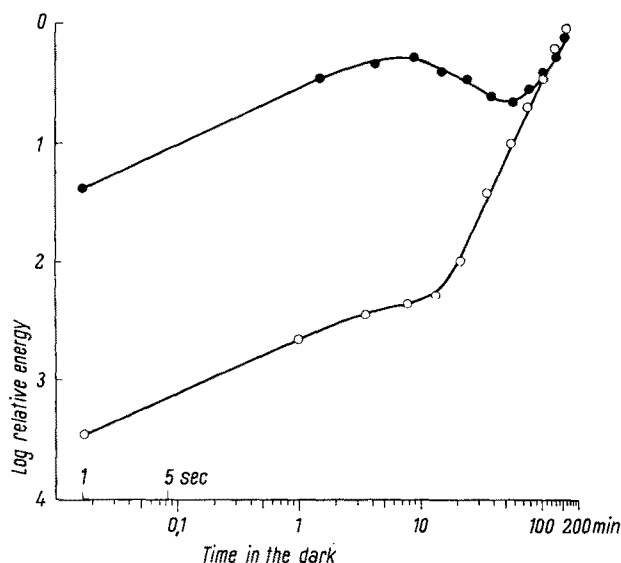


Similar results were obtained in 8 experiments, in all of which the threshold for 652 m μ definitely rose at the time when the break in the curve for the blue light occurred. This rise in threshold during the 'cone phase' of dark adaptation was most clearly seen for 652 m μ ; in response to 605 m μ the threshold remained fairly constant from the 10th to the 30th min, then the 'rod phase' set in. For test light 693 m μ , the available energy did not suffice for quantitative examination.



Curves showing the change of threshold in the course of dark adaptation in the frog. Temperature maintained at 17°C. Ordinate: log of relative light energy necessary for a constant (20 μ V) electroretinographic response. Test light: 435 m μ (open circles), 652 m μ (filled circles). Zero ordinate: energy at threshold as measured in the dark adapted eye. Abscissa: log time in the dark. The beams of light used for testing and for light adaptation both illuminated the same area (1.5 cm in diameter) of white paper placed 8 mm in front of the eye. Light adaptation: white light, duration 15 min, retinal illumination about 5.2×10^6 Trolands. Note the 24-fold decrease of threshold in response to 435 m μ and the 2.4-fold increase of threshold in response to 652 m μ from the 10th to the 60th min of dark adaptation

According to the Figure, the rise of threshold in response to red light coincides with the beginning of the 'rod phase', as shown by the curve for the blue test light. It is tempting, therefore, to correlate the depressed cone sensitivity indicated by the response curve to red light with the incipient activity in rods, evidenced by the rising sensitivity to blue light. Since the break separating cone and rod phases occurs earlier for blue light of 462 m μ than for stimuli of any other wave length, including violet light (unpublished observations of the authors), it may be that the green rods, which absorb heavily in the blue (DENTON and WYLLIE⁸), are the ones responsible for the depression of cone sensitivity during dark adaptation.

The authors are indebted to the Deutsche Forschungsgemeinschaft for support of this work.

E. DODT und K. H. JESSEN

William G. Kerckhoff-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Bad Nauheim, 5. Februar 1960.

Zusammenfassung

Die Änderung der Dunkelempfindlichkeit gegenüber monochromatischem Licht wird am Froschauge nach Helladaptation an 5×10^6 Trolands elektoretinographisch bestimmt. Von der 10. Minute bis zu einer Stunde nimmt die Empfindlichkeit für Rot (652 m μ) um das 2,4fache ab, während jene für Blau (435 m μ) in der gleichen Zeit um das 25fache zunimmt. Da der Abfall der Rotempfindlichkeit zeitlich mit dem Beginn der zweiten Phase der Dunkeladaptation übereinstimmt, wird auf eine Depression der Zapfenerregung durch die Aktivität der Stäbchen geschlossen.

⁸ E. J. DENTON and J. H. WYLLIE, J. Physiol. 127, 81 (1955).

Elektrophysiologische Analyse der Wirkung von Adrenochrom auf das Kaninchengehirn

Adrenochrom wurde 1937 von GREEN und RICHTER¹ in einer Konzentration von 10^{-7} M im quergestreiften Muskel nachgewiesen. Das Ferment Phenolase katalysiert seine Bildung aus Adrenalin, und verschiedene experimentelle Beobachtungen sprechen dafür, dass Adrenochrom oder ähnliche Oxydationsprodukte des Adrenalins im Organismus gebildet werden. Adrenochrom verändert das EEG des gesunden Menschen und führt zu psychischen Zustandsveränderungen, wie sie auch bei LSD und Mescalin anzutreffen sind (HOFFER, OSMOND und SMYTHIERS²).

Wir haben die Wirkung von Adrenochrom auf das Kaninchengehirn elektrophysiologisch analysiert, um sie mit den Effekten anderer halluzinogener Substanzen zu vergleichen.

Methode: An 12 nicht narkotisierten Kaninchen wurde mit der stereotaktischen Methode von MONNIER und GANGLOFF³ die Wirkung von Adrenochrom⁴ auf die folgenden Parameter während 2 h untersucht: 1. Verhalten der Tiere; 2. Atmungs- und Pulsfrequenz; 3. Spontane elektrische Aktivität von Neocortex, Paläocortex und Meso-diencephalon des intakten Gehirns und des «cerveau isolé»; 4. Amplitude und Schwelle der kortikalen Antworten auf elektrische Reizung des Thalamus medialis (intralaminäres System), des Thalamus ventrolateralis (spezifisches thalamo-corticales Projektionssystem), des dorsalen Hippocampus (Paläocortex) und der Substantia reticularis mesencephali mit niedriger Impulsfrequenz (3–4 Hz); 5. Arousal reaction auf Reizung der Substantia reticularis mesencephali mit hoher Impulsfrequenz (150 Hz). Adrenochrom wurde in Dosen von 3,5 und 6 mg/kg i. v. injiziert.

Ergebnisse: Das Verhalten der Versuchstiere wird durch Adrenochrom wenig beeinflusst. Die Kaninchen reagieren aber auf sensorische Reize wie Licht und Lärm stärker.

¹ D. E. GREEN und D. RICHTER, Biochem. J. 31, 596 (1937).

² A. HOFFER, H. OSMOND und J. SMYTHIERS, J. ment. Sci. 100, 29 (1954).

³ M. MONNIER und H. GANGLOFF, Atlas for Stereotaxic Brain Research on the Conscious Rabbit (Elsevier Publ. Comp., Amsterdam 1960).

⁴ Adrenochrom wurde uns von der Direktion der Firmen Labaz, Bruxelles, und Geigy, Basel, in verdankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Herrn S. GRABER danken wir auch bestens für seine technische Mitarbeit.

Veränderungen der Spontanmotilität des frei beweglichen Tieres und des neurovegetativen Verhaltens sind kaum zu beobachten. Höchstens tritt regelmässig eine leichte Abnahme der Herz- und Pulsfrequenz ein; doch ist diese Wirkung flüchtig.

Gleich nach der Injektion des Pharmakons zeigen sich Veränderungen im EEG (Abb. 1). Die Amplitude der spontanen Rhythmen des Neocortex nimmt in allen Ableitungen ab, und die langsamen Aktivitäten des Typus «high voltage slow wave» verschwinden. Gleichzeitig

weist der Hippocampus und der Thalamus eine stärkere Synchronisation auf. Demnach ist das EEG im Sinne eines «arousal pattern» verändert, ohne dass aber die Spindeltätigkeit dabei vollkommen verschwindet.

Nach interkollikulärer Dezerebration bewirkt die Injektion von 6 mg/kg Adrenochrom vorübergehend eine neokortikale Desynchronisation mit leichter Synchronisation des Hippocampus. Die Spindelaktivität wird jedoch nicht vollkommen unterdrückt (Abb. 2). Eine partielle Wirkung auf das «cerveau isolé» ist also noch vorhanden.

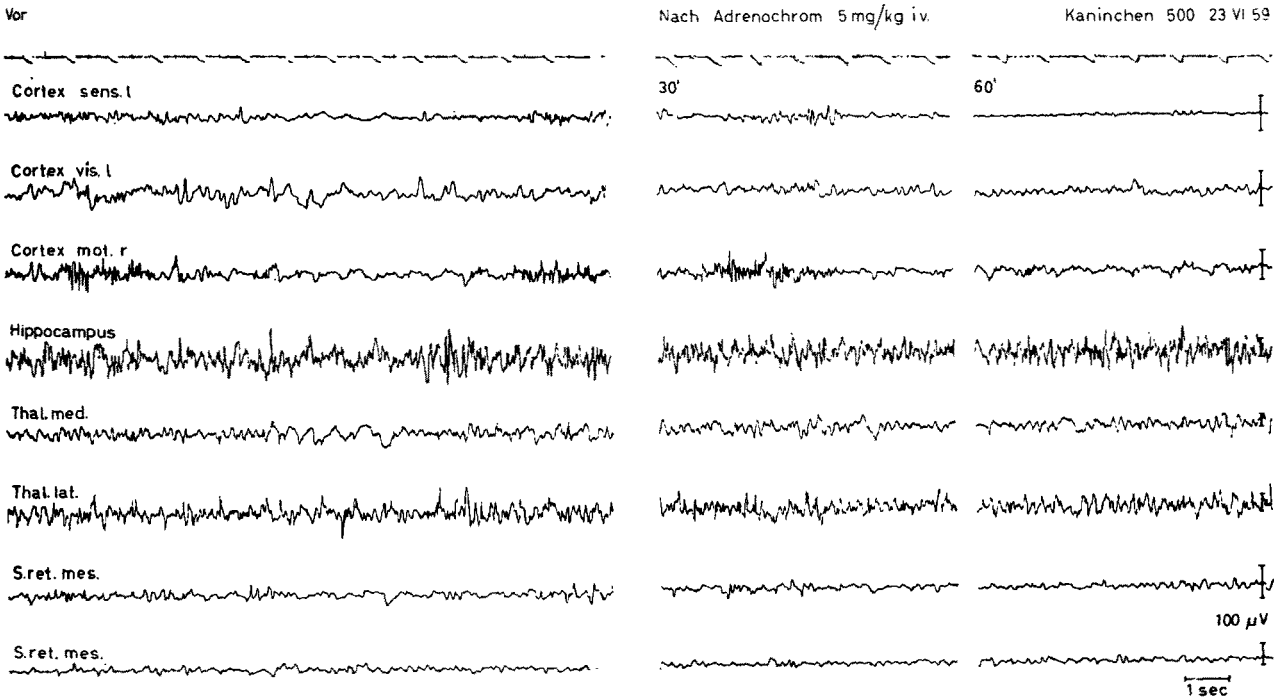


Abb. 1: Wirkung von Adrenochrom (5 mg/kg i. v.) auf die spontane elektrische Aktivität von Cortex und Subcortex. Nach 30 min, besonders aber nach 1 h, zeigt sich ein «arousal pattern» mit Desynchronisation im Neocortex und angedeuteter Synchronisation im Hippocampus und im Mesodiencephalon

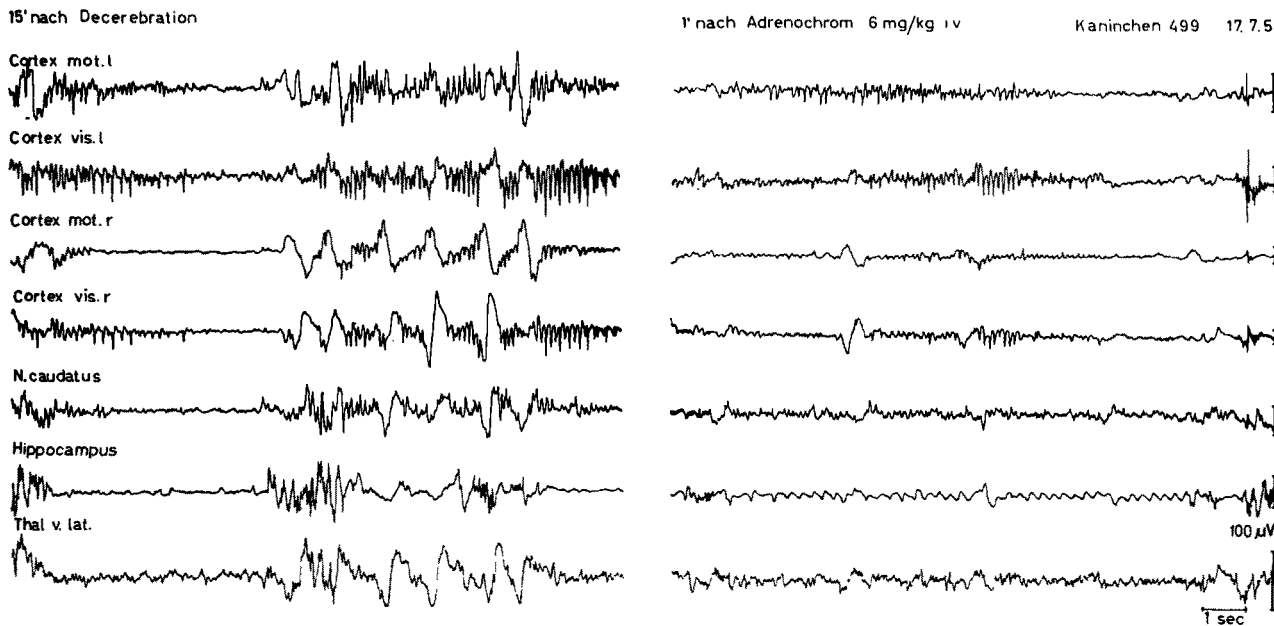


Abb. 2: Adrenochrom (6 mg/kg i. v.) bewirkt am «cerveau isolé» vorübergehend einen leichten Weckeffekt mit Abnahme der langsamen hohen Wellen und der Spindelaktivität. Gleichzeitig zeigt sich im Hippocampus eine Tendenz zur Synchronisation

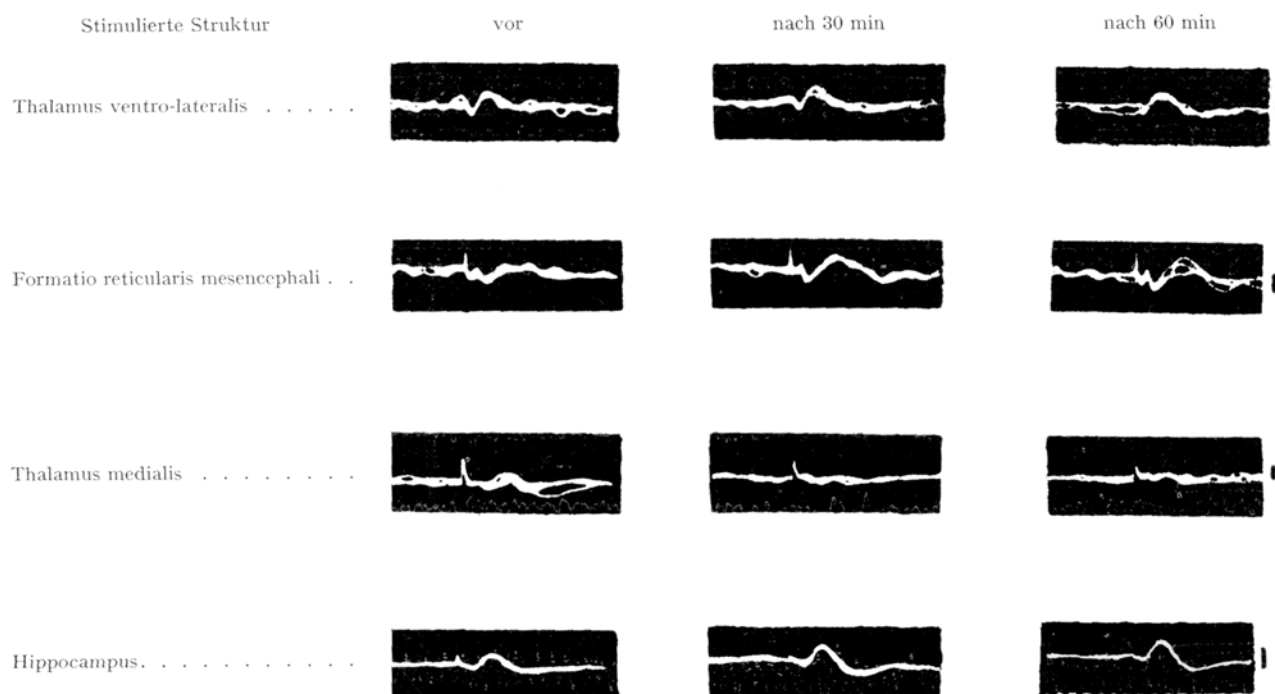


Abb. 3: Veränderung der Antworten im motorischen Cortex auf Reizung des Thalamus ventro-lateralis, der Formatio reticularis mesencephali, des Thalamus medialis und des Hippocampus unter Adrenochrome (5 mg/kg i. v.). Superposition von 3 Einzelimpulsen, Kalibration 50 μ V, Zeit 10 ms

Adrenochrome vermindert die Erregbarkeit des ventro-lateralen Thalamus (Beispiel eines spezifischen afferenten Systems), indem die Amplituden der Antworten im somatosensiblen Cortex auf niederfrequente Reizung des ipsilateralen Nucleus ventrolateralis abnehmen.

Die elektrographische Weckreaktion auf sensorische Reize ist unter Adrenochrome gesteigert. Dem entspricht die ebenfalls gesteigerte «arousal reaction» bei elektrischer Stimulation der mesenzephalen Formatio reticularis mittels hoher Impulsfrequenz (150/s). Die Erregbarkeitszunahme der Formatio reticularis mesencephali zeigt sich auch in der leichten Amplitudenzunahme der retikulären Spitzenantworten im Cortex (Abb. 3).

Bei Reizung des intralaminären Systems des medialen Thalamus mit Einzelimpulsen treten im Cortex zwei Antworten unterschiedlicher Latenz auf (TISSOT und MONNIER⁵). Die erste Antwort kurzer Latenz, welche dem polysynaptischen, thalamischen Teil des aufsteigenden retikulären Systems angehört, weist unter Adrenochrome eine leichte Vergrößerung ihrer Amplitude auf (Abb. 3). Dagegen wird die zweite Antwort längerer Latenz, welche der von DEMPSEY und MORISON⁶ beschriebenen rekrutierenden Antwort entspricht und durch das rekrutierende diffuse Projektionssystem des Thalamus medialis vermittelt wird, eindeutig kleiner.

Der Hippocampus und seine Verbindungen mit dem Neocortex erfahren durch Adrenochrome eine Erregbarkeitssteigerung, indem die Amplituden der Antworten im Cortex und im Mesodiencephalon auf niederfrequente Reizung des dorsalen Hippocampus zunehmen.

Diskussion: Die halluzinogenen Reizstoffe (LSD, Mescaline und Psilocybin) verändern die spontane elektrische Hirnaktivität in ähnlicher Weise wie Adrenochrome (MONNIER⁷). Unter Wirkung dieser Substanzen kommt es am intakten Gehirn des nicht narkotisierten Tieres zu einem mehr oder weniger ausgeprägten «arousal»-Bild im EEG.

Im Gegensatz zu LSD aber, das nicht nur zu einer Desynchronisation des Cortex, sondern auch des Subcortex führt, bewirken die drei anderen erwähnten Halluzinogene nur eine neokortikale Desynchronisation; der Hippocampus und der Subcortex dagegen weisen eine verstärkte Synchronisation auf. Dieser Effekt ist bei Psilocybin besonders deutlich. Auffallend ist der Unterschied dieser vier Pharmaka in ihrem topischen Verhalten. Am «*encéphale isolé*» wie am «*cerveau isolé*» lässt sich die Weckwirkung von LSD nicht mehr beobachten. Adrenochrome zeigt nur eine vorübergehende geringe Wirkung am «*cerveau isolé*», während der Effekt von Mescaline und vor allem von Psilocybin auch nach interkollikulärer Dezerebration erhalten bleibt.

Die Aktivität des Hippocampus wird durch die erwähnten Halluzinogene unterschiedlich beeinflusst. Wie Mescaline fördert Adrenochrome die Erregbarkeit dieser paläokortikalen Struktur, löst jedoch keine spontane Entladung aus wie LSD. Psilocybin dagegen vermindert die Aktivität des Paläocortex.

Wenn wir diese kurze vergleichende Zusammenstellung überblicken, so ist ersichtlich, dass LSD, Mescaline, Psilocybin und Adrenochrome trotz gewisser Unterschiede auf manche Strukturen des ZNS qualitativ gleiche Wirkungen auf das spontane EEG entfalten. Da sich aber auch bei anderen zentral erregenden Stoffen ähnliche Effekte nachweisen lassen, bleibt die Frage der halluzinogenen Wirkungsmechanismen immer noch unbeantwortet.

P. KRUPP und M. MONNIER

Physiologisches Institut der Universität Basel, 10. Februar 1960.

⁵ R. TISSOT und M. MONNIER, EEG Clin. Neurophys. 11, 675 (1959).

⁶ E. W. DEMPSEY und R. S. MORISON, Amer. J. Phys. 138, 238 (1942).

⁷ M. MONNIER, XXI Int. Congress physiol. Sci., Buenos Aires, Symposia and Special Lectures (1959).

Summary

The action of Adrenochrom on the brain was investigated electrophysiologically on the conscious rabbit. The moderate activation of the somatic behaviour and of the electrical brain-activity can be attributed to an increased activity of the ascending reticular system with simultaneous depression of the medio-thalamic intralaminar recruiting system, as well as to an increased activity of the hippocampus. Specific afferent (somesthetic) systems are only slightly moderated.

Clinical and Biochemical Analysis of Gluten Toxicity I

DICKE *et al.*^{1,2} demonstrated that the gliadin component of wheat gluten contained the factor that is toxic in coeliac disease. Subsequently, several research workers^{3,4} observed that the omission of gluten from the diet of adult patients with idiopathic steatorrhoea caused the fat absorption coefficient to rise.

Since 1956, we have been engaged in experiments to find out whether a certain amino acid structure of the gliadin is responsible for the toxicity. As a first step, gluten was treated consecutively with gastric juice and duodenal fluid, which were later supplanted by crystalline pepsin and trypsin. It was found that this treatment did not affect the toxicity. Thus, the observations of FRAZER *et al.*⁵ on children with coeliac disease were confirmed.

The degradation of gliadin (conc. 100 g/2 l dist. water) is carried out at 37°C, first at pH 1–2 for two days with twice 0.5 g pepsin, after which the undissolved part is centrifuged off and the process is continued for two more days at pH 7–8, with the addition of twice 0.5 g trypsin.

The soluble fraction obtained after the enzyme treatment described above was split into an amino acid fraction, an acetone-precipitated fraction, and a residual fraction obtained by evaporation to dryness at 40°C under reduced pressure. Tests on two patients with thrush showed that only the acetone-precipitated fraction was obviously toxic. In view of the special amino acid composition of gliadin, we first isolated the acid peptide fraction from the toxic acetone precipitate by adsorption on alumina. The acid peptide mixture thus obtained was dialysed through a colloid membrane against distilled water and lyophilized.

Administration of the acid peptide fraction in doses corresponding to 24 g wheat gluten per day was found to have a strongly positive effect in two patients with thrush.

With one of the patients, the percentage of non-absorbed fat in the stool, after administration of 1.0 g of the acid peptide fraction, rose from 15 to 81.1% in one day. In the case of the second patient, the percentage of non-absorbed fat in the stool rose, after 0.5 g of the acid peptide fraction had been given for a period of 7 days, and subsequently 1.0 g for 3 days, from 12 to 86%.

Before proceeding further, we wanted to make sure that the mixture of acid peptides derived from the acetone-precipitated fraction of pepsin- and trypsin-treated gliadin consisted of straight chains. Since the amino acid cystine occurs in gliadin and—as demonstrated by two-dimensional paper-chromatography—also in the toxic fractions isolated by us, it is possible that by means of these cystine molecules, sulphur bridges are formed in one or more peptides, which cause ramifications in the molecule, making determination of the structure difficult. Similar structures have been encountered several times, for instance, as the investigations of SANGER have shown, in the hormone insulin.

Following SANGER⁶, we treated the acid peptide mixture with performic acid, whereby one molecule cystine, even when it is part of a peptide chain, is converted into two cysteic acid molecules. Although a large portion of the cystine could be converted into cysteic acid in this way, we failed to transform all the cystine present, even though several modifications of the method were applied.

Treatment of the second of the patients mentioned above, with the acid peptide fraction oxidized with performic acid, showed that this fraction was still highly toxic. After administration of 600 mg of oxidized acid peptides per day for 6 days, the percentage of non-absorbed fat in the stool rose from 15 to 51%.

Hence, it appears that, in spite of the performic acid treatment, the toxic factor is still present.

Since, according to these findings, not all the cystine present in the peptides was oxidized to cysteic acid by our treatment with performic acid, our results cannot yet be attributed to the occurrence of unbranched peptide chains.

J. H. VAN ROON, A. J. CH. HAEX,
W. A. SEEDER, and J. DE JONG

Department for Gastroenterology, State University Hospital, Leyden (Netherlands) October 21, 1959.

Zusammenfassung

Eine saure Peptid-Fraktion wurde aus dem Weizenprotein Gliadin durch Behandlung mit Pepsin und Trypsin erhalten. Das Verdauungsprodukt wurde durch Präzipitation mit Aceton und Adsorptionschromatographie an saurem Al_2O_3 weiter aufgearbeitet.

Die erhaltene saure Peptid-Fraktion wurde mit Perameisensäure nach dem von SANGER entdeckten Verfahren behandelt. Es wurde festgestellt, dass der in idiopathischer Steatorrhoe toxische Faktor nach dieser Behandlung noch immer vorlag.

¹ W. K. DICKE, H. A. WEIJERS, and J. H. VAN DE KAMER, *Acta paediat.* 42, 34 (1953).

² J. H. VAN DE KAMER, H. A. WEIJERS, and W. K. DICKE, *Acta paediat.* 42, 223 (1953).

³ A. J. CH. HAEX and J. B. LIPS, *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 99, 102 (1955).

⁴ J. M. FRENCH and C. F. HAWKINS, *Med. Clin. North Amer.* 1957, 1585.

⁵ B. SHAW, A. C. FRAZER, C. A. C. ROSS, and H. G. SAMMONS, 3rd Int. Biochem. Congr., Brussels (1955), 119.

⁶ F. SANGER, *Biochem. J.* 44, 126 (1949).

Urinary Excretion of 5-Hydroxyindoleacetic Acid and Histamine in the Pregnant Rat

It was recently observed that in the last third of pregnancy the rat excretes large amounts of histamine in the urine¹. This increased output of histamine in the mother's urine is probably caused by an increased production of histamine by the fetuses². Various observations indicate that there is a connexion between the content of 5-hydroxy-tryptamine (serotonin) and histamine in some tissues of the rat, possibly because the two amines are in

¹ G. KAHLSON, ELSA ROSENGREN, and H. WESTLING, *J. Physiol.* 143, 91 (1958).

² G. KAHLSON, ELSA ROSENGREN, H. WESTLING, and T. WHITE, *J. Physiol.* 144, 337 (1958).