

Einfluss auf die Dauer des Aktionspotentials: Wenn der osmotische Druck der Aussenlösung nicht durch Zusatz von 428 mM Saccharose, sondern durch Zusatz von 221 mM NaCl erhöht wurde, wurde das Aktionspotential, das bereits durch 0,1 mM-NiCl₂-Ringerlösung von 4°C stark verlängert war, noch weiter verlängert (Figur 1E), wobei gleichzeitig eine leichte Depolarisation und eine nur wenige sec anhaltende Zunahme des Spitzenpotentials auftrat; der gleiche Effekt wird bei NiCl₂-freier Ringerlösung von Zimmertemperatur beobachtet^{14,15}. Umgekehrt führte Herabsetzung der Na⁺-Aussenkonzentration zu einer Verkürzung des Aktionspotentials⁸.

Die Geschwindigkeit der Repolarisation in der abfallenden Phase des Aktionspotentials hängt von der Geschwindigkeit und dem Ausmass der Inaktivierung der Na⁺-Permeabilität und der Aktivierung der K⁺-Permeabilität ab. Die unter (1) diskutierte Hemmung der K-Permeabilitätszunahme durch hypertone Aussenlösung müsste die Repolarisation verlangsamen, während umgekehrt die unter (2) beschriebene Verstärkung der Inaktivierung den Repolarisationsvorgang beschleunigen und die Repolarisationsschwelle erhöhen würde; in der gleichen Richtung müsste nach den unter (3) angeführten Beobachtungen die Vergrößerung der Na⁺-Innenkonzentration wirken. Man müsste annehmen, dass je nach den Versuchsbedingungen entweder der die abfallende Phase verlängernde (und das Spitzenpotential erhöhende) Ef-

fekt (1) oder die im entgegengesetzten Sinne wirkenden Effekte (2) und (3) überwiegen. Die Richtigkeit dieser Arbeitshypothese wäre durch weitere Versuche zu prüfen.

Summary. The effect of hypertonic solutions on the action potential of single myelinated nerve fibres is described. Hypertonicity mainly changes the duration of the action potential: Short action potentials obtained in normal Ringer's solution at room temperature are prolonged, long action potentials due to 0.1–1.0 mM NiCl₂-Ringer's solution and low temperature are shortened by hypertonicity. The changes in action potential duration are accompanied by small changes in action potential amplitude. In addition, hypertonicity reduces the depolarization produced by 20 mM KCl; inactivation of the sodium-carrying system under cathodal polarization is enhanced.

H. MEVES

1. Physiologisches Institut der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar, Deutschland), 30. August 1963.

¹⁴ I. TASAKI, J. Neurophysiol. 13, 177 (1950).

¹⁵ R. STÄMPFLI, J. Physiol. (Paris) 48, 710 (1956).

The Relation Between Ionic Fluxes and the Action of Drugs on Smooth Muscle

The exact mechanism by which drugs such as adrenaline, noradrenaline, and acetylcholine act on smooth muscle is not known, but most theories propose an action on the cell membrane altering the permeability to ions^{1–3}. Bradykinin and angiotensin are said to be active on the outside of the cell membrane probably by changing the flux of ions across the membrane⁴. Frog's stomach muscle is remarkable in that it contracts spontaneously and reacts to electrical and chemical stimulation for about 24 h when soaked in isotonic or half-isotonic solution of sucrose^{5–9}; sodium is completely washed out of frog's stomach muscle by sucrose in about 1 h⁸. It is relaxed by adrenaline and

noradrenaline, and contracted by acetylcholine^{6,7}, 5-hydroxytryptamine, histamine and substance P¹⁰. As there is no intracellular or extracellular sodium⁸, and no other extracellular ion, such as calcium or potassium, it is clear that the above drugs act directly and not by changing ionic fluxes across the membrane. Frog's heart perfused with half-isotonic solution of sucrose, is inhibited by acetylcholine, adrenaline and noradrenaline¹¹, in such a heart sodium is completely washed out in about 1 h. Frog's rectus abdominis soaked in isotonic solution of sucrose, responds by relaxation when treated with acetylcholine^{12,13}.

In further experiments it has been found that the stomach muscle of the frog, *Rana tigrina*, when soaked in half isotonic solution, 0.112 M, of sucrose, is caused to contract by synthetic bradykinin, kallidin and angiotensin, all 10^{–6} g/ml. It is thus clear that these polypeptides

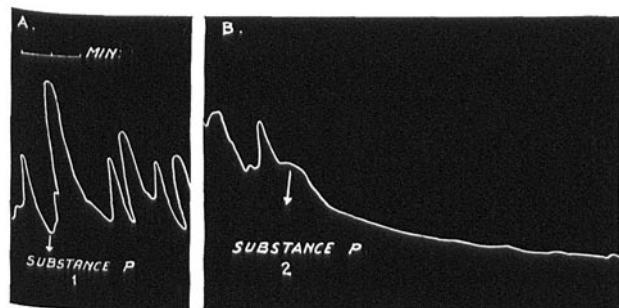


Fig. 1. The effect of substance P, 0.1 U/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112 M) solution of sucrose, which was renewed every 15 min. A shows contraction produced by substance P. B shows the inhibitory effect of substance P in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution. Muscle immersed for 30 min in Ca-sucrose.

¹ G. BURNSTOCK, J. Physiology 143, 183 (1958).

² J. AXELSSON, E. BÜEDING, and E. BULBRING, J. Physiol. 156, 357 (1961).

³ E. BULBRING, Physiol. Rev. 42, Suppl. 5, 160 (1962).

⁴ P. A. KHAIRALLAH and I. H. PAGE, Ann. N.Y. Acad. Sci. 104, 212 (1963).

⁵ I. SINGH and S. I. SINGH, Proc. Ind. Acad. Sci. 18, 58 (1943).

⁶ I. SINGH and J. V. BHATT, Proc. Ind. Acad. Sci. 45, 64 (1957).

⁷ I. SINGH and A. K. ACHARYA, Proc. Ind. Acad. Sci. 46, 285 (1957).

⁸ E. BOZLER, Amer. J. Physiol. 199, 299 (1960).

⁹ R. L. KOLODNY and W. G. VAN DER KLOOT, Nature 190, 786 (1961).

¹⁰ I. SINGH, Arch. int. Physiol. 71, 361 (1963).

¹¹ I. SINGH, Amer. J. Physiol. 203, 422 (1962).

¹² M. R. SWIFT, H. P. GORDON, and W. G. VAN DER KLOOT, Proc. Nat. Acad. Sci. 46, 1415 (1960).

¹³ W. G. VAN DER KLOOT, Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions (American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C. 1961), p. 317.

cause excitation directly, and not by changing ionic fluxes across the membrane.

Calcium is supposed to be a link between excitation and contraction¹⁴⁻¹⁶. At least extracellular calcium plays no part in it, as shown by the contraction of frog's stomach muscle, frog's heart and frog's rectus abdominis in sucrose solutions. Small concentrations of calcium inhibit the spontaneous contractions of sucrose-soaked frog's stomach muscle and frog's heart¹⁰. Calcium (2–3 mM) causes con-

traction of frog's stomach muscle soaked in sucrose solution; the spontaneous contractions first increase in magnitude, then decline and finally cease altogether in 60–90 min. At this stage the muscle ceases to respond to stimulation by drugs such as acetylcholine, 5-hydroxytryptamine,

¹⁴ L. V. HELLBRUNN and F. J. WIERCINKI, *Biol. Bull.* 91, 237 (1946).

¹⁵ R. NIEDERGERKE, *J. Physiol.* 128, 12 (1955).

¹⁶ E. E. DANIEL, H. SEHDEV, and K. ROBINSON, *Physiol. Rev.* 42, Suppl. 5, 228 (1962).

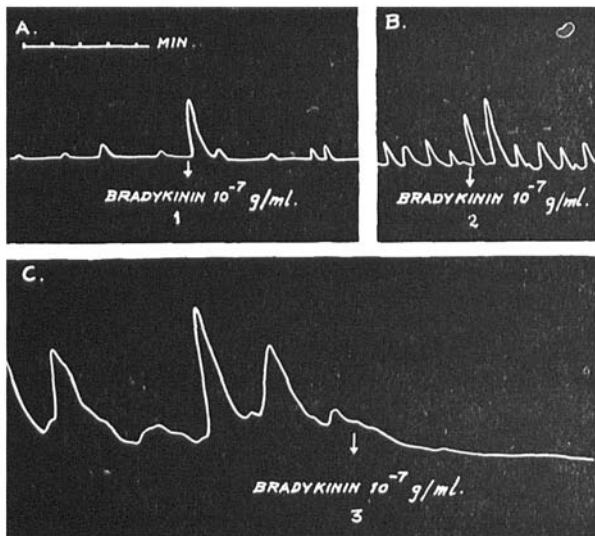


Fig. 2. The effect of bradykinin, 10^{-7} g/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112 M) solution of sucrose, which was renewed every 15 min. A and B show contractions produced by bradykinin. C shows the inhibitory effect of bradykinin in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution. Muscle immersed for 40 min in Ca-sucrose.

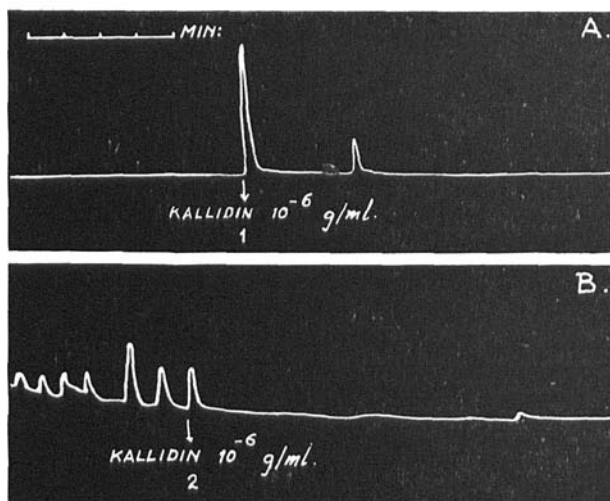


Fig. 3. The effect of kallidin, 10^{-6} g/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112 M) solution of sucrose, which was renewed every 15 min. A shows contraction produced by kallidin. B shows the inhibitory effect of kallidin in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution. Muscle immersed for 30 min in Ca-sucrose.

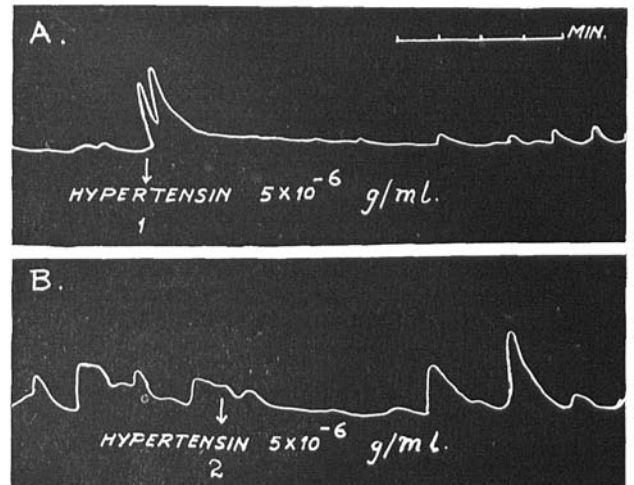


Fig. 4. The effect of hypertensin, 5×10^{-6} g/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112 M) solution of sucrose, which was renewed every 15 min. A shows contraction produced by hypertensin. B shows transient inhibitory effect of hypertensin in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution.

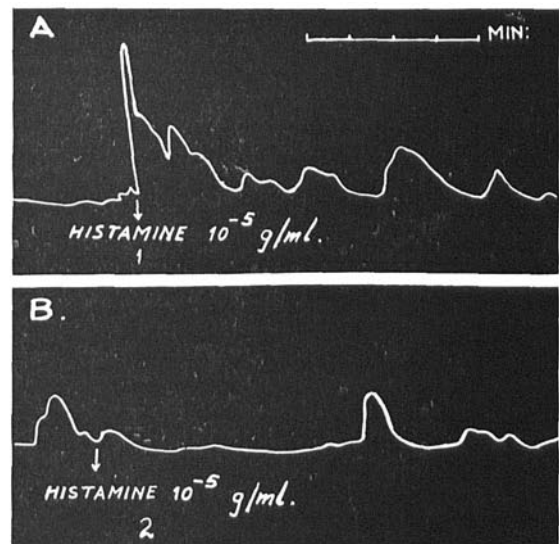


Fig. 5. The effect of histamine, 10^{-5} g/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112 M) solution of sucrose which was renewed every 15 min. A shows contraction produced by histamine. B shows the transient inhibitory effect of histamine in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution. Muscle immersed for 30 min in Ca-sucrose.

histamine, substance P, bradykinin, kallidin, angiotensin and oxytocin. The higher the concentration of calcium, the quicker this state of inexcitability is reached, so that with 10–20 mM calcium it is immediate. Frog's heart perfused with half isotonic solution of sucrose passes immediately into contracture and stops beating if small concentrations of calcium (2 mM) are added to the perfusing fluid.

Before this stage of inexcitability is reached, small concentrations of calcium (2–3 mM) decrease the contraction of frog's stomach muscle produced by substance P, bradykinin and kallidin and finally convert their excitatory effect into an inhibitory one (Figures 1–3). It is well known that these polypeptides have a double effect; they cause contraction of intestinal muscle and relaxation of arterioles in mammals. Thus in sucrose-soaked frog's stomach muscle, the dual effects of these substances are produced by merely changing the calcium ion concentration of the sucrose solution. The contractions produced by

5-hydroxytryptamine, histamine, hypertensin and oxytocin are also decreased by calcium; they may produce a transitory inhibitory effect which lasts for 3–4 min only (Figures 4, 5). The contraction produced by acetylcholine is also decreased by calcium, but no inhibitory effect has been noted; eserine, 10⁻⁶ g/ml, does not cause contraction of sucrose-soaked muscle, but causes it to relax in the presence of calcium.

Zusammenfassung. Verschiedene Arzneimittel inklusive Polypeptide verursachen eine Schrumpfung des in Sucroslösung getränkten Froschmagenmuskels. Dieser Schrumpfung wird durch Calcium entgegengewirkt.

I. SINGH

Department of Physiology, Medical College, Agra (India), August 20, 1963.

Ein Beweis für das Vorhandensein des Knotpunktpotentials am Herzmuskel¹

In bezug auf die Ausbreitung der Erregungswelle besteht ein grosser Unterschied zwischen Herzmuskel und Skelettmuskel. Während die Erregungswelle im Skelettmuskel sich ausschliesslich längs der gereizten Fasern ausbreitet, wird die Welle im Herzmuskel in die benachbarten, nicht gereizten Fasern fortgeleitet und kann auf diese Weise die Kontraktion des ganzen Muskels auslösen. Der «Verschmelzung des Protoplasmas» zwischen den Zellen, ein Bild, das sich auf den mit dem Lichtmikroskop beobachteten Befund stützt, ist bis heute diese «Alles oder Nichts»-Reaktion des Herzmuskels als Ganzes zugeschrieben worden.

Neuere Studien mit dem Elektronenmikroskop^{2–4} haben aber in der Höhe des Glanzstreifens eine doppelte Membrane bewiesen, welche zwei benachbarte Zellen völlig zu trennen scheint. Überdies gibt es einige elektrophysiologische Nachweise^{5–7} des Bestehens von hohem Widerstand der Quermembran zwischen den Zellen. Aus diesen Befunden geht hervor, dass der Herzmuskel nicht ein Syncytium ist, sondern aus sowohl morphologisch als auch elektrisch scharf getrennten Zelleinheiten zusammengesetzt ist. Eine gewisse Art des Erregungsübertragungsprozesses muss also vorhanden sein.

Nicht selten sind Formänderungen des Aktionspotentials beobachtet worden^{8–12}, die das sogenannte «Myo-my-Knotpunktpotential»¹³ darzustellen scheinen, obgleich dieses sich nicht immer als solches erkennen liess.

In einer vorausgehenden Arbeit¹⁴ wurde die stabilisierende Wirkung des Methoxamins, eines synthetischen Sympathomimeticums, auf das Aktionspotential des Meerschweinchenherzens beschrieben. Bei weiteren Untersuchungen wurde eine Formänderung des Aktionspotential gefunden, die dem «Myo-my-Knotpunktpotential» zu entsprechen schien.

Die Präparate waren Arbeitsmyokardstreifen, dem rechten Ventrikel des Meerschweinchen entnommen. Der Einzelstreifen lag, an beiden Enden fixiert, auf einem Korkplättchen auf dem Boden einer mit modifizierter Tyrodelösung gefüllten Messkammer. Die Tyrodelösung wurde mit O₂ durchperlt und bei 38°C gehalten. Mittels intrazellulärer Elektroden wurden die Ruhe- und Aktionspotentiale des Präparats abgeleitet. Die indifferente

Elektrode war ein in der Tyrodelösung liegender chlorierter Silberdraht, der gleichzeitig als eine Reizelektrode diente. Eine zweite Reizelektrode war ein an einem Ende des Streifens in die Fasern eingestochener, chlorierter dünner Silberdraht. Gereizt wurde der Muskelstreifen mit einem rechteckigen Impuls (Impulsgenerator: Frequenz von 120 pro min).

Wie aus Figur 1 und 2 ersichtlich ist, besteht das Aktionspotential dieser Präparate aus drei Bestandteilen: ein schneller Anstieg, ein Plateau und ein Abfall. Nach der Zugabe von 400 µg/ml Methoxamin nimmt die Anstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials stark ab; es tritt dann ein «Knoten» oder Präpotential am ersten Abschnitt der Anstiegsphase auf. Der Einschnitt zwischen dem «Knoten» und dem unmittelbar daran anschliessenden Abschnitt der Anstiegsphase vertieft sich stetig, und das Hauptstück des Aktionspotentials verschwindet allmählich, während der «Knoten» bestehen bleibt.

¹ Durch die dankenswerte Unterstützung der *Pharmacological Research Foundation* (Yakurikenkyu-kai, Tokyo) wurde diese Arbeit ermöglicht.

² F. S. SJÖSTRAND, E. ANDERSSON-CEDERGREN und M. M. DEWEY, *J. Ultrastructure Res.* **1**, 271 (1958).

³ D. H. MOORE und H. RUSKA, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **3**, 261 (1957).

⁴ D. W. FAWCETT und C. C. SELBY, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **4**, 63 (1958).

⁵ T. HOSHIKO, N. SPERELAKIS und R. M. BERNE, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **101**, 602 (1959).

⁶ N. SPERELAKIS, T. HOSHIKO, R. F. KELLER JR. und R. M. BERNE, *Amer. J. Physiol.* **198**, 135 (1960).

⁷ N. SPERELAKIS, T. HOSHIKO und R. M. BERNE, *Amer. J. Physiol.* **198**, 531 (1960).

⁸ E. CORABOEUF, J. Boistel und R. DISTEL, *C.R. Soc. Biol.* **149**, 1138 (1955).

⁹ E. A. JOHNSON, *J. Pharmacol. exp. Therap.* **117**, 237 (1956).

¹⁰ E. M. VAUGHAN WILLIAMS, *Brit. J. Pharmacol.* **13**, 276 (1958).

¹¹ M. GOTO und J. SHIWACHI, *Jap. J. Physiol.* **10**, 547 (1960).

¹² T. HOSHIKO und N. SPERELAKIS, *Amer. J. Physiol.* **201**, 873 (1961).

¹³ M. GOTO und T. TAMAI, *Modern Aspects of the Electrophysiology of Involuntary Muscles* (Japanisch), (Kinpodo, Tokyo 1960).

¹⁴ S. IMAI, *Jap. J. Physiol.* **11**, 54 (1961).