

Summary

The hyaluronic acid content of leucocytes from the peritoneum of rats shows a significant concentration when measured either turbidimetrically or oxydimetrically, the average value calculated for wet weight being 0.7–0.8%. The hyaluronic acid break down capacity of the leucocytes is not a specific enzyme action but can be attributed to their high ascorbic acid content. The phenomenon has no well defined pH or temperature optimum and can be inhibited by oxine and by semicarbazide.

Die Wirkung von Kalium und Calcium auf das Treppenphänomen am Froschherzen¹

In früheren Untersuchungen² war gezeigt worden, dass die zeitliche Entwicklung der Herzglykosidwirkung am elektrisch gereizten Froschventrikelpräparat von der Zahl der während der Einwirkungszeit des Glykosids erfolgten Herzkontraktionen abhängt, was auf eine Beeinflussung der Ionentransporte im Erregungs- und Erholungszyklus zurückgeführt wurde. Diese Deutung wurde weiter gestützt durch den Nachweis, dass die Herzglykosidwirkung in ausgesprochener Weise vom Konzentrationsverhältnis der Ionen in der verwendeten Ringerlösung abhängt³. Erhöhung der Calciumkonzentration oder Verminderung der Kaliumkonzentration wirken verstärkend und umgekehrt. Im Hinblick auf die bekannte, von LOEWI⁴ beschriebene Sensibilisierung des Herzmuskels gegenüber Calciumionen und auf den Befund von SCHATZMANN⁵, dass Herzglykosid den aktiven Kalium-Natrium-Austausch am Erythrozyten hemmt, wurde angenommen, dass die Herzglykosidwirkung in einer Hemmung von Ionentransporten durch die Muskelzellmembran besteht, auf Grund derer sich die Calciumionenkonzentration im Inneren der Zelle erhöht.

SZENT GYÖRGY⁶, der ebenfalls die Ionentransporte durch die Membran als den Angriffspunkt des Herzglykosids betrachtet, hat als Kriterium das Phänomen der Bowditchschen Treppe eingeführt. Er zeigte, dass die Treppe sowohl durch Digitalis als auch durch kaliumfreie Ringerlösungen unterdrückt werden kann. Er nahm danach an, dass sie auf Anhäufung von Kalium im Inneren der Muskelfaser während der Ruheperiode beruht und dass Digitalis den Kaliumeintritt hemmt.

Die von uns bevorzugte Annahme, dass für die muskuläre Glykosidwirkung Wesentliche sei die Innenkonzentration der Calciumionen, stützte sich einmal auf die genannte Beziehung zur Calciumsensibilisierung durch Herzglykoside, dann aber auch auf die Tatsache, dass am Aktomyosinsystem Kalium und Natrium sich ähnlich verhalten⁶, so dass eine Beeinflussung des Aktomyosins von dieser Seite aus weniger wahrscheinlich erschien, da sowohl beim Erregungsvorgang als beim Erholungsvorgang die Gesamtbilanz in erster Annäherung ein Austausch von Kalium gegen Natrium zu sein scheint.

¹ Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Roche-Stiftung durchgeführt.

² B. LÉVI, *Die Abhängigkeit der Strophanthosidwirkung auf das Froschherz von der Tätigkeit des Herzens*. Dissertation, Bern 1953. – W. WILBRANDT, K. BRAWAND und P. N. WITT, *Arch. exp. Path. Pharm.* 219, 397 (1953).

³ W. WILBRANDT und R. CAVIEZEL, *Arch. exp. Path. Pharm.* 222, 203 (1954).

⁴ O. LOEWI, *Arch. exp. Path. Pharm.* 82, 131 (1918).

⁵ H.-J. SCHATZMANN, *Helv. physiol. Acta* 11, 346 (1953).

⁶ A. SZENT-GYÖRGYI, *Chemical physiology of Contraction in Body and Heart Muscle* (Academic Press, New York 1953).

Dagegen übt Calcium eine sehr ausgesprochene Wirkung auf Aktomyosin schon in niedrigen Konzentrationen aus¹, die als kontraktions- und kontrakturbegünstigend bezeichnet werden kann.

Die Annahme einer Beteiligung der Calciumionen wurde weiter gestützt durch den Nachweis, dass der Austritt von ⁴⁵Ca aus dem Ventrikelpräparat durch Herzglykosid gehemmt werden kann².

In bezug auf die Bowditchsche Treppe wäre dann mit einiger Wahrscheinlichkeit zu erwarten, dass sie durch Erhöhung der Calciumionenkonzentration ähnlich unterdrückt oder vermindert werden sollte wie durch Kaliummangel. Die hier mitgeteilten Versuche dienen der Prüfung dieser Folgerung.

Methodik. Die Versuche wurden am elektrisch gereizten, isotonisch arbeitenden Froschventrikelpräparat durchgeführt, das in einem offenen Kreislauf arbeitet (Doppelkanüle und Ventile). Das Schlagvolumen wurde mit später ausführlicher zu beschreibenden pneumatischen Übertragungsmethoden am freischlagenden Herzen (ohne Serrefine) registriert. Die Reizung erfolgte mit rechteckigen Stromstößen (Grass-Stimulator, 45 V, 5 ms) alle 3 s. Zur Entwicklung der «Treppe» wurden reizfreie Pausen von 10 min eingeschaltet.

Resultate. Abbildung 1 zeigt einen Versuch, in dem die Treppe durch Verdoppelung der Calciumionenkonzentration der Ringerlösung fast aufgehoben wird, in Übereinstimmung mit der Erwartung.

Zum quantitativen Vergleich zwischen der Wirkung von Kaliummangel und Calciumüberschuss wurden alternierende Reizperioden (mit 10 min Reizpause) in normaler Ringerlösung, Ringerlösung mit vermindertem Kaliumgehalt und Ringerlösung mit erhöhtem Calciumgehalt durchgeführt, wobei die beiden Ionenkonzentrationen in gleichen Verhältnissen (mit p bezeichnet) abgestuft wurden (zum Beispiel $p = 1,4$: Kalium 1/1,4-fach, Calcium 1,4fach).

Als Mass der «Treppe» wurden aus V_1 , dem Schlagvolumen der ersten Kontraktion nach der Reizpause (bzw. V_{1-7} , dem mittleren Schlagvolumen der ersten sieben Kontraktionen), und V_m , dem maximalen Schlagvolumen der gleichen Reizperiode, Treppenquotienten T gebildet:

$$T_1 = \frac{V_m - V_1}{V_m} \quad \text{und} \quad T_{1-7} = \frac{V_m - V_{1-7}}{V_m}$$

In Abbildung 2 ist ein solcher Versuch wiedergegeben. Er zeigt, dass bei gleichem p Calciumüberschuss stärker wirkt als Kaliummangel. – Er zeigt ausserdem, dass der Treppenquotient in Ringerlösung T_R zeitlich nicht konstant ist, so dass es zweckmässig scheint, die Quotienten T auf den jeweiligen (durch Interpolation zu ermittelnden) Quotienten zu beziehen und relative Quotienten $T' = T/T_R$ zu benutzen.

Abbildung 3 zeigt im Mittel aus zwei ähnlichen Versuchsreihen T' als Funktion von p für Calciumüberschuss und Kaliummangel, getrennt für T'_1 und T'_{1-7} .

Vergleicht man Kalium- und Calciumkonzentrationen gleicher Wirksamkeit (das heisst mit gleichen Werten von T') durch die Relation $\log p_K = n \cdot \log p_{Ca}$ oder $p_K = p_{Ca}^n$, so ergibt sich aus diesen Versuchen für T'_1 ein Wert von $n = 4,8$, für T'_{1-7} ein solcher von $n = 3,25$.

Das Verhältnis der Wirkung von Calciumüberschuss und Kaliummangel hängt danach davon ab, ob T'_1 oder T'_{1-7} als Mass benützt wird. Da T'_1 nur oder vorwiegend

¹ E. BOZLER, *Amer. J. Physiol.* 167, 276 (1951).

² W. WILBRANDT und R. CAVIEZEL, *Helv. physiol. Acta* 1954 (im Druck).

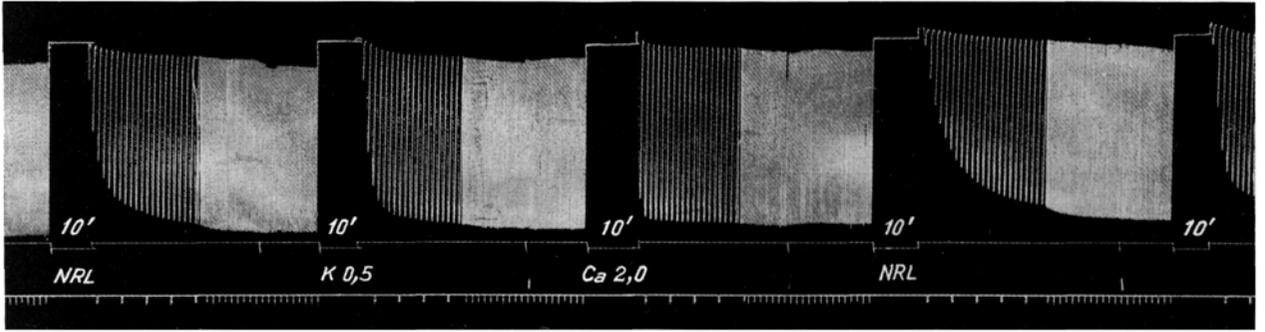


Abb. 1. Registrierkurven des Schlagvolumens am Froschventrikelpräparat bei elektrischer Reizung (alle drei Sekunden). Vergleich des Treppenphänomens (nach Reizpausen von 10 min) in Ringerlösungen normaler Zusammensetzung, mit halbem Kaliumgehalt und mit doppeltem Calciumgehalt. Die Treppe wird durch Erhöhung des Calciumgehalts stärker gehemmt als durch Verminderung des Kaliumgehalts.

durch die Vorgänge in der Erholungsphase, T'_{1-7} ausserdem auch durch die Erregungsphasen der ersten Kontraktionen nach der Reizpause beeinflusst ist, deutet das Resultat offenbar darauf hin, dass Kalium (relativ zu Calcium) in der Erholung weniger stark auf die für die Treppe bestimmenden Vorgänge wirken muss als in der Erregung.

regungsphase der Einwärtsflux als Angriffspunkt solcher Wirkungen zu betrachten sein. Verhältniszahlen wie die gefundenen, dürften mit einiger Wahrscheinlichkeit mit abgestuften Affinitäten zu Trägermolekülen in Beziehung stehen. Für detailliertere Deutungen scheint aber gegenwärtig die experimentelle Basis noch zu schmal.

M. MOULIN und W. WILBRANDT

Pharmakologisches Institut der Universität Bern, den 19. August 1954.

Summary

The stair-case phenomenon of Bowditch was studied on the electrically stimulated frog ventricle preparation. It depends not only on the concentration of potassium, as shown by SZENT-GYÖRGVI, but also on that of calcium. Excess of calcium as well as lack of potassium depress it (Fig. 1). A change of the calcium concentration in the ratio p yields a considerably stronger effect than a change of the potassium concentration in the ratio $1/p$ (Fig. 2 and 3). It is assumed that the stair case depends mainly on the concentration of calcium ions in the interior of the muscle fibers and that this concentration is affected not only by the outside concentration of calcium ions but (due to common affinities to carrier molecules) also by that of the potassium ions.

Some Metabolic Changes Occurring in Skeletal and Heart Muscles of Guinea Pigs Treated with Tetanus Toxin

The information available about the metabolic changes which occur in tetanized muscles is scarce. This paper reports the results of an investigation on the oxidative and phosphorylative activities of skeletal and heart muscles of guinea pigs after injection with tetanus toxin.

When the toxin of *Clostridium tetani* is injected intramuscularly in the guinea pig, tetanus is produced first in the muscles into which the toxin was injected (local tetanus). In a further stage, the animals develop tetanus also in the other, non-injected muscles (generalized tetanus). In this research, both stages were considered for the study of possible metabolic changes.

Guinea pigs weighing 230–300 g and fed with a standard diet were used. Tetanus toxin (a purified preparation from a culture filtrate of *Cl. tetani*, obtained by treatment with saturated ammonium sulphate) was injected

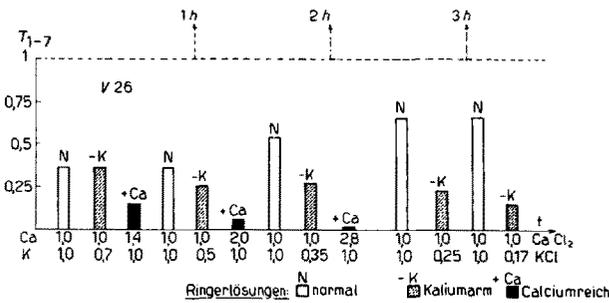


Abb. 2. Quantitative Bestimmung der Treppe mit Hilfe des Treppenquotienten T'_{1-7} (Ordinate) am elektrisch gereizten Froschventrikelpräparat unter Variation der Zusammensetzung der Ringerlösung in bezug auf Kalium- und Calciumkonzentration. Abszisse: Zeit in Stunden. Unter jeder Messung ist die Zusammensetzung der verwendeten Ringerlösung angegeben (1,0 = normaler Calcium- bzw. normaler Kaliumgehalt).

Trifft unsere Annahme zu, dass Calciumionen in Erregung und Erholung gleichsinnig mit Natrium durch die Membran transportiert werden und dass die Treppe durch die Calciuminnenkonzentration am Ende der Reizpause bestimmt wird, so würde in der Erholung in erster Linie der Auswärtsflux des Calciums, in der Er-

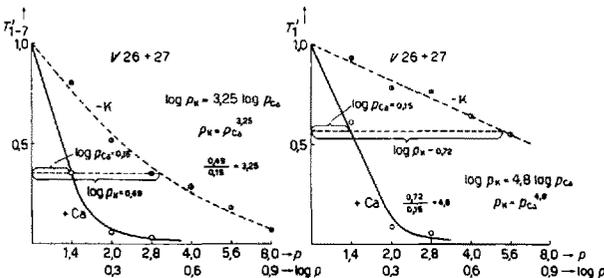


Abb. 3. Vergleich der Wirkung von Calciumüberschuss (+Ca) und Kaliummangel (—K) auf das Treppenphänomen, das quantitativ mit Hilfe der relativen Treppenquotienten T' (nähere Definition siehe im Text) charakterisiert wird. Abszisse: Verhältniszahl p für die Veränderung der Calciumkonzentration (Erhöhung) bzw. der Kaliumkonzentration (Verminderung). Näheres im Text.