microadaptation of the method of FRIEDEMANN and HAUGEN², which requires only routine laboratory apparatus and techniques. Reagents: (a) Diluted mixture of LONG³: 0.84 g of citric acid, dissolved in 10 ml of distilled water, are brought to pH with 40% NaOH.

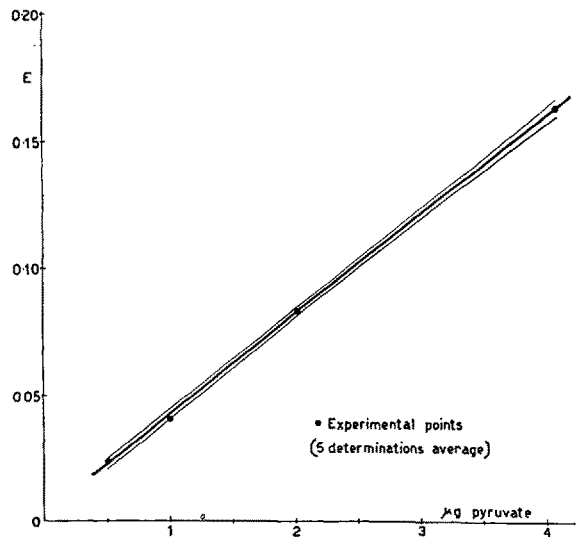
¹ M. V. TSAO and S. BROWN, *J. Lab. Clin. Med.* 35, 1 (1950). – S. L. BONTING, *Arch. Biochem. Biophys.* 58, 100 (1955).

² T. E. FRIEDEMANN and G. E. HAUGEN, *J. biol. Chem.* 147, 415 (1943).

³ C. LONG, *Biochem. J.* 38, 447 (1944).

Source of variability	D.o.F.	Sum of squares	Mean of squares	F	P
Regression	1	70,066.40	70,066.40	3,547.65	0.1 > P
Dev. from linearity . . .	2	47.60	23.80	1.20	P > 20%
Error	20	395.00	19.75		
Total	23	70,509.00			

In the solution 200 mg of Cetavlon (Imperial Chemical Industry) and 210 mg of NaF are then dissolved. The volume is brought to 20 ml with stirring. Aliquots of 0.5 ml of the solution are distributed in 25 ml small beakers, with large mouth, and evaporated to dryness *in vacuo*. The beakers are stored in a dessicator. (b) Trichloroacetic acid, 6% (w/v) solution. The solution is stored in an amber bottle in a refrigerator not more than 1 week. (c) 2,4-Dinitrophenyl-hydrazine, 0.25% (w/v) solution in 2 N HCl, stored in a refrigerator. (d) Toluene, water saturated. (e) Na_2CO_3 , 10% (w/v) solution. (f) NaOH, 1, 2 N solution.



Response to increasing amounts of pyruvate. Straight line calculated from theoretical equation and fiducial limits at the confidence level of 5%.

Method.—After decapitation of the animal (mouse), the blood is collected in the small beaker, containing (a), stirring thoroughly in order to haemolyze the blood and to dissolve the LONG's mixture. A sample of 0.1 ml of blood is delivered in a small Pyrex test tube (65 × 9.7 mm), beak-shaped to facilitate the pouring out of the liquid, containing 1 ml of (b). After accurate stirring with a small glass rod, the tube is allowed to stand for 15 min: then it is centrifuged for 10 min at 3,500 rpm. All the supernatant trichloroacetic acid solution is transferred to a small reaction tube (110 × 12 mm), with glass-ground stopper. 0.9 ml of (b) is added to the precipitated blood sample, which is re-suspended in solution with the small glass rod. After centrifugation for 10 min at 3,500 rpm, the supernatant is again quantitatively transferred to the reaction tube. The sample test-tube and a reagent blank are placed in a water bath, at 25°C. After 5 min, to each tube 0.2 ml of (c) is added, with mixing, and the reaction is allowed to proceed for exactly 5 min. To each tube, removed from