

vesicles. Only when the cocaine concentration is increased to $10^{-3}M$, is the uptake (and exchange) slightly or moderately inhibited. It is hard to conceive that an effect requiring a concentration of that order should be of pharmacological significance in vivo, considering the doses which elicit characteristic effects. The weak effect of cocaine on the release and uptake mechanisms in storage vesicles is in keeping with the observations of BLAKELEY, BROWN, and FERRY⁸ that cocaine did not alter the NA outflow from the cat spleen on repeated stimulation of its nerves. The inhibition of NA uptake observed in vivo and in vitro by many authors is therefore probably due to cocaine actions at other than the specific storage sites. Since cocaine is a membrane stabilizer it appears likely that its action is on axon membranes, thereby reducing the passage of NA into the specific axon stores⁹.

Zusammenfassung. Die Ergebnisse sprechen nicht dafür, dass die durch Cocain bedingte Hemmung der Nor-adrenalin-aufnahme an die Granula gebunden ist. Es ist anzunehmen, dass diese vielmehr an die Axonmembrane verlegt ist.

U. S. VON EULER and F. LISHAJKO

Department of Physiology, Karolinska Institutet, Stockholm (Sweden), January 25, 1965.

⁸ A. G. H. BLAKELEY, G. L. BROWN, and C. B. FERRY, *J. Physiol.*, Lond. 167, 505 (1963).

⁹ This work has been supported by grant NA 04432-02 from the United States Public Health Service and by the Swedish Medical Research Council; Project No. 14X-97-01.

Modifications de la glycémie et des groupements -SH du sang des Lapins durant le reflexe de l'orientation

On sait que l'organisme animal répond aux actions des facteurs environnants, non seulement par des réactions spécifiques, mais aussi par des réactions générales. Ces dernières sont de nature métabolique et sont provoquées par le système nerveux végétatif^{1,2}. Elles assurent la base trophique de ces réactions et peuvent être englobées dans la notion classique du syndrome adaptatif de SELYE³, qui peut être considéré comme l'expression du reflexe d'orientation, largement étudié par les neurologistes.

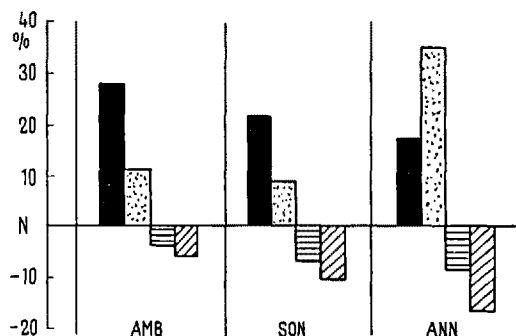
SOUTHWICK⁴, GOLLENDER, LAW et JAKSON⁵ constatent qu'un simple changement du milieu ambiant provoque une baisse évidente des éosinophiles sanguines. IVES et DACK⁶ montrent une leuco- et une lymphocytose et USIEVITCH⁷ une hyperglycémie du sang des chiens simplement introduits dans la chambre d'expériences. WELTMANN⁸, TAPP et MARKOWITZ⁹ signalent, après des manipulations répétées des rats durant trois mois, une augmentation du poids du corps, du cerveau, des surrénales et de la rate, ainsi qu'une baisse de l'activité cholinestérasique. BLOCK¹⁰ montre des modifications essentielles dans la composition cathionique du plasma, après l'immobilisation des chèvres. KRAMOVA et VOROBIOVA¹¹, à la suite des reflexes conditionnés démontrent une hyperexcitabilité corticale envers des doses minimales de certaines substances.

Nous avons déterminées la glycémie et les groupements -SH du sang, chez des lapins pendant l'installation et pendant la disparition du reflexe d'orientation à une nouvelle ambiance et au son. La nouvelle ambiance était la cage de l'actographe située dans le laboratoire, auquel nous avions déjà accoutumé l'animal. Le son était provoqué par une simple sonnerie électrique. Au préalable nous avons fait des analyses du sang par des prises effectuées à des intervalles de 45 min et seulement quand les résultats étaient constants, nous avons passé à la production du reflexe d'orientation proprement dite en introduisant l'animal dans la cage. Nous avons fait 58 expériences et les résultats ont été statistiquement calculés. La Figure représente la moyenne de ces résultats.

L'introduction de l'animal dans sa nouvelle ambiance détermine une augmentation significative de la glycémie

(+ 27%) et des groupements -SH non-protéiques (+ 10,4%), mais une baisse des groupements -SH totaux et protéiques du sang (- 4 à - 6,5%).

L'excitant sonore provoque des modifications semblables de la glycémie et des groupements -SH non-protéiques mais de moindre amplitude, tandis que la baisse des groupements -SH totaux et protéiques est plus grande.



Les variations en % de la glycémie (en noir), des groupements -SH non-protéiques (pointillés), -SH total (hachures horizontales) et -SH protéiques (entrecroisés) dans le sang des lapins pendant l'installation du reflexe d'orientation provoqué par une nouvelle ambiance (AMB), ou par une sonnerie (SON) et après l'accoutumance de l'animal (ACC).

¹ A. E. PORA et M. POP, *Studia Univ. Babes-Bolyai, ser. biol.* fasc. 2, 139 (1963).

² V. V. SUCICOV, *Fiziol. Journ. SSSR* 47, 196 (1961).

³ H. SELYE, *Practitioner* 172, 1027 (1954).

⁴ C. H. SOUTHWICK, *Ecology USA* 40, 156 (1959).

⁵ M. GOLLENDER, O. T. LAW et R. L. JAKSON, *J. comp. Physiol. Psychol.* 53, 520 (1960).

⁶ M. IVES et G. M. DACK, *Lab. clin. Med.* 47, 723 (1956).

⁷ M. A. USIEVITCH, *Jurn. Viskh. Nervn. Delat. SSSR* 7, 177 (1957).

⁸ A. S. WELTMANN et al., *J. appl. Physiol.* 16, 587 (1961).

⁹ J. T. TAPP et H. MARKOWITZ, *Science* 1963, 468.

¹⁰ J. D. BLOCK, *Science* 1958, 1056.

¹¹ A. A. KRAMOVA et A. A. VOROBIOVA, *Fiziol. Journ. SSSR* 46, 11 (1960).

L'accoutumance aux excitants étudiés s'effectue par la disparition des troubles respiratoires et des mouvements de l'animal dans la cage actographique, mais aussi par une augmentation marquée des groupements –SH non-protéiques (+ 35,8%) et une baisse accentuée des groupements –SH totaux et protéiques (– 12 à – 18,9%; $P < 0,01$). En ce qui concerne la glycémie, on assiste à une tendance continue vers la normale, mais même chez l'animal déjà accoutumé elle reste plus élevée (+ 13%) que la normale ($0,02 > P > 0,01$).

Nous ne pouvons pas encore donner une interprétation satisfaisante des phénomènes observés. Mais l'augmentation progressive des groupements –SH non-protéiques, pendant le déroulement d'accoutumance à un excitant nouveau, nous croyons pouvoir l'attribuer à la dénaturation réversible des protéines, phénomène décrit aussi par NASONOV¹² et UNGAR¹³.

En conclusion, nous avons constaté que le réflexe d'orientation à un nouvel excitant détermine une augmentation de la glycémie et des groupements –SH non-protéiques du sang, ainsi qu'une baisse des groupements

–SH totaux et protéiques. Pendant la disparition du réflexe d'orientation à la suite de l'accoutumance, les groupements –SH non-protéiques restent les plus affectés.

Summary. The orientation reflex, to a new milieu, causes increase of the glycemia and the non-protein –SH groups, and a diminution of the protein and total –SH groups of rabbit's blood.

E. A. PORA, MIRCEA POP,
et N. FABIAN

*Chaire de Physiologie animale de l'Université
de Cluj (Roumanie), le 21 décembre 1964.*

¹² D. N. NASONOV, *Réaction locale du protoplasma et transmission de l'excitation* (en russe) (Ed.: MEDGIZ, Moscou 1959).

¹³ G. UNGAR, *Le problème de l'évolution fonctionnelle et l'enzymochimie du procès de l'excitation* (en russe) (Ed.: MEDGIZ, Moscou 1961).

Transmitter Release in the Rat Diaphragm During Tetanic Nerve Stimulation

In curarized mammalian muscle several investigators have observed a progressive decline in repetitively evoked endplate-potentials (EPPs) from the onset of the tetanic stimulation period¹⁻³. As the sensitivity of the endplate membrane to acetylcholine (ACh) seems to be unchanged during short periods of repetitive transmitter action^{4,5}, and as the EPPs seem to be approximately proportional to the amount of transmitter liberated⁶, this amplitude reduction is usually presumed to indicate a diminution of the per impulse release of ACh from the nerve terminals^{4,7,8}. This has been interpreted as a physiologically significant phenomenon^{4,6}, a view which, however, has been called in question by NAESS⁹, since the decline in EPPs is seen in preparations pretreated with *d*-tubocurarine, a substance which seems to interfere with presynaptic events⁹⁻¹². (For a more detailed discussion see LILLEHEIL and NAESS⁹.) When high magnesium or low calcium concentrations are used to prevent the initiation of muscle contraction, there is on the contrary an initial potentiation of successive EPPs in a tetanic train. A reasonable explanation of this observation seems to be that, due to high magnesium and low calcium concentration, a smaller fraction of the available ACh is released by each impulse than in the normal or curarized preparation. The nerve terminals are thus spared for the serious transmitter depletion from which they probably suffer in curarized preparations^{5,8}. This hypothesis presupposes that the amount of available ACh is roughly the same in the different experimental situations mentioned. The mechanisms concerned with mobilization and release of transmitter are most probably influenced by the substances used. An attempt was therefore made to investigate tetanic series of EPPs without adding any modifying agents. This is described cursorily in the following.

Using the method first described by BARSTAD¹¹, in which the muscle fibres of an isolated rat diaphragm strip were cut transversally on either side of the endplate

region, it is possible within a limited time period (about 30–120 min after cutting) to make intracellular recordings of EPPs without the disturbing effect of muscle contractions (Figures 1, 2, and 3). The following criteria show that the recorded potentials really are EPPs: (i) Miniature-endplate potentials (mEPPs), indicating that the electrode is standing at or close to the endplate. (ii) Summation of two impulses in quick succession. (iii) Elongation of the potentials (Figure 3 B and C) after addition of an acetylcholinesterase-inhibitor (prostigmine).

Figure 1 shows recordings of indirectly evoked trains of EPPs at 50/sec (B) and 100/sec (C) lasting about 5 sec each. The initial phase of each train is characterized by a 10–20% fall in the EPP amplitude followed by a gradual increase, which to some extent depends on the stimulation frequency. On further stimulation there is a gradual decline in the amplitude of the EPPs, which reaches half the original value in about 5 min at a frequency of 50/sec (Figure 2).

It was checked at higher sweep velocity that no presynaptic failure¹³ was present. From fibre to fibre, only

¹ A. W. LILEY and K. A. K. NORTH, *J. Neurophysiol.* **16**, 509 (1953).

² A. LUNDBERG and H. QUILSCH, *Acta physiol. scand.* **30**, Suppl. 111, 111 (1953).

³ J. I. HUBBARD and W. D. WILLIS, *J. Physiol., Lond.* **163**, 115 (1962).

⁴ O. F. HUTTER, *J. Physiol., Lond.* **118**, 216 (1952).

⁵ M. OTSUKA, M. ENDO, and Y. NONOMURA, *Jap. J. Physiol.* **12**, 573 (1962).

⁶ J. C. ECCLES, *The Physiology of Synapses* (Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964).

⁷ J. C. ECCLES, B. KATZ, and S. KUFFLER, *J. Neurophysiol.* **4**, 363 (1941).

⁸ K. NAESS, *Acta pharmacol. toxicol.* **8**, 400 (1952).

⁹ G. LILLEHEIL and K. NAESS, *Acta physiol. scand.* **52**, 120 (1961).

¹⁰ W. F. RIKER JR., J. ROBERTS, F. G. STANDAERT, and H. FUJIMORI, *J. Pharmacol.* **121**, 286 (1957).

¹¹ J. A. B. BARSTAD, *Exper.* **18**, 579 (1962).

¹² J. I. HUBBARD and R. F. SCHMIDT, *Nature* **191**, 1103 (1961).

¹³ K. KRNEJEVIĆ and R. MILEDI, *J. Physiol., Lond.* **140**, 440 (1958).