

Fig. 10. Same reaction as Figure 7, but with Nitro-BT as an electron acceptor. Diffuse staining of cytoplasm, except fat vacuoles. Note staining of basement membrane. $\times 1250$.

Fig. 11. β -Hydroxybutyrate dehydrogenase reaction using Nitro-BT. Incubation for 30 min results in crystallisation of uniformly deposited diformazan, mainly in the vicinity of fat vacuoles. $\times 1000$.

Fig. 12. Formazan staining of protein absorption droplets in proximal tubular cells of rat kidney (18 h after intraperitoneal injection of ovalbumin). DPNH-diaphorase reaction on formalin-fixed tissue, using Nitro-BT. $\times 3000$.

Fig. 13. Serial section to Figure 12. In contrast to other cytoplasmic sites, protein droplets are not stained by DPNH-diaphorase reaction when MTT-Co is used as an electron-acceptor. $\times 3000$.

Fig. 14. Strong non-enzymic staining of myelinated nerve in rat pelvic muscle by reduction of adsorbed Nitro-BT. $\times 380$.

Fig. 15. Diformazan staining of ganglionic cell and neuropil by non-enzymic reduction of adsorbed Nitro-BT. Formalin-fixed section of rat cerebral cortex. $\times 380$.

Fig. 16. Diformazan staining of fragmented mitochondrial and membrane structures in a 2μ cryostat section. Non-enzymic reduction of adsorbed Nitro-BT. $\times 2450$.

Fig. 17. Serial section to Figure 16. Filamentous mitochondrial structures stained by Solochrome Cyanine R after postchroming by the Elftman procedure. $\times 2450$.

Model experiments with various lipid fractions point to a multitude of tissue components which may be responsible for adsorbing tetrazole and it seems difficult to ascribe this property to a single chemical structure. It may be significant that all lipids which were shown to be capable of binding Nitro-BT contain unsaturated radicals. The composition of mitochondrial lipids is complex. Extracts of liver mitochondria for instance, contain cholesterol, sphingomyelin, lecithin and cephalin besides a large, undetermined fraction containing various lipid-soluble vitamins²¹. A great difficulty is encountered in the profound alteration which lipoprotein structures undergo in fixing and in the preparation of frozen-thawed sections. The status of lipid-protein interaction under such conditions is virtually unknown. We were unable to abolish the adsorption of Nitro-BT to sections previously subjected to extraction procedures for phospholipids¹.

Histologically, substantive tetrazoles are adsorbed by membranous lipoproteins structures. It is possible that the strongly substantive Nitro-BT forms a surface layer, the whole of which may be uniformly reduced along a given structure regardless of the site of the initial potential difference. Formazan staining of structures, adjacent to points of high reductase activity may be thus explained. In particular, this may explain the staining of structures like myelin which consist of multi-layered lipoprotein components²². Enzymic staining of whole myelinated nerve fibres by Nitro-BT in highly active muscle²³ and spinal cord²⁴ sections is likely to be an artifact.

A pattern basically different from that obtained by using substantive tetrazoles is formed by enzymically reduced MTT-Co. This particulate formazan does not stain any structure *per se* but appears to reveal the distribution of highly active electron-donating sites. Since formazan production has been shown to be a easumre of specific activity of enzyme particles¹¹ it can be assumed that dye produced at individual intracellular sites reflects the specific activity of these areas. The particulate structural element responsible for enzymic tetrazolium reduction can be both mitochondrial and microsomal. Alternatively it may not even belong to a morphologically defined entity, as in the case of bacterial cytoplasm²⁵. The identical appearance of the particulate formazan, whether produced by suspensions of submitochondrial fractions or by microsomes, provides a reason for our previous failure to demonstrate extramitochondrial tetrazolium reductase^{6,8}. It is evident, therefore, that a dot-like formazan

pattern can no longer be considered to be due to mitochondrial activity only. In the animal cell, however, mitochondrial activity can be separated by using reactions for enzymes which are firmly structurally bound to mitochondria, namely succinic, β -hydroxybutyric and α -glycerophosphate dehydrogenase.

In enzyme histochemistry, one of whose aims is to characterise intracellular distribution of activity, it seems highly desirable to use non-substantive indicators or substrates giving rise to non-substantive products which, by means of efficient capture reactions, can reveal sites of enzymic activity without morphological bias induced by substantivity.

Zusammenfassung. Es wurden substantive Eigenschaften verschiedener Mono- und Ditetrazoliumsalze gegenüber Gewebestandteilen im Schnittpräparat untersucht. Ditetrazole werden im allgemeinen stärker vom Gewebe adsorbiert als Monotetrazole. Ausnahmen bilden Monotetrazole mit polaren Substituenten oder Azobenzol-Resten in 3-Stellung. Ditetrazole mit elektronegativen Gruppen in 2-Stellung werden stark von Lipoprotein-Strukturen adsorbiert und zeigen in Modellexperimenten Substantivität für ungesättigte Lipide. An verschiedenen Beispielen wird die Bedeutung substantiver Tetrazol-Eigenschaften für die Lokalisation von Dehydrogenase-aktivität im Schnittpräparat dargelegt. Die Lokalisation enzymatisch gebildeten Formazans ist im Falle von substantivem Tetrazol ein Ausdruck für die Adsorption der Farbstoffvorstufe an bestimmte Gewebekomponenten. Im Falle von nichtsubstantivem Monotetrazol besteht die Möglichkeit zur Bestimmung von Orten intrazellulärer Enzymaktivität ohne unspezifische Anfärbung von Gewebestandteilen. Die Bedeutung der stark voneinander abweichenden Eigenschaften von in der Histochemie gebräuchlichen Tetrazoliumsalzen für die Darstellung intra- und extramitochondrialer Aktivität wird diskutiert.

A. G. E. PEARSE and R. HESS²⁶

Department of Pathology, Postgraduate Medical School, London (England), November 29, 1960.

²¹ R. D. DALLAM and L. SHIMOMURA, Arch. Biochem. Biophys. 79, 187 (1959).

²² J. B. FINEAN and J. D. ROBERTSON, Brit. Med. Bull. 14, 267 (1958).

²³ M. M. NACHLAS, K. C. TSOU, E. DESOUSA, C. S. CHENG, and A. M. SELIGMAN, J. Histochem. Cytochem. 5, 420 (1957).

²⁴ T. SAMORAJSKI, J. Neurochem. 5, 349 (1960).

²⁵ R. HESS and F. M. DIETRICH, J. biophys. biochem. Cytol. 8, 546 (1960).

²⁶ **Acknowledgments.** We are indebted to Professor H. BEYER for the gift of MTT, to Dr. A. M. SELIGMAN for Nitro-BT, to Dr. A. W. NINEHAM for M and B 1762 A and 1767 and to Dr. G. GLENNER for BCT. We are grateful to Dr. G. POPJÁK for assistance in the preparation of cell fractions. One of us (A. G. E. P.) is in receipt of a Grant in Aid from the Medical Research Council.

STUDIUM PROGRESSUS

Die Beeinflussbarkeit der Tiegelschen Kontraktur durch Änderungen der extracellulären Calciumkonzentration

Als «Kontraktion» bezeichnet man den über eine Muskelfaser (bzw. einen Ganzmuskel) mit der Erregung sich rasch fortpflanzenden kurzzeitigen kontraktilen Prozess der Zuckung. Unter «Kontraktur» eines quergestreiften Muskels versteht man eine länger anhaltende, auf den Reizort beschränkte, nicht fortgeleitete (also ohne rhyth-

mische Aktionspotentiale verlaufende) reversible Verkürzung. GASSER¹ hat zum erstenmal diese Gesichtspunkte in seiner klassischen Definition klar herausgestellt. Eine solche Verkürzungsreaktion können physiologischerweise *in corpore* nur Muskelfasern ausführen, die auf einen lokalen Erregungs- und Kontraktionstyp spezialisiert sind, wie zum Beispiel die quergestreiften langsamen Muskelfasern ('slow fibers') des Frosches, die von Aγ-Fasern über «Endtrauben» innerviert werden². Sie stellen – wenn sie in einem Skelettmuskel vorkommen – gegenüber den schnellen Fasern ('twitch fibers') zahlenmässig nur einen kleinen Prozentsatz aller Fasern dar. Künstlich kann man aber im Experiment durch gewisse Substanzen (z. B. Kalium, Acetylcholin u. a.) oder physikalische Einflüsse (z. B. bestimmte elektrische Ströme) an jeder Faser bzw. jedem Muskel unter geeigneten Bedingungen Kontraktionen auslösen^{3,4}. Solche künstlichen nicht fortgeleiteten Verkürzungen können auf eine bestimmte Region einer Muskelfaser beschränkt sein oder aber – wenn der Reiz nicht lokalisiert ist – die ganze Muskelfaser ergreifen.

Wenn ein Muskel oder eine Muskelfaser durch einen elektrischen Stromstoss richtiger Stärke und Form gereizt wird, erfolgt eine Zuckung, das heisst eine rasche Verkürzung und Wiederverlängerung. Unter bestimmten Bedingungen kann die Phase der Wiederverlängerung (Erschlaffung) erheblich verzögert werden, oder es kann sich an den ersten Zuckungsgipfel ein zweiter langsamerer, mehr oder weniger hoher Verkürzungsgipfel in der Wiederverlängerungsphase anschliessen. Man bezeichnet das als «Nachkontraktur». Dazu gehören zum Beispiel die Ermüdungskontraktur bzw. die Tiegelsche Kontraktur, die Bremersche «neuromuskuläre Kontraktur» und die Veratrin-Kontraktur, die sich phänomenologisch weitgehend gleichen⁵. Wohl aus diesem Grunde werden oft ziemlich wahllos die verschiedensten Nachkontraktoren (und Verkürzungsrückstände) als Tiegelsche Kontraktoren bezeichnet.

Unter *Tiegelscher Kontraktur* im ursprünglichen Sinne⁶ versteht man die schon von KRONECKER⁷ beobachtete Erscheinung, dass ein Skelettmuskel nur unvollkommen erschlafft, wenn man ihn mit aufeinanderfolgenden übermaximalen elektrischen Stromstössen direkt reizt (Anhebung der Basislinie = Ermüdungskontraktur). Unter günstigen Bedingungen kann schon ein einzelner direkter supermaximaler Stromstoss eine Nachkontraktur erzeugen, die kleiner, gleich hoch oder höher sein kann als die initiale Zuckung. Auch dies bezeichnet man als Tiegelsche Kontraktur (für Einzelfasern vgl. ⁸). Mit diesem Phänomen befasst sich die vorliegende Arbeit.

Den verschiedenen Nachkontrakturen ist, wie die Analyse der elektrischen Vorgänge zeigt, gemeinsam, dass höchstens am Anfang rhythmische Aktionspotentiale vorhanden sind, die rasch in ein persistierendes negatives Nachpotential übergehen. Wegen der Langsamkeit der Vorgänge lassen sich bei den Kontrakturen und Nachkontrakturen die Beziehungen zwischen Erregung (Membrangeschehen) und kontraktilem Prozess und ihre Beeinflussbarkeit leichter untersuchen als bei den schnellen Zuckungen. Es ist daher verständlich, dass Kontrakturen der verschiedensten Genesen in neuerer Zeit ein wichtiges Experimentierobjekt zum Studium der elektromechanischen Kopplungsvorgänge geworden sind^{9,10}. Im Rahmen von Untersuchungen über die Bedeutung von Calcium-Ionen bei der Kopplung des Verkürzungsprozesses an den Membranprozess bei Kontrakturen (vorläufige Veröffentlichungen darüber: ^{11, 12}) haben wir uns auch mit dem Einfluss von Änderungen der extracellulären Calciumkonzentration auf die Tiegelsche Kontraktur befasst. Über die Ergebnisse soll hier kurz berichtet werden.

Methode. Der isolierte *M. sartorius* bzw. *M. rectus abdominis* vom Frosch (*Rana esculenta* und *temporaria*) befindet sich in einem mit Ringerlösung gefüllten Gefäss und ist mit einem isotonischen Hebelsystem verbunden. Der Hebel ist entweder ein reibungsarmer Tangentialschreiber und registriert auf einem Russkymographion, oder – wesentlich besser – er trägt am Ende eine Blende, die sich frei vor einer Photozelle bewegt. Der durch die Längenänderung des Muskels gesteuerte Photostrom wird verstärkt und mit Direktschreibern registriert. Die elektrische Reizung des Muskels erfolgt mit Rechteckimpulsen. Zusammensetzung der Ringerlösung: 115,0 mM NaCl; 2,5 mM KCl; 1,8 mM CaCl₂; mit Na-Phosphatpuffer auf pH 7,1 gebracht. Bei calciumfreier Ringerlösung wird CaCl₂ durch NaCl ersetzt. Bei calciumreicher Ringerlösung (18 mM CaCl₂) wird NaCl entsprechend verringert. Der Phosphatpuffer muss hier wegbleiben, da sonst Calciumphosphat ausfällt. Da diese Lösung meist ein wenig sauer ist, wird der pH mit NaOH auf 7,1 eingestellt. Die Lösungen im Versuchsgefäss werden ständig mit CO₂-freier Luft durchperlt. Die Badezeit in calciumfreier oder -reicher Ringerlösung dauerte meist 30–180 min, doch können auch kürzere Zeiten (10–20 min, besonders im Sommer) schon Effekte zeigen.

Die Dynamik der Calciumaufnahme und -abgabe des Muskels soll hier nicht weiter erörtert werden (vgl. ^{13–19}). Bei entsprechender Expositionszeit nehmen sowohl tonische als auch phasische Muskeln in calciumreicher Ringerlösung Calcium auf und geben es in calciumfreier Ringerlösung ab. Wir haben das gemessen, und es wird durch die erheblichen funktionellen Veränderungen der Muskeln bewiesen, die an den hier wiedergegebenen Abbildungen zu erkennen sind.

Reizt man einen in calciumfreier Ringerlösung gebadeten phasischen Muskel (Sartorius) mit einem übermaximalen elektrischen Stromstoss, so zeigt der abfallende Schenkel der Zuckung eine deutliche Nachkontraktur, die sich rasch löst (Fig. 1a). Wiederholt man den Reiz noch mehrere Male, so werden Zuckungen und Nachkontraktur immer kleiner und der Muskel wird im Erschlaffungszustand unerregbar.

Führt man den gleichen Versuch an einem in calciumreicher Ringerlösung gebadeten Sartorius durch, so resultiert ein völlig anderes Ergebnis (Fig. 1b). Die Nachkontraktur löst sich schon beim ersten Reiz nicht, und mit

¹ H. S. GASSER, *Physiol. Rev.* 10, 35 (1930).

² St. W. KUFFLER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 220, 116 (1953).

³ H. REICHEL, *Muskelphysiologie* (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960).

⁴ O. RIESSER, *Kontraktur und Starre*. Handb. d. norm. u. pathol. Physiol. (Berlin 1925), VIII/1, 218.

⁵ O. RIESSER, *Muskelpharmacologie*, in T. GORDONOFF, *Handbuch der Therapie* (Bern 1949).

⁶ E. TIEGEL, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 13, 71 (1876).

⁷ H. KRONECKER, *Monatsberichte d. Königl. Acad. zu Berlin* (Sitz. 11. 8. 1870), Nr. 3, p. 639.

⁸ K. BRECHT und H. FENEIS, *Z. Biol.* 103, 354 (1950).

⁹ K. E. ROTHSCHUH, *Klin. Wschr.* 34, 1049 (1956).

¹⁰ A. SANDOW, *Yale J. Biol. Med.* 25, 176 (1952); *Amer. J. phys. Med.* 34, 145 (1955).

¹¹ P. PAUSCHINGER, 26. Tagung d. Deutsch. Physiol. Gesellschaft, Freiburg (Juni 1960).

¹² P. PAUSCHINGER und K. BRECHT, *Nature*, im Druck.

¹³ M. C. BERWICK, *J. cell. comp. Physiol.* 38, 95 (1951).

¹⁴ D. L. GILBERT und W. O. FENN, *J. gen. Physiol.* 40, 393 (1957).

¹⁵ E. J. HARRIS, *Biochim. biophys. Acta* 23, 80 (1957).

¹⁶ L. V. HEILBRUNN, *An Outline of General Physiology* (Philadelphia 1955).

¹⁷ L. J. MULLINS, *J. gen. Physiol.* 42, 817 (1959).

¹⁸ A. SHANES, *Pharmacol. Rev.* 10, 59, Part I-II (1958).

¹⁹ A. SHANES und C. P. BIANCHI, *J. gen. Physiol.* 43, 481 (1960).

jeder weiteren Zuckung setzt sie immer höher am Zuckungsgipfel an. Bald kommen bei einer weit über dem ersten Zuckungsmaximum liegenden Dauerverkürzung keine raschen Zuckungen mehr zustande, sondern nur noch kleine Zusatzkontrakturen. Zuletzt wird der Muskel im Zustand einer starken Dauerkontraktur unerregbar.

Ein prinzipiell ähnliches Bild ergibt sich am Rectus, nur zeigt er – als tonischer Muskel «von Hause aus» – eine stärkere Fähigkeit zur Kontraktur. So muss man ihn länger in calciumfreier Ringerlösung baden, um entsprechende Effekte zu erhalten. In Figur 2a bleibt durch den ersten Reiz eine Nachkontraktur bestehen. Wenn man von ihr absieht, ist das weitere Verhalten ganz ähnlich dem in calciumfreier Ringerlösung gebadeten Sartorius. Der Muskel erschlafft bis zur Unerregbarkeit immer wieder auf dieses Niveau.

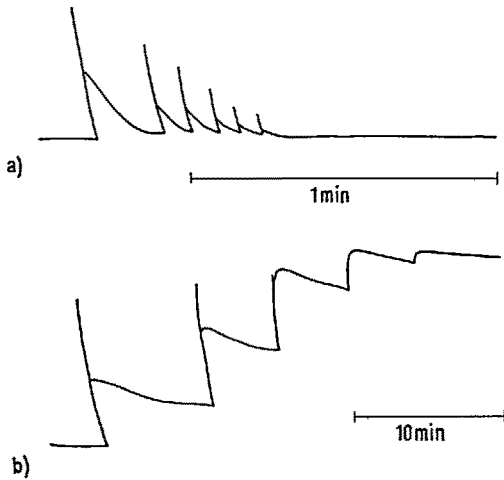


Fig. 1. Aufeinanderfolgende Tiegelsche Kontrakturen von *Mm. sartorii* mit übermaximalen Rechteckreizen. a) Sartorius, der 1 h in calciumfreier Ringerlösung lag. b) Ein anderer Sartorius nach einstündiger Vorbehandlung in calciumreicher Ringerlösung. Siehe Text! (Man beachte die verschiedenen Registriergeschwindigkeiten in a und b.) Versuch vom 16. 8. 1960; *Rana esc.* ♀

Ganz anders verhält sich der calciumreiche Rectus (Fig. 2b). Hier bleibt die Nachkontraktur schon beim ersten Reiz auf der Höhe der Zuckung. Vom dritten Reiz an erfolgen nur noch langsame Zusatzverkürzungen, und der Muskel wird in maximalem Verkürzungszustand unerregbar.

Soweit die Fakten, die zeigen, dass das kontraktile Verhalten von Muskeln entscheidend durch Variation der extracellulären Calciumkonzentration beeinflusst werden kann. Da zur Erzielung solcher Effekte unter Umständen längere Expositionszeiten notwendig sind, dürfte es sich nicht so sehr um Oberflächenwirkungen handeln, sondern um Beteiligung des Calciums an Vorgängen im Innern der Muskelfaser im Anschluss an die Erregung.

Die durch Änderungen der extracellulären Calciumkonzentration bei der Tiegelschen Kontraktur erzielten Effekte gleichen weitgehend denen bei der KCl-Kontraktur (isotonische KCl-Lösung) unter den gleichen Bedingungen der Calciumvariation^{11,12}. Das Membranpotential von phasischen und tonischen Muskelfasern ändert sich nur wenig durch Calcium, es steigt um einige Millivolt (3–5 mV) an in calciumreicher Ringerlösung und sinkt um einen ähnlichen Betrag in calciumfreier Ringerlösung. Auch die Depolarisation ist in beiden Fällen gleich stark (auf ca. 10–20 mV) und gleich lang anhaltend unter weiterer Anwesenheit von isotonischer KCl-Lösung. Aber

der kontraktile Apparat koppelt bei calciumfreier Vorbehandlung nur sehr kurzzeitig an und Kontrakturen kommen kaum oder gar nicht zustande, während calciumreiche Sartorien und Recti langdauernde Kontrakturen unterhalten. Die Membrandepolarisation ist also nur der auslösende Triggermechanismus für nachgeschaltete Reaktionen, die erst über Ausmass und Dauer der Ankopplung des kontraktile Apparates entscheiden. Hier – mehr im Innern der Faser – scheint der den Kontraktionsvorgang beeinflussende Angriffspunkt des Calciums bei seiner Freisetzung durch die Membrandepolarisation zu sein, unabhängig von seiner Wirkung auf die Membran (Stabilisierung und Abdichtung). Das ein- oder auswandernde Calcium bewirkt in den von uns variierten Konzentrationen keine Längenänderungen des kontraktile Apparates bei isotonischer Registrieranordnung unter Normalbedin-

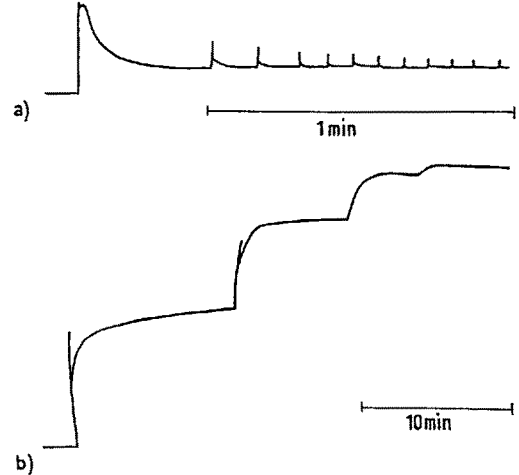


Fig. 2. Aufeinanderfolgende Tiegelsche Kontrakturen von *Mm. recti abdominis* mit übermaximalen Rechteckreizen. a) Rectus nach einstündiger Vorbehandlung in calciumfreier, b) in calciumreicher Ringerlösung. Siehe Text! (Man beachte die verschiedenen Registriergeschwindigkeiten in a und b.) Versuch vom 16. 8. 1960; *Rana esc.* ♂

gungen in Ruhe. Das heisst, die bei höherer extracellulärer Calciumkonzentration einwandernden Calcium-Ionen werden sofort gebunden. Die Bindungskapazität der Muskelfaser für Calcium ist relativ gross¹⁴. Erst wenn die extracelluläre Calciumkonzentration zu hoch wird (z. B. bei isotonischer CaCl_2 -Lösung) dürften freie Calcium-Ionen im Innern der Faser auftreten und den Verkürzungsmechanismus direkt (ohne Membrandepolarisation) in Gang bringen (Calciumkontraktur).

Leider wissen wir noch kaum etwas über diese «Aktivator»-Eigenschaft bei der Ankopplung des kontraktile Apparates in der lebenden Muskelfaser. Aus den Ergebnissen der Muskelmodellversuche ist bekannt, dass Calcium für die Verkürzung der Modelle direkt nicht notwendig ist. Die Bedeutung der Calcium-Ionen liegt danach in der Hemmung des «Erschlaffungsfaktors». Dieser ist wirksam (in Ruhe bzw. in der Erschlaffungsphase), wenn freie Calcium-Ionen fehlen, das heisst gebunden sind, zum Beispiel an Aktomyosin (bei Anwesenheit freier Magnesium-Ionen). Bei der Kontraktion (Verkürzungsphase) sollen Calcium-Ionen freigesetzt und an den Erschlaffungsfaktor gebunden werden, der dadurch inaktiviert wird und die ATP-Spaltung freigibt. Ausserdem soll der Erschlaffungsfaktor nicht mehr hemmend auf die ATP-Spaltung wirken (auch nicht bei Abwesenheit freier Calcium-Ionen), wenn die ATP-Konzentration zu gering ge-

worden ist; zum Beispiel vor dem Beginn eines *Rigor mortis* (vgl. ²⁰).

Wenn man diese Beobachtungen an den Modellen zur Erklärung der von uns an der Tiegelschen Kontraktur erhobenen Befunde heranzieht, so könnte der calciumreiche Muskel deshalb in maximaler Dauerkontraktur verharren, weil im Überschuss freigesetzte Calcium-Ionen den Erschlaffungsfaktor völlig hemmen, während die ATP-Spaltung weitergeht und den Verkürzungszustand aktiv aufrecht erhält. Andererseits (oder ausserdem) könnte sich aber auch der ATP-Vorrat soweit erschöpfen, dass der Muskel in Starre übergeht. Auch so würde er im erreichten Verkürzungszustand verbleiben.

Umgekehrt könnte beim calciumarmen bzw. calciumverarmten Muskel die bei der Erregung freiwerdende geringere Calciumkonzentration bald nicht mehr ausreichen, den Erschlaffungsfaktor zu hemmen. Die ATP-Spaltung, und damit Zuckung und Kontraktur, würden immer geringer. Der Muskel müsste schliesslich infolge der «Weichmacherwirkung» der ungespalten anwesenden ATP im Erschlaffungszustand verharren. Calciumverarmten Muskelfasern geht also die Aufrechterhaltung des Aktivzustandes des kontraktile Apparates immer mehr verloren.

Aus unseren zahlreichen Untersuchungen an den verschiedensten Kontrakturen²¹ (Erregungs- und Schädigungskontrakturen) ergibt sich immer wieder das gleiche Bild: Ohne eine bestimmte Menge freier Calcium-Ionen vermag ein Muskel keine Kontraktur zu unterhalten bzw. nicht einmal auszulösen (über entsprechende Befunde am Herzmuskel: ^{22–24}). Das heisst, Calcium-Ionen sind sowohl bei der Aktivierung als auch bei der Erhaltung des Aktivzustandes der Kontraktur beteiligt. Ob alle diese Calciumwirkungen nur über die Beeinflussung (Hemmung) des Erschlaffungsfaktors gehen, ist unbekannt, erscheint uns aber nicht wahrscheinlich, wenn man bedenkt, dass die Fibrillen in der lebenden Muskelfaser in ein kompliziertes biologisches System eingebettet sind (Sarkoplasma, Membran), das für sie nicht nur das chemische, sondern auch das physikalische Milieu abgibt, mit dem sie in enger Wechselbeziehung stehen. Es ist bekannt, dass Calcium-Ionen die Permeabilität der Membran für Na- und K-Ionen in Ruhe und Aktivität beeinflussen (Übersicht bei ¹⁸). Man muss ferner damit rechnen, dass diese zweiwertigen stark hydratisierten Ionen, die eine erhebliche Wirkung auf die Stabilität und Quellung kolloidaler Lösungen haben, auch die Viskosität des Sarkoplasmas verändern (Entquellung). Die Längenänderungen des Fibrillensystems und die damit verbundenen Bewegungen der – wie wir vermuten – als «Bremscheiben» wirkenden Z-Membransiebe könnten durch Viskositätsänderungen dieser sie umgebenden kolloidalen Lösung modifiziert werden. Es ist auffällig, dass bei aufeinanderfolgenden Tiegelschen Kontrakturen in calciumreichen Muskeln die Anstiegssteilheit immer flacher wird (Fig. 1b und 2b). Auch bei KCl-Kontrakturen konnten wir eine zunehmende Verlängerung der Anstiegszeit beobachten, je höher die Calciumkonzentration war, in der die Muskeln gebadet wurden. Inwieweit dieser Effekt über eine Beeinflussung der Membran, des Sarkoplasmas oder anderer Mechanismen durch Calcium zustandekommt, muss vorerst offenbleiben. Weitere Untersuchungen über Erregung, Kontraktion (Aktivierung, 'active state', Verhalten der elastischen Eigenschaften), Ionenkinetik, Stoffwechsel (oxydativer Stoffwechsel, Umsatz energiereicher Phosphate) bei Kontrakturen phasischer und tonischer Muskeln unter Variation der Calciumkonzentration können erst tiefere Einblicke verschaffen. Es ist aber wahrscheinlich, dass verschiedene Angriffspunkte der Calcium-Ionen in der Muskelfaser existieren.

Summary. 1. The occurrence of 'Tiegel's contractures' in phasic and tonic muscles is significantly influenced by the extracellular calcium concentration. 2. Muscles of both types show only small and short aftercontractures after preceding treatment with calciumfree Ringer's solution and become refractory to repeated stimuli while in the relaxed state. 3. Muscles of both types, however, which have been pretreated with calcium-rich Ringer's solution, show strong and long-lasting after-contractures and become refractory to repeated stimuli while in a state of maximal contracture. 4. The possible explanations for this different behaviour are briefly discussed and it is assumed that calcium ions have several sites of action within the muscle cell. K. BRECHT und P. PAUSCHINGER
Physiologisches Institut Tübingen (Deutschland), 19. Dezember 1960.

²⁰ H. H. WEBER, *The Motility of Muscle and Cells* (Harvard University Press, 1958).

²¹ Darüber wird an anderer Stelle berichtet.

²² H. C. LÜTTGAU und R. NIEDERGERKE, *J. Physiol.* **143**, 486 (1958).

²³ R. NIEDERGERKE, *J. Physiol.* **134**, 569, 584 (1956).

²⁴ R. NIEDERGERKE und H. C. LÜTTGAU, *Nature* **179**, 1066 (1957).

P R A E M I A

Fonds für den Ruzicka-Preis

Ausschreibung des Preises für 1961

Aus dem Fonds für den Ruzicka-Preis wird alljährlich einem jungen Forscher für eine hervorragende veröffentlichte Arbeit auf dem Gebiete der allgemeinen Chemie ein Preis erteilt. Die chemischen Arbeiten, welche mit einem Preis ausgezeichnet werden sollen, müssen entweder in der Schweiz oder von Schweizern im Ausland ausgeführt worden sein.

Kandidaten dürfen in dem Jahre, in welchem sie den Preis erhalten, das 45. Lebensjahr nicht überschritten haben. Sie können dem Kuratorium von dritter Seite vorgeschlagen werden oder sich auch selbst um den Preis bewerben.

Die Preiserteilung erfolgt auf Antrag eines Kuratoriums durch den Schweiz. Schulrat. Die Höhe des Preises wird auf Antrag des Kuratoriums in jedem einzelnen Fall durch den Schweiz. Schulrat festgesetzt. Die Überreichung des Preises erfolgt im September 1961.

Bewerbungen und Anträge sind unter Angabe der chemischen Arbeit, für welche der Preis erteilt werden soll, *bis spätestens Samstag, den 29. April 1961*, dem Sekretariat des Schweiz. Schulrates, Eidg. Technische Hochschule, Leonhardstrasse 33, Zürich 6, einzureichen.

Der Präsident des Schweiz. Schulrates
Prof. Dr. H. PALLMANN

C O R R I G E N D A

R. A. EDGREN und D. W. CALHOUN: *Multiple Effects of Oestrone and Testosterone Propionate in Combination: Simultaneous Effects on Vaginal Keratinization and Uterine Growth*. *Exper.* vol. xvi, fasc. 12, p. 544 (1960). The Table in this paper is unclear. Each value in the Uterine Weight column is significantly greater (1% level) than the one above it. Thus TP stimulated uterine growth as did the oestrone, and the combination oestrone plus TP produced more growth than did either steroid alone.

C. R. PRINGLE und J. M. STEWART: *Rate of Respiration in Relation to Autogamy in Paramecium aurelia*. *Exper.* vol. xvii, fasc. 2 (1961). In the Table on p. 74, the heading of column 7 should read: Mean oxygen consumption ($\mu\text{l/h} \times 10^{-3}$).