

used and then followed an S-shaped curve approaching maximal values at 50–100 pulses/s. The post-stimulatory dilatation and consecutive constriction showed a similar relation to the stimulus frequency.

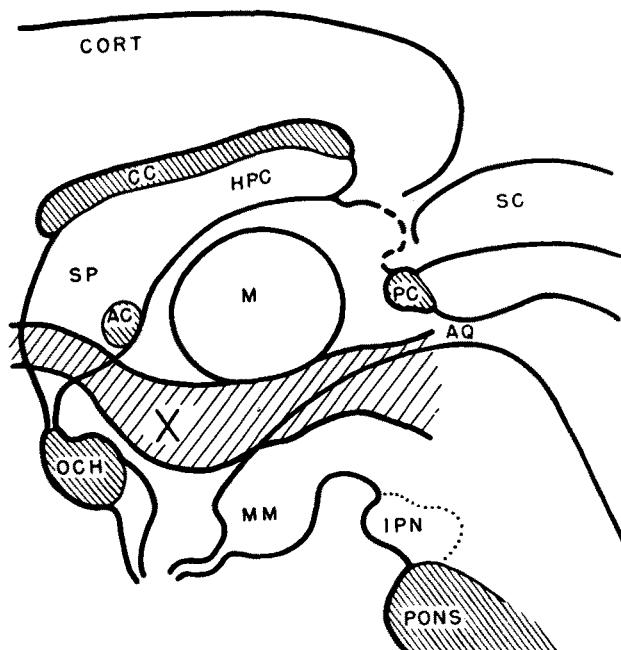


Fig. 3.—Schematic mid-sagittal reconstruction on rabbit brain stem of the region (X), from which large-artery constriction has been elicited.

Arterial vasoconstrictions could be elicited bilaterally in the ear, forelimb and hindlimb with only minor changes in mean systemic pressure. Unilateral hypothalamic stimulation sufficed for bilateral responses. The constriction of the ear arteries had the lowest stimulation threshold, constriction of the forelimb arteries demanding the highest voltage. The splanchnic arteries reacted only to those stimuli that evoked considerable pressor responses. During constrictor reactions in the other vessels, they showed an increased pulsatory amplitude. This was probably due to passive distension of the vessels, as similar increases of pulsations was seen in other arteries when the tone of the vessel wall was reduced.

Increasing the depth of anaesthesia, or heating the animal, first abolished the response of the ear artery (Fig. 1 B). A further injection of anaesthetics depressed the constriction of the forelimb arteries. This extinction of response was accompanied by an increase of the local pulsations. Trauma of the vessels caused by dissection, anoxia, or mechanically induced spasm also favoured loss of nervous control, and abolished the vasoconstrictor reactions. This was one of the main reasons for adopting the present indirect method of study. Minor vasoconstrictions also occurred 'spontaneously', or were induced in lightly anaesthetized animals by 'arousing' or noxious stimuli. These changes were not seen in deep anaesthesia.

The arterial constriction was abolished by appropriate nerve sections and after ergotamine. The nerves to the femoral artery were found to run in the femoral nerve. Stimulation of the lumbar sympathetic trunk or the femoral nerve in curarized preparations, provoked responses similar to those obtained by central stimuli. From 1 to 10 pulses/s (the latter maximal), the response was proportional to stimulus frequency, though the strict relation was an S-shaped function. Increasing frequency

beyond 20/s, usually led to a decrease of response. Relaxation responses, or secondary constriction after stimulation, were not found in these postganglionic stimulation experiments.

**Conclusions.** A central nervous control of vasomotor activity in large arteries has been found. It resembles the well-known vasoconstrictor innervation of small vessels with respect to activation, neural structures, and neuro-effector characteristics. It usually operates concurrently with the vasoconstrictor control of smaller vessels, thus producing a homologous response in consecutive parts of a vascular loop. However, in case of prolonged activation, the large arteries maintain constriction far better than small ones and show evidence of arterial spasm. This is particularly true when the system is stimulated at the diencephalic level. It then seems capable of producing independent, isolated constrictions, at least as judged by the overall vasomotor patterns. Probably central functional patterns and local peripheral conditions interact to create the powerful regional vasospasm.

The mean systemic pressure was constant, even during generalized constriction in the limbs, and this may be partly ascribed to a redistribution of flow to visceral areas, as evidenced by the concurrent distension of splanchnic arteries. Such a vasomotor pattern could be of importance for centralization of pressure in pathological emergency situations, e.g. shock.

A fellowship from 'Signe och Ane Gyllenbergs Stiftelse', and a grant to the Institute from the Office of Scientific Research of the Air Research and Development Command, United States Air Force, through its European Office, Contract AF 61(052)-119, are acknowledged.

N. WECKMAN

*Nobel Institute for Neurophysiology, Karolinska Institutet, Stockholm (Sweden), October 8, 1959.*

#### Zusammenfassung

Die nervöse Kontrolle der Femoral-, Brachial-, zentralen Ohr- und Mesenterialarterien wurde am Kaninchen untersucht. Es konnten durch elektrische Reizung eines Gebietes im lateralen Hypothalamus abgestufte Gefäßverengerungen hervorgerufen werden. Ohne wesentliche Änderung des Aortenmitteldruckes und der Herzfrequenz konnten sogar maximale Kontraktionen hervorgerufen werden. Lange Reize verursachten anhaltenden Gefäßspasmus, der in der A. femoralis am stärksten ausgeprägt war.

#### Untersuchungen zur intrazellulären Lokalisation der Renin- und Hypertensinase-Aktivität

Trotz zahlreicher Untersuchungen ist es bis heute noch nicht gelückt, die Bildungs- bzw. Speicherorte des Renins in der Niere eindeutig festzulegen<sup>1-3</sup>. Während Versuche dieser Art beträchtliche methodische Schwierigkeiten bieten, schien uns die Frage nach der Lokalisation des Renins in der Zelle mit Hilfe der Differentialzentrifugierung lösbar zu sein. Wir bestimmten deshalb die Reninaktivität in den einzelnen Fraktionen von Nieren-

<sup>1</sup> A. BOHLE, Habilitationsschrift Heidelberg (1953); Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (1959), im Druck.

<sup>2</sup> J. BING and B. WIBERG, Acta path. microbiol. scand. **44**, 138 (1958).

<sup>3</sup> F. GROSS, Klin. Wschr. **36**, 693 (1958).

homogenaten verschiedener Tierarten und massen gleichzeitig die Hypertensinaseaktivität.

Homogenate von Ratten- und Schweinenieren wurden nach SCHNEIDER<sup>4</sup> in 0,25 M Saccharose fraktioniert. Die Testung der Reninaktivität erfolgte am Blutdruck der mit Athylurethan narkotisierten und mit Ecolid<sup>5</sup> (0,1 mg/kg) und Atropin (10 mg/kg) vorbehandelten Ratte. Als Standard verwendeten wir ein nach einer von uns modifizierten Methode von SCHALES<sup>6</sup> dargestelltes Reninpräparat aus Schweinenieren, von dem wir 0,3 mg als willkürlich gewählte Renineinheit definierten. Der Proteingehalt der injizierten Lösungen wurde nach der Biuretmethode bestimmt. Zur Bestimmung der Hypertensinaseaktivität versetzten wir eine Lösung von 10 µg synthetischen Ileu<sub>5</sub>-Hypertensin-II-amids<sup>7</sup> in 1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung mit steigenden Mengen der auch zur Renintestung verwandten Fraktionen zu einem Endvolumen von 2 ml, inkubierten 15 min bei 37°C, inaktivierten 5 min im kochenden Wasserbad und testeten das Inkubat am Rattenblutdruck. Dabei stellten wir diejenigen Mengen der einzelnen Fraktionen fest, die das vorgelegte Hypertensin so weit abbauten, dass 0,2 ml des Inkubates – die bei fehlender Zerstörung 1,0 µg Hypertensin enthalten müssten – pressorisch weniger wirksam waren als 0,1 µg Hypertensin-Standard. Wir berechneten dann, wieviel g Niere diesem inaktivierenden Volumen der einzelnen Fraktionen entsprachen. Der reziproke Wert dieses Gewichtes ergab relative Hypertensinase-Einheiten pro g Niere bzw. der 1 g entsprechenden Fraktionen, sowie unter Berücksichtigung des Proteingehaltes die Aktivität/mg Protein.

<sup>4</sup> W. C. SCHNEIDER, J. biol. Chem. 176, 259 (1948).

<sup>5</sup> R. MEIER, F. GROSS, J. TRIPOD und H. TURRIAN, Exper. 13, 361 (1957).

<sup>6</sup> O. SCHALES, J. Amer. chem. Soc. 64, 561 (1942).

<sup>7</sup> Für die Überlassung des Hypertensin-Präparates danken wir Herrn Priv.-Doz. Dr. F. GROSS.

Die Ergebnisse der einzelnen auswertbaren Versuche mit Nieren von Ratte und Schwein sind in der Tabelle zusammengestellt. Zusätzlich zu den Werten der Renin- und Hypertensinaseaktivität (Spalte 3-6) enthält Spalte 1 die Proteinkonzentration der getesteten Fraktionen, Spalte 2 den Proteingehalt der 1 g Frischniere entsprechenden Fraktionen, um eine Beurteilung der Gleichartigkeit unserer Präparationen zu ermöglichen.

a) *Verteilung der Reninaktivität.* Setzt man die im Homogenat enthaltene Aktivität gleich 100%, dann fanden wir in der Summe der Fraktionen im Durchschnitt 65% wieder. Dabei war die Reninaktivität zu gleichen Teilen auf die Mitochondrienfraktion und den partikelfreien Überstand verteilt; die Mikrosomen waren praktisch frei. Die Nieren vom Schwein enthielten insgesamt und in den einzelnen Fraktionen mehr Renin als die der Ratte. Dies ist zum Teil darauf zurückzuführen, dass bei den Rattenieren das gesamte Organ, bei den Schweinenieren nur die reninreicher Rindenanteile verarbeitet wurden. Die Aktivität pro mg Protein war in der Mitochondrienfraktion um das 2-3fache höher als im Zytoplasma, wobei die Streuung der Werte bei letzterem und bei den Homogenaten am kleinsten war, möglicherweise aus Gründen der Aufarbeitung. Die Form der Blutdrucksteigerung war bei der Injektion der Homogenate und der Fraktionen stets gleich. Es kam nie zu depressorischen Effekten, was wohl die Folge der sehr schonenden Gewebsaufbereitung sein dürfte.

b) *Verteilung der Hypertensinaseaktivität.* Die Hypertensinaseaktivität war in einem viel höheren Mass als die des Renins an die Granulafraktionen gebunden. Die Mitochondrien- und Mikrosomenfraktion, die sich in ihrem Gehalt etwa entsprachen, enthielten zusammen annähernd die 10fache Aktivität des partikelfreien Überstandes, die Aktivität pro mg Protein war sogar um das 50-80fache höher.

	Protein-Konzentration mg/ml	mg Protein pro g Frisch-Niere	Hypertensinase		Renin	
			Aktivität g Niere	Aktivität mg Protein	Aktivität g Niere	Aktivität mg Protein
<b>Mitochondrien</b>						
Ratte	1	0,58	2,90	500	173	20
	2	1,12	3,73	333	89	25
Schwein	1	1,49	7,45	1000	134	16,5
	2	1,08	3,09	143	46	22,3
	3	0,58	2,80	—	—	91
<b>Mikrosomen</b>						
Ratte	1	1,31	2,73	1050	382	—
	2	1,18	1,18	200	170	—
Schwein	1	3,55	3,38	286	85	—
	2	1,64	1,64	200	122	—
	3	1,41	1,41	—	—	4,5
<b>Zytoplasma</b>						
Ratte	1	3,99	13,7	34	2,5	34
	2	4,53	13,6	25	1,8	20,8
Schwein	1	4,76	14,0	29,5	2,1	50,0
	2	3,82	19,2	50	2,6	36,6
	3	4,2	—	—	—	35,6
<b>Homogenat</b>						
Ratte	1	7,24	42,5	—	—	117
	2	9,32	—	—	—	59,3
Schwein	1	14,9	79,0	—	—	106
	2	16,4	86,8	—	—	87
<b>Leber (Ratte)</b>						
Mitochondrien		6,35	21,2	60	3,2	—
Mikrosomen		6,52	6,52	20	2,1	—
Zytoplasma		15,4	42,8	27,5	0,7	—

Unsere Befunde zeigen, dass die Reninaktivität in der Niere von Ratte und Schwein zum Teil in den Mitochondrien oder in korpuskulären Elementen, die in ihrem Sedimentationsverhalten den Mitochondrien gleichen, lokalisiert ist. Eine blosse Adsorption an diese Partikel ist unwahrscheinlich, da beim wiederholten Waschen deren Aktivität nicht abnimmt. Wie weit der Reningehalt des partikelfreien Überstandes auf eine Schädigung der reninhaltigen Granula während der Aufarbeitung zurückzuführen ist, ist schwer zu entscheiden. Die sehr distinkte Verteilung der Hypertensinase-Aktivität spricht gegen eine gröbere Schädigung der korpuskulären Elemente während der Präparation. Die Frage, ob die bei der Gewebsfraktionierung aufgefundenen reninhaltigen Partikel identisch sind mit den Granula der von mehreren Autoren als Bildungsstätte des Renin angesehenen epitheloiden Zellen, kann vorerst nicht beantwortet werden.

Die Hypertensinase ist bisher nur ungenügend charakterisiert. Es erscheint fraglich, ob es *ein* Ferment gibt, das spezifisch auf die Inaktivierung des Hypertensins eingestellt ist, oder ob dieses auch durch unspezifische Pep-

tidasen abgebaut werden kann. Deshalb kann es sich bei den in den Mitochondrien bzw. Mikrosomen lokalisierten Aktivitäten durchaus um verschiedene Enzyme handeln. Auffallend ist die hohe spezifische Aktivität der Nierenpartikel im Vergleich zu denen der Leber (siehe Tabelle), die vielleicht doch auf eine gewisse Vorrangstellung der Niere in der Inaktivierung des Hypertensins hinweist.

H. DENGLER\* und G. REICHEL

Medizinische Universitätsklinik Heidelberg, 23. Juni 1959.

#### Summary

Experiments on kidney homogenates from rat and pig showed that 50% of the renin-activity was localized in the mitochondrial fraction. The mitochondria and microsomes together contained 10 times as much hypertensinase-activity as the supernatant fraction.

\* Zurzeit Laboratory of Chemical Pharmacology, National Heart Institute, Bethesda/Md.

## Informations - Informationen - Informazioni - Notes

### COGITATIONES

#### Modelle für Reaktionen zwischen organischen und mineralischen Substanzen im Boden

Von R. HESS, R. BACH und H. DEUEL\*

Die lebenden Organismen und die Humusstoffe beeinflussen die Bodenbildung wesentlich<sup>1</sup>. Sie beschleunigen die Verwitterung<sup>1,2</sup>, sie sind an der Perkolationsverlagerung beteiligt<sup>1,3</sup>, und sie tragen zur Krümelung des Bodens bei<sup>1,4</sup>. Bis heute weiss man aber nur wenig darüber, welche Prozesse sich im einzelnen abspielen und welche organischen Verbindungen daran beteiligt sind. Modellsubstanzen und Modellversuche spielen deshalb in der Erforschung der chemischen Vorgänge im Boden eine grosse Rolle.

An den Reaktionen zwischen organischen und mineralischen Substanzen im Boden sollen auch Komplexbildner

beteiligt sein, denn die organische Substanz des Bodens vermag metallische Kationen offensichtlich nicht nur rein ionisch, sondern auch komplex zu binden<sup>5-7</sup>.

So sollen Komplexe an der Verwitterung beteiligt sein<sup>1,8</sup>. Silikate werden in der Tat durch 8-Hydroxychinolin, Äthyldiamintetraazetat usw. in wässriger Lösung angegriffen («chelative dissolution»)<sup>9</sup>. Dabei werden metallische Kationen, wie  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  und  $Al^{3+}$ , aus dem Gitterverband gerissen.

Wasserlösliche Komplexe sollen an der Perkolationsverlagerung im Boden beteiligt sein<sup>1,3,6,10</sup>. Tatsächlich konnte mit Äthyldiamintetraazetat und anderen Komplexbildnern Podsolierung, das heisst die Verlagerung von Eisen und Aluminium im Bodenprofil, erzeugt werden<sup>10</sup>.

Wasserunlösliche Komplexe sollen zur Immobilisierung und Stabilisierung sowohl von organischen als auch von mineralischen Bestandteilen des Bodens beitragen<sup>6,7,11</sup>. Die Bildung solcher Komplexe könnte für die Krümelung des Bodens bedeutsam sein.

Bisher ist bei Böden nur die Komplexbildung von organischen Verbindungen mit den metallischen Kationen untersucht worden. Es stellt sich nun die Frage, ob auch mit dem Si der Silikate Komplexe gebildet und dabei Si-O-Si- und Si-O-Al-Bindungen gespalten werden.

Si-O-Si-Bindungen von Siloxanen werden in nichtwässrigem Medium zum Beispiel durch Alkoholat, Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Zinkchlorid, Zinkdialkyl, Grignardsche Verbindungen und Lithiumalkyl gespalten; dabei können Si-C- und Si-O-C-Bindungen ge-

\* Agrikulturchemisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich, 15. September 1959.

<sup>1</sup> J. S. JOFFE, *Pedology*, 2<sup>nd</sup> Ed. (Pedology Publications, New Brunswick 1949). — V. V. PONOMARYOVA, Rapp. 6<sup>th</sup> Congr. Intern. Sci. Sol., 5<sup>th</sup> Comm., 232, Acad. Sci. URSS, Moscou 1956. — M. M. KONONOWA, *Die Humusstoffe des Bodens* (VEB Deutsch. Verl. Wiss., Berlin 1958), S. 181.

<sup>2</sup> G. V. JACKS, *Soils and Fertilizers* 10, 165 (1953). — F. OBERLIES und G. POHLMANN, *Naturwiss.* 46, 487, 513 (1958). — A. E. ANDERSON, E. C. JONAS und H. T. ODUM, *Science* 127, 190 (1958).

<sup>3</sup> P. C. STOBEE und J. R. WRIGHT, *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 23, 161 (1959).

<sup>4</sup> J. P. MARTIN, W. P. MARTIN, J. B. PAGE, W. A. RANEY und J. D. DE MENT, *Adv. Agron.* 7, 1 (1955).

<sup>5</sup> J. M. BREMNER, P. J. G. MANN, S. G. HEINTZE und H. LEES, *Nature* 159, 790 (1946).

<sup>6</sup> R. S. BECKWITH, *Austral. J. Agric. Sci.* 6, 685 (1955). — F. E. BROADBENT und J. B. OTT, *Soil Sci.* 83, 419 (1957). — F. E. BROADBENT, *Soil Sci.* 84, 127 (1957). — F. L. HIMES und S. A. BARBER, *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 21, 368 (1957).

<sup>7</sup> F. SCHEFFER, B. ULRICH und P. HESTERMANN, *Z. Pflanzenern., Düng., Bodenk.* 76, 146 (1957); 78, 168 (1957).

<sup>8</sup> A. SCHATZ, N. D. CHERONIS, V. SCHATZ und G. S. TRELAWNY, *Proc. Penn. Acad. Sci.* 28, 44 (1954).

<sup>9</sup> P. F. LOW und C. A. BLACK, *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 12, 180 (1947). — E. D. GOLDBERG und G. O. S. ARRHENIUS, *Geochim. cosmochim. Acta* 13, 153 (1958). — D. A. SUTTON, M. D. MIDDLETON und R. A. F. BODY, *Nature* 183, 99 (1959).

<sup>10</sup> J. R. WRIGHT und R. LEVICK, *Trans. 6<sup>th</sup> Intern. Congr. Soil Sci. Paris*, E, 257 (1956).

<sup>11</sup> H. F. PERKINS und E. R. PURVIS, *Soil Sci.* 78, 325 (1954).