

ausserdem sind Kontrollversuche mit Sesamöl, dem Lösungsmittel des Cholesten-dions durchgeführt worden. Bei den Kontrolltieren sind keine Tumoren aufgetreten. Sowohl in der Versuchsreihe mit weissen als auch mit schwarzen Mäusen sind Geschwülste entstanden, die hinsichtlich ihrer histologischen Beschaffenheit, ihres Malignitätsgrades und in der Neigung zur Metastasierung ein ungewöhnliches Verhalten gezeigt haben¹⁰. Die beobachteten Geschwülste weisen abweichend von sogenannten Spontantumoren der verwendeten Mäusestämme Besonderheiten auf. Am Injektionsort selbst hat sich nur bei einer Maus des Stammes C57-black ein polymorphzelliges Sarkom entwickelt. Die Ergebnisse von FIESER, BISCHOFF *et al.* sind bei den in eigenen Versuchen verwendeten Mäusestämmen also nicht bestätigt worden. Bei 60 weissen Mäusen sind in etwa 18% metastasierende Brustdrüsenkrebs entstanden. Die Frequenz ist im Vergleich mit Brustdrüsenkarzinomen, die spontan bei Weibchen dieses Stammes in der gleichen Altersgruppe in etwa 2% und im Vergleich mit Brustdrüsenadenomen, die in etwa 10% auftreten, wesentlich erhöht. Als ungewöhnliche, bisher bei Mäusen dieses Inzuchtstammes niemals beobachtete Tumoren sind folgende aufgetreten: 1 metastasierendes Milzsarkom, 1 metastasierendes Melanosarkom und 1 metastasierender, undifferenzierter, vorwiegend in der Bauchhöhle ausgebreiteter Tumor, dessen Ausgangsort nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte. Es handelt sich wahrscheinlich um ein hypernephroides Carcinom. Bei insgesamt 60 schwarzen Mäusen, bei denen bisher in unserer Zucht weder Magen- noch Lungencarcinome beobachtet worden sind, haben sich folgende Tumoren entwickelt: 1 metastasierendes Magencarcinom, 2 metastasierende Lungencarcinome allein nach Verabreichung von Cholesten-dion, 10 weitere Lungencarcinome nach kombinierter Verabreichung von Cholesten-dion und Cortisonazetat, 3 metastasierende Retikulosarkome, 2 Leukämien und 1 Osteoidsarkom. Die Lungencarcinome weichen in ihrer histologischen Beschaffenheit vom Typ der Adenocarcinome der Lunge ab, wie sie bei Mäusen gelegentlich vorkommen. Einzelne Geschwülste sind frühestens nach 10 Monaten, die Mehrzahl im Durchschnitt nach 20 Monaten diagnostiziert worden.

Diese Beobachtungen führen zur Forderung, in Zukunft bei der Prüfung suspekter schwacher Cancerogene bei den Versuchstieren nicht allein die lokale Reaktion zu untersuchen, sondern eine allgemeine pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung hinsichtlich tumoröser Veränderungen verschiedener Organe durchzuführen. Bei der Untersuchung schwacher Cancerogene wird es nur mit grossem Aufwand an Versuchstieren möglich sein, statistisch gesicherte Ergebnisse zu erlangen, da offenbar, wie auch HIEGER vermutet hat, individuelle Besonderheiten der Versuchstiere eine Rolle spielen. Der Grad der Cancerogenität einer schwachen cancerogenen Verbindung kann nicht allein nach der Häufigkeit am Injektionsort entstehender Geschwülste beurteilt werden. Es erscheint vielmehr wesentlich, die Qualität der Tumoren zu beachten und die Eigenart dieser Tumoren bezüglich der feingeweblichen Beschaffenheit, des Malignitätsgrades und der Neigung zur Metastasierung mit Befunden bei Kontrolltieren und mit sogenannten Spontantumoren bei unbehandelten, unter den gleichen äusseren Bedingungen lebenden Tieren derselben Stämme zu vergleichen.

Für die Zukunft dürfte gerade die Untersuchung jener schwach cancerogener Faktoren an Bedeutung gewinnen, die mit Produkten des oxydativen Stoffwechsels der Steroide in Beziehung stehen und beim Menschen für die Auslösung von Tumoren mit langer Latenzzeit und geringer Frequenz in Betracht zu ziehen sind.

ILSE KÜHL und K. SCHUBERT

*Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie
Jena, Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
17. August 1960.*

Résumé

Au cours d'expériences faites avec des substances dérivées du cholestérol, les auteurs ont étudié l'effet du Δ^4 -cholestène-3,6-dione sur des souris blanches et noires. Dans divers organes, des tumeurs apparurent qui ne se montrèrent pas chez les animaux de contrôle. Au point de vue de leur structure histologique, de leur degré de malignité et de leur tendance métastatique, les tumeurs observées étaient extraordinaires.

¹⁰ I. KÜHL, Verh. dtsch. Ges. Path. 1960, im Druck.

Presynaptic Effect of D-Tubocurarine

In addition to the well-known postsynaptic effect of D-tubocurarine on the receptor substance, a presynaptic one is supposed to be demonstrated by comparison of end-plate potentials (e. p. p.) produced by single stimulation and tetanic stimulation at different stages of curarization. Rat phrenic nerve-diaphragm preparations were used, and the potentials were recorded by two extracellular electrodes, one in the central part of the end-plate zone and the other a few mm away on the same fibres. The results are presented in two Figures.

Figure 1 demonstrates that the e. p. p. is maintained on an approximately steady level even during long tetanic stimulation at an early stage of curarization. With a higher concentration, or after a longer period of action of tubocurarine, the potentials under tetanic stimulation are reduced more or less during the tetanic stimulation and represent transitory stages to the other typical effect illustrated in Figure 2.

The effect demonstrated in this Figure is the strong Wedensky inhibition. This inhibition is developed to its strongest extent during the recovery after a protracted curarization. The Figure demonstrate the very rapid decline of a rather big e. p. p. to about zero in less than 1/3 sec.

The two Figures demonstrate together the marked change of effect which takes place during the development of curarization.

The Wedensky inhibition of tetanic contractions, which reduces the usual approximately rectangular tetanic contraction to twitch-contractions of very short duration, has always been considered a typical effect of tubocurarine and similar substances.

Some years ago HUTTER¹ very clearly demonstrated that the process behind the Wedensky inhibition was of presynaptic origin. His work demonstrated beyond doubt that the acetylcholine sensitivity examined during complete inhibition of transmission of tetanic impulses (during a Wedensky inhibition) was exactly the same as the sensitivity before the start of tetanization.

One of us (N.) has previously demonstrated that Wedensky inhibition is not an essential feature of the tubocurarine effect^{2,3}. The first tetanic contractions (in

¹ O. F. HUTTER, J. Physiol. 118, 216 (1952).

² NAESS, Acta pharmacol. toxicol. 8, 400 (1952).

³ K. NAESS, Acta pharmacol. toxicol. 9, 196 (1953).

rabbit), recorded after an appropriate intravenous dose of tubocurarine, were thus approximately rectangular and the level maintained even if the amplitude was strongly reduced. In 15 min the Wedensky inhibition developed to its full extent during constant injection of tubocurarine.

Now the same phenomenon has been investigated by means of an electrophysiological technique, making recording of details of the tubocurarine effect possible even after 'complete curarization', when the contraction has

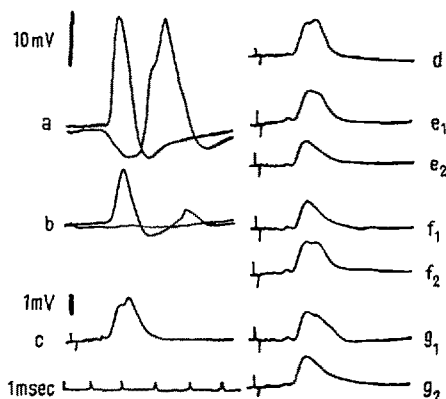


Fig. 1. Action potentials from rat diaphragm preparation after indirect, supramaximal stimulation of prenic nerve.

a) Single stimulation before curarization. First potential from end-plate zone, second potential from the muscle fibre a few mm away from this zone. b) 8 min after addition of 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ D-tubocurarine chloride to the bath. c) Potential from end-plate zone after single stimulation 14 min after curarization. Note increase in amplification for this and the following recordings. Muscle fiber action potential has now disappeared, and the beam for recording of this potential has been switched off. d–g) Some of the action potentials recorded with the same electrode as in c during a tetanic stimulation (50/sec) immediately following c.

d = First potential, e_1 and e_2 = after 1 sec, f_1 and f_2 = after 8 sec, g_1 and g_2 = after 16 sec.

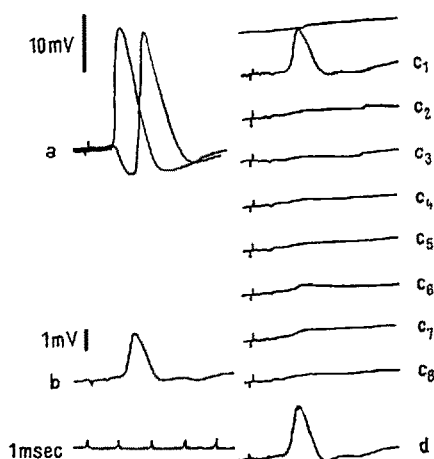


Fig. 2. Similar potentials as in Fig. 1

a) As in Fig. 1a. Between a and b addition of 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ D-tubocurarine chloride. Disappearance of muscle fiber action potential after 14.5 min and complete disappearance of end-plate potential after 18.5 min. Washing out of tubocurarine 33.5 min after curarization. b, c, and d recorded 15 min later during recovery of the preparation from the complete block, just before the first muscle fibre potentials reappeared. b) Potential from the end-plate zone after single stimulation. c_1 – c_8) Some of the end-plate potentials recorded with the same electrode as in b during tetanic stimulation (50/sec) immediately following b. c_1 first potentials and the other with intervals of $1/3$ sec. d) As in b, 3 sec after determination of tetanic stimulation. Note increase in amplification between a and b.

disappeared. The approximately constant level of the e.p.p. produced by tetanic stimulation in the first phase of a curarization, is, in our opinion, a proof of a relatively constant release of acetylcholine in unaffected preparations, i. e. under normal conditions. The Wedensky inhibition with a rapid decline in the e.p.p., a phenomenon which may also develop relatively rapidly when higher concentrations of tubocurarine are used, must accordingly, when HUTTER's result¹ is taken into consideration, be due to a presynaptic effect of the substance.

Our results are in accordance with those of RIKER *et al.*⁴ obtained by a more indirect procedure of investigation. As stated in previous publications^{2,3} the presynaptic effect of tubocurarine takes some time to develop (probably due to the time necessary to penetrate into the presynaptic fibres) and its main effect consists in a strong tendency to block the effect of repetitive impulses in the presynaptic fibres, an effect not unlike that postulated for procain in the motor end-plate.

DETTBARN's⁵ demonstration of a blocking effect of tubocurarine on conduction in peripheral nerves, by using Staempfli's technique for investigation of the activity at the Ranvier nodes, strongly support the possibility of a presynaptic effect of this substance.

G. LILLEHEIL and K. NAESS

Department of Pharmacology, University of Oslo (Norway), August 25, 1960.

Zusammenfassung

Die Beurteilung von Endplatten-Potentialen an N.-phrenicus-Diaphragma-Präparaten in verschiedenen Stadien der Curaresierung legt nahe, die Ursache der Wedensky-Hemmung von tetanischen Kontraktionen in einer präsynaptischen Wirkung des Tubocurarins zu sehen.

⁴ W. K. RIKER, JR., G. WERNER, J. ROBERTS, and A. KUPERMAN, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 81, 329 (1959).

⁵ W. D. DETTBARN, *Nature*, 186, 891 (1960).

Multiple Innervation von Muskelfasern im *M. vocalis* des Menschen¹

Die bisherigen Kenntnisse der motorischen Versorgung erlaubten nicht, den *M. vocalis* einem bestimmten Innervationstyp zuzuordnen. Das heisst, es war nicht sicher, ob er über ein ähnliches engumschriebenes Innervationsareal verfüge wie der Skelettmuskel^{2,3} oder ob eine davon abweichende Innervation anzutreffen sei. Aus der Rolle, die diesem Muskel bei der Phonation zuzukommen scheint, insbesondere aus der Geschwindigkeit seines Ansprechens und der Genauigkeit des Stimmeinsatzes, ergibt sich die Frage nach der Art und Ausbreitung der neuromuskulären Synapsen, über die seine Fasern aktiviert werden. Da der Muskel der intrazellulären Ableitung beim Menschen kaum zugänglich ist, kommt der neurohistologischen Untersuchung bei der Beantwortung dieser Frage besondere Bedeutung zu.

¹ Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

² C. COERS und A. L. WOLFF, *The Innervation of Muscle* (Oxford 1959).

³ H. G. SCHWARZACHER, *Acta anat.* 37, 217 (1959).