

opment as demonstrated by the complete lack of turbidity for succinylcholine.

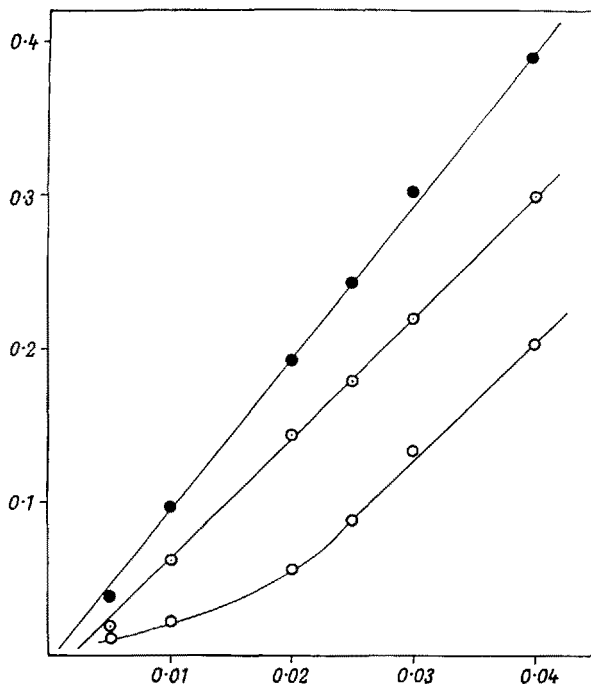


Fig. 3. — Influence of carbon chain length on the reaction of methonium salts with Nessler's reagent. On the ordinate optical density values; on the abscissa methonium salt concentrations expressed in  $\mu M/ml$ .

●—●  $C_{10}$       ○—○  $C_6$       ○—○  $C_5$

The application of the described method for the detection of  $C_{10}$  in biological fluids, and the results obtained in experimental research as in clinical investigations will be fully reported elsewhere.

B. GIOVANELLA, C. MANNI, and G. MORICCA

*Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, Roma, and Clinica Chirurgica, Università di Roma, June 10, 1959.*

#### Riassunto

Si descrive un metodo per la determinazione del decametonio in piccole concentrazioni (2–20  $\gamma/ml$ ) impiegando il reattivo di Nessler.

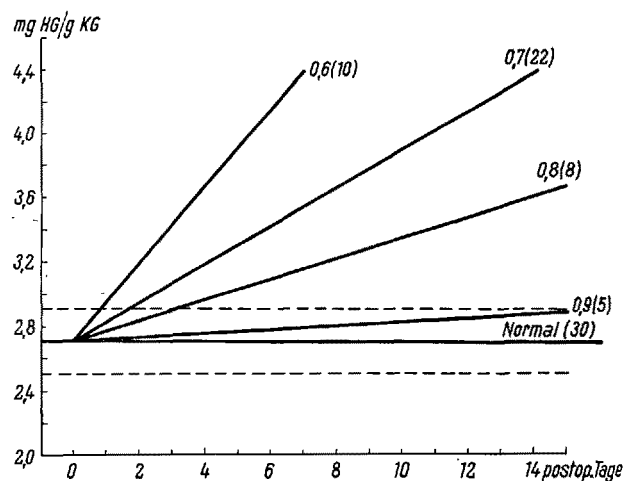
Si sono identificate le condizioni in cui la reazione torbidimetrica che si produce è strettamente specifica, e può quindi essere utilmente impiegata per il dosaggio di questo miorilassante nei liquidi biologici.

### Das Verhalten des Glykogens bei linksventrikulärer Hypertrophie nach artifiziieller peripherer Widerstandserhöhung

MARGARET BEZNĀK<sup>1</sup> hat in eingehenden physiologischen Studien das Verhalten des Kreislaufes und des Herzens nach stenosierender Beringung der Abdominalaorta bei

<sup>1</sup> MARGARET BEZNĀK, J. Physiol. 116, 74 (1952); Canad. J. Biochem. Physiol. 33, 985, 995 (1955); 34, 791 (1956); Circ. Res. 6, 207 (1958).

Ratten abgeklärt. Diese Untersuchungen zeigen, dass im Anschluss an die artifiziielle Stenosierung der Aorta der totale periphere Widerstand ansteigt; der prästenotische arterielle Mitteldruck bleibt anfänglich unverändert, um in der Folge langsam anzusteigen; der poststenotische arterielle Mitteldruck fällt postoperativ ab, steigt später ebenfalls langsam an und erreicht schliesslich hypertone Druckwerte. Parallel mit der Entstehung der Hypertonie tritt eine mehr oder weniger ausgesprochene linksventrikuläre Hypertrophie, die 50 und mehr % des Normalgewichtes betragen kann, auf. Im weiteren konnte BEZNĀK zeigen, dass die Entstehung der Hypertonie wie auch der Hypertrophie von einer funktionstüchtigen Hypophyse abhängt. Nach Hypophysektomie weisen sowohl Normaltiere wie Stenostiere eine Hypotonie und eine Atrophie des Herzens auf. Diese hämodynamisch gut definierte Form der Hypertrophie des Herzens schien uns zu Stoffwechselversuchen am Kleintier besonders geeignet zu sein.



Entstehung der Herzhypertrophie nach artifiziieller Stenosierung der Abdominalaorta

In der Ordinate ist ein Quotient (mg Herzgewicht pro 1 g Körpergewicht), der das Ausmass der Hypertrophie wiedergibt, eingezeichnet. Auf der Abszisse befindet sich die postoperativ verstrichene Zeit in Tagen. Die nicht eingeklammerten Zahlen hinter den verschiedenen Steigungslinien geben den innern Durchmesser der verwendeten Goldringe an (0,6, 0,7, 0,8, 0,9). Die eingeklammerten Zahlen geben die zur Errechnung der Linien verwendeten Tiere an

Da, nach RUSSELL und BLOOM<sup>2-4</sup>, durch ACTH oder Wachstumshormon STH der Glykogengehalt des Herzens erhöht werden kann und andererseits die Entstehung der Hypertonie-Hypertrophie des Herzens von einer funktionstüchtigen Hypophyse abhängt, schien uns eine Kontrolle des Glykogengehaltes beim hypertrophierenden Rattenherz angezeigt. Eine eventuelle Überfunktion der Hypophyse könnte theoretisch zu einer Glykogensteigerung des Herzmuskels führen.

**Methodik.** Wir verwendeten männliche Albinoratten im Gewicht von 150–210 g. Die Aorta wurde von einer linksseitigen Abdominalöffnung aus direkt unterhalb des Zwerchfelles mit einem Goldring von 0,9, 0,8, 0,7 oder 0,6 mm innerem Durchmesser umgeben. Die Vergleichs-

<sup>2</sup> JANE A. RUSSELL and A. E. WILHELMI, Endocrinology 47, 26 (1950).

<sup>3</sup> ANNE E. MILMAN and JANE A. RUSSELL, Endocrinology 47, 114 (1950).

<sup>4</sup> JANE A. RUSSELL and W. L. BLOOM, Amer. J. Physiol. 183, 345 (1955); Endocrinology 58, 83 (1956).

Glykogengehalt normaler und hypertrophierender Rattenherzen

	Zahl der Tiere	a Alkalisch lösliches Gesamtglykogen in mg/g Feuchtgewicht	b säurelösliches Glykogen in mg/g Feuchtgewicht	Proteingebundenes Glykogen = Differenz von a-b
Normaltiere . . .	15	4,8 ± 1,1	1,2 ± 0,38	3,6
Ringtiere . . .	24	6,1 ± 1,4	1,9 ± 0,76	4,2
Anstieg des Glyko- gens in % der Normalwerte . .		27%	58%	16%
P-Faktor . . . .		> 0,001 < 0,01	< 0,001	

tiere wurden der gleichen operativen Technik unterzogen, wobei ebenfalls die Aorta subdiaphragmal freipräpariert wurde.

Das säurelösliche und alkalilösliche Glykogen des linksventrikulären Herzmuskels wurden nach sofortiger Gefrierung des Herzens in flüssigem Stickstoff nach den Angaben von BLOOM<sup>5</sup> bestimmt.

**Resultate.** In der Abbildung ist das Verhalten des Gewichtes der beiden Herzkammern zusammen in Abhängigkeit des inneren Durchmessers des Aortenringes und der postoperativ verstrichenen Zeit dargestellt. Als Mass für die Hypertrophie des Herzens wurde ein Quotient (Herzgewicht in mg pro 1 g Körpergewicht) errechnet.

Bei 30 unberingten operierten Tieren ergab sich ein Quotient von  $2,7 \pm 0,2$  mg Herzgewicht pro 1 g Körpergewicht. Die mit einem Ring von 0,6 mm Durchmesser versehenen Tiere erreichten am 7. Tag im Mittel einen solchen von 4,4 (10 Tiere). Bei dieser Gruppe überlebte nur ein kleiner Teil den 7. postoperativen Tag. Etwa  $\frac{2}{3}$  der Tiere gehen in den ersten 3 Tagen an einer Linksinsuffizienz mit Lungenödem ein; selten einmal können die Zeichen einer globalen Herzinsuffizienz festgestellt werden. Bei 22 Tieren mit einem Ring von 0,7 mm Durchmesser steigt der mittlere Faktor in 14 Tagen auf 4,4. Bei dieser Gruppe stellt eine akute Herzinsuffizienz ein seltenes Ereignis dar. Ist der Ringdurchmesser 0,8 mm, so steigt der Quotient bis zum 15. Tag auf 3,7 (8 Tiere). Beträgt die Ringgrösse 0,9 mm, so fällt der errechnete Quotient am 15. Tag immer noch in die Streubreite der Normaltiere und beträgt im Mittel aus 5 Tieren 2,9. Bei den letzten beiden Gruppen kam postoperativ kein einziges Tier auf Grund einer Herzinsuffizienz *ad exitum*. Die Streubreiten der einzelnen Gruppen sind ziemlich gross, was durch die Schwierigkeit eines vollständigen Ringschlusses bedingt sein dürfte. Die Kontrolle der Trockensubstanz des Herzmuskels pro 1 g Feuchtgewebe ergab in allen Gruppen keine Abweichung von denen der Normaltiere. Dadurch kann eine eventuelle Ödembildung ausgeschlossen werden.

In einer ersten Serie von Tieren, die mit Ringweiten von 0,7 und 0,8 mm versehen waren, prüften wir sowohl die säurelösliche wie auch die alkalilösliche (Gesamt-) Glykogenfraktion. Die Tiere hungerten vor der Tötung während 24 h. Es zeigte sich dabei, dass sowohl die säurelösliche wie auch die alkalilösliche Fraktion des Glykogens vom 4. postoperativen Tag an bei hypertrophierenden Herzen signifikant erhöht ist (Tabelle). Dabei verteilt sich die Zunahme des Glykogens zu etwa gleichen Teilen auf die säurelösliche wie auf die proteingebundene Fraktion (proteingebundene Fraktion = alkalilösliche minus

säurelösliche Fraktion). Der prozentuale Anstieg der alkalilöslichen Fraktion beträgt 27%, derjenige der säurelöslichen Fraktion 58% des Normalwertes. Die Enge des Ringes, das heisst die Geschwindigkeit der Entstehung der Herzhypertrophie, verändert die Glykogenzunahme.

Da über die ersten 3 postoperativen Tage keine einheitlichen Glykogenverhältnisse gefunden werden konnten, versuchten wir durch extremen Hunger wie auch durch kohlehydratreiche Sondenernährung mit nachfolgender 24stündiger Hungerperiode Klarheit zu erlangen. Auch dadurch gelang es nicht, eine statistisch gesicherte Veränderung im Glykogengehalt des Herzens nachzuweisen. Es fiel allerdings auf, dass ungefähr 48 h nach erfolgter Operation sowohl bei beringten wie nicht beringten Tieren ein ausserordentlich starker, kurz-dauernder Glykogenanstieg auftrat.

Bei einer letzten Serie von Tieren, die mit der Sonde schon präoperativ wie auch postoperativ kohlenhydratreich ernährt wurden, verabreichten wir 4 h vor der Tötung durch die Sonde 2 g Glukose. Dabei traten schon in den ersten 24 h nach Beringung der Aorta erhöhte Glykogenwerte auf.

**Diskussion.** Aus unseren Versuchen geht hervor, dass eine enge Beziehung zwischen dem innern Durchmesser des Aortenringes und der gewichtsmässigen Hypertrophie des linken Herzens besteht. Damit bestätigen wir die Feststellung von BEZNÄK, welche im weiteren zeigte, dass, hämodynamisch gesehen, die Beringung vorwiegend eine periphere Widerstandserhöhung verursacht. Je enger der Aortenring, das heisst je grösser der periphere Widerstand, desto rascher entwickelt sich eine Hypertrophie des Herzens.

Wie unsere Versuche zeigen, finden wir beim hypertrophierenden Rattenherzen einen deutlichen Anstieg sowohl der säurelöslichen wie auch der alkalilöslichen Glykogenfraktion. Dabei scheint die Geschwindigkeit der Hypertrophie-Entstehung einen Einfluss auf die Grösse des Glykogenanstieges auszuüben. Es gelingt auch durch bestimmte Ernährung der Tiere, schon einige Stunden nach der operativen Beringung den Glykogenanstieg nachzuweisen.

Nach den Versuchen von BEZNÄK steht fest, dass die Entstehung der Hypertonie-Hypertrophie nach peripherer Widerstandserhöhung von einer funktionstüchtigen Hypophyse abhängt. Im weiteren zeigten BLOOM und RUSSELL, dass eine Verabreichung von STH oder ACTH den Glykogengehalt des Herzmuskels deutlich erhöht, während Hypophysektomie zu einer Verminderung desselben führt. Die Überlegung liegt nahe, dass die Erhöhung des Glykogenspiegels im hypertrophierenden Rattenherzen, wie wir sie festgestellt haben, ebenfalls von einer vermehrten Hypophysenaktivität abhängt und ähnliche Verhältnisse entstehen, wie sie nach Verabreichung von STH oder ACTH zu finden sind. Einen Beweis für diese Annahme

<sup>5</sup> W. L. BLOOM, G. T. LEWIS, MARY Z. SCHUMPERT, and TSUNG-MEN SHEN, J. biol. Chem. 188, 631 (1951).

können wir allerdings mit unseren Resultaten nicht geben und möchten auch die Frage offen lassen, ob nicht eine eventuelle postoperative Durchblutungsstörung des Splanchnicusgebietes an der Entstehung des Glykogenanstieges beteiligt ist, da, wie ebenfalls aus Arbeiten von BLOOM und RUSSELL hervorgeht, durch Hunger eine Erhöhung des Herzglykogens erzielt wird.

E. LÜTHY, B. BISCHOF und H. RÖSLI

Medizinische Universitäts-Poliklinik Zürich, 23. Juni 1959.

#### Summary

By an artificial stenosis of the abdominal aorta, hypertrophy of the left heart is produced. Different degrees of narrowing of the aorta lead to different degrees of heart hypertrophy. After a starvation of 24 h, the glycogen content of the heart that is in a hypertrophic condition is higher than in normal hearts.

### Lead Reactive Substances in Peripheral Synapses

The subneural apparatus of motor end-plates was first demonstrated with a supravital Janus-Green B staining by COUTEAUX<sup>1</sup>. Histochemical investigations revealed that the palisade-like structure of the subneural apparatus exhibits cholinesterase activity<sup>2-8</sup>.

Biochemical investigations concerning the function of the myoneural synapsis suggest, however, that a number of other factors play an essential rôle in the transmission of impulses. According to KOSHTOYANTZ *et al.*<sup>9</sup>, especially -SH compounds must be taken into account. The participation of active -SH groups in the structure of Coenzyme A, an essential factor in the manufacturing of acetylcholine, is a well-known fact<sup>10</sup>. Considering the very sensitive reaction of heavy metal salts with -SH groups (mercaptide reaction), it was decided to attempt to trace the subneural apparatus and other synaptical structures by means of lead compounds.

**Technique and Results.** Anesthesia was induced in rats by an intraperitoneal injection of urethane (0.2–0.3 g). One ml of the following solution was injected percutaneously into the short flexor muscle of the hind pad:

Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> cryst.	1.0 g
Urea (or guanidine)	1.0 g
Formalin 4 p.c.	20.0 ml

15 min later the animals were killed and the muscles excised. Frozen sections were cut immediately, washed briefly in distilled water and immersed for a few seconds

in a 2 p.c. aqueous solution of sodium sulfide. This treatment resulted in the characteristic microscopical pattern of the subneural apparatus, as had been anticipated.

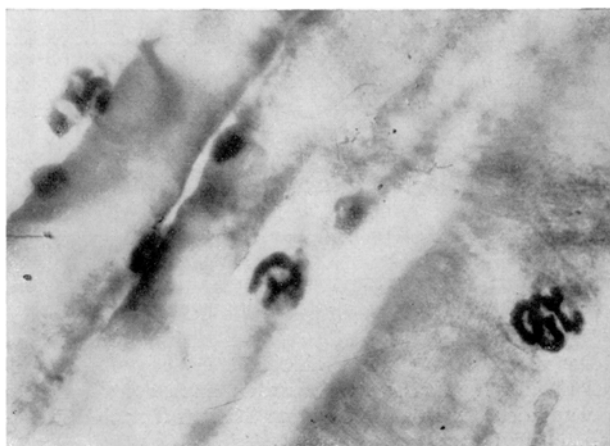


Fig. 1

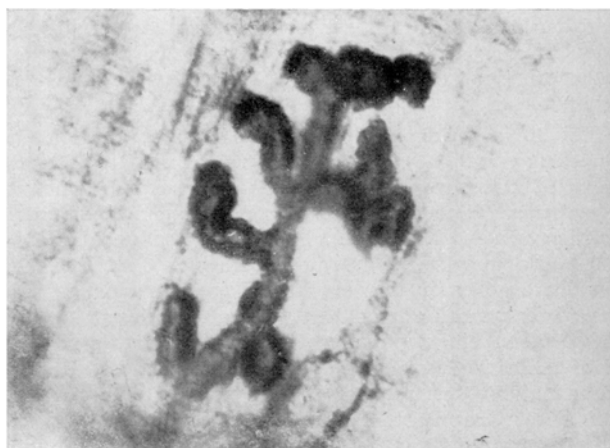


Fig. 2



Fig. 3

Similar results were obtained, if fresh tissues were immersed in the aforementioned lead solution for 15 min, sectioned, and treated subsequently with Na<sub>2</sub>S. Other muscles (e.g. diaphragm, intercostal muscle, gastrocne-

<sup>1</sup> R. COUTEAUX, C. R. Soc. Biol. 127, 571 (1938).

<sup>2</sup> R. COUTEAUX and D. NACHMANSOHN, Nature 142, 1481 (1938).

<sup>3</sup> M. CREVIER and L. F. BÉLANGER, Science 122, 556 (1955).

<sup>4</sup> B. CSILLIK and GY. SÁVAY, Acta morph. Acad. Sci. hung. 4, 103 (1954).

<sup>5</sup> B. CSILLIK and GY. SÁVAY, Acta neuroveget. 19, 41 (1958).

<sup>6</sup> M. A. GEREBTZOFF, Acta anat. 19, 366 (1953).

<sup>7</sup> S. J. HOLT, Proc. R. Soc. [B] 142, 160 (1954).

<sup>8</sup> G. B. KOELLE and F. S. FRIEDENWALD, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N.Y. 70, 617 (1949).

<sup>9</sup> H. S. KOSHTOYANTZ, 19th Internat. physiol. Congr. Montreal (1953).

<sup>10</sup> H. R. DOWNES, The Chemistry of Living Cells (Longmans, London 1955), p. 187, 509.