

same appearance as after 6 days. When the compression had been made distal to the spinal ganglion, fibres with accumulated CA were found to run among nerve bundles that by-passed the ganglion cell bodies. The number of CA nerve fibres per root varied mainly between 25–50.

The present results strongly support the view that considerable numbers of CA nerve fibres leave the spinal cord via the ventral roots. These fibres derive in all probability from supraspinal centres, since no CA nerve cell bodies exist in the spinal cord⁴. For the first time, strong experimental evidence has been obtained that fibres arising in the brain descend in and leave the spinal cord without any relays on motoneurons or interneurons.

It has recently been postulated that inhibitory fibres to the peripheral sympathetic system pass down the spinal cord from the medulla oblongata and emerge via the sympathetic rami^{5,6}.

Zusammenfassung. Mit histochemischer Fluoreszenz-methode und Axotomie wird die Ansicht gestützt, dass

eine bestimmte Zahl von Nervenfasern, die von CA-Nervenzellen der supraspinalen Zentren stammen und entweder im Funiculus lateralis oder im Funiculus anterior des Rückenmarkes absteigen, das Rückenmark über ventrale Wurzeln verlassen und die Spinalganglien ohne Unterbrechung passieren.

A. DAHLSTRÖM and K. FUXE

Department of Histology, Karolinska Institutet, Stockholm (Sweden), February 12, 1965.

⁵ L. BECK, *Tex. Rep. Biol. Med.* 22, 375 (1964).

⁶ Acknowledgments: For the generous supply of reserpine we are indebted to the Swedish Ciba, Stockholm, Sweden (Serpasil®). – This study has been supported by grants (Y 247 and 428) from the Swedish Medical Research Council, the Knut and Alice Wallenberg Foundation and by the Public Health Service Research Grant (NB 05236-01) from the National Institute of Neurological Diseases and Blindness.

Wirkung des Chinidins auf die oxydative Phosphorylierung und auf den K-Gehalt in den Mitochondrien des Herzmuskels

Die Bedeutung der Variationen der intra- und extrazellulären Konzentration der Kaliumionen für die experimentelle Induktion des Flimmerns in isolierten und überlebenden Herzvorkammern von Säugetieren ist bekannt¹. Man kann feststellen, dass jeweils dann Flimmern auftritt, wenn die Kaliumkonzentration im Aussenmedium unter einen gewissen kritischen Wert fällt (1,4 mM/l).

Untersuchungen über die Wirkung des Chinidins bei der Wiederherstellung des normalen Sinusrhythmus beim Atriumflimmern lassen annehmen, dass diese Substanz die Durchlässigkeit der Zellmembran für Kalium und wahrscheinlich auch für Natrium verändert, was eine Strömungsabnahme der Ionen gegen das Äussere und Innere der Herzmuskelzelle zur Folge hat^{2,3}. Chinidin in 10⁻⁶ g/ml-Konzentration vermindert die Frequenz und Amplitude der normalen Kontraktionen der isolierten Vorkammern in progressiver Weise bis zum Stillstand. ARMITAGE et al.^{4,5} haben beobachtet, dass die Kontraktionen allmählich wieder auftraten, wenn die Kaliumkonzentration im Perfusionsmedium der Vorkammern (5,6 mM/l) auf die Hälfte oder einen Viertel verringert, und dadurch der Abfluss des intrazellulären Kaliums begünstigt wurde. KÄRKI et al.⁶ haben diese Beobachtungen über die Wirkungsweise des Chinidins auch bei anderen biologischen Systemen bestätigt, so bei isolierten und in Ringerlösung suspendierten Erythrocyten, in welchen Chinidin die Durchlässigkeit der Zellmembran gegen Kalium vermindert hat. Nach GOODFORD und VAUGHAN WILLIAMS⁷ verursacht Chinidin allerdings keine Veränderung des intrazellulären Kaliums, sondern es trägt nur dazu bei, die ursprüngliche Konzentration aufrecht zu erhalten. Die Autoren behaupten, dass die Wirkung des Chinidins gegen das Flimmern nicht der direkten Induktion der intrazellulären Na- und K-Konzentration zugeschrieben werden kann, auch wenn diese Substanz

die Permeabilität der Zellmembran gegenüber diesen Ionen verändert oder irgendwie auf die Mechanismen wirkt, welche die intrazelluläre Ionenkonzentration auf physiologischen Werten halten. Auf Grund der Arbeiten von MUDGE⁸, MACFARLANE und SPENCER⁹, BARTLEY und DAVIS¹⁰, BARTLEY et al.¹¹ und PRICE et al.¹² ist anzunehmen, dass die Mitochondrien neben ihrer Bedeutung für Zellatmung und oxydative Phosphorylierung auch eine wichtige Rolle bei sekretorischen Funktionen und beim Ionenaustausch der Zelle spielen. HOLLAND und DUNN¹³ und ULRICH¹⁴ haben zahlreiche Substanzen mit pharmakodynamischer Aktivität untersucht, sowie gewisse metabolische Inhibitoren, die ihre Wirkung ausser auf die Zellmembran, auch auf die Mitochondrien ausüben und vielleicht deren Kontrollmechanismen für die Übertragung der Kalium- und Natriumionen ausserhalb und innerhalb der Zelle verändern. SCHREIBER et al.¹⁵ behaupten ihrerseits, dass man den Mitochondrien nicht mit

¹ W. C. HOLLAND und J. H. BURN, *Br. med. J.* 7, 1031 (1957).

² W. C. HOLLAND, *Am. J. Physiol.* 190, 492 (1957).

³ A. K. ARMITAGE, *Br. J. Pharmac.* 12, 74 (1957).

⁴ A. K. ARMITAGE, J. H. BURN und A. J. GUNNING, *Circulation Res.* 5, 98 (1957).

⁵ A. K. ARMITAGE, J. H. BURN und A. J. GUNNING, *Br. J. Pharmac.* 12, 215 (1957).

⁶ N. KÄRKI, G. P. BURN und J. H. BURN, *Lancet* 272, 565 (1957).

⁷ P. J. GOODFORD und E. M. VAUGHAN WILLIAMS, *J. Physiol.* 160, 483 (1962).

⁸ G. H. MUDGE, *Am. J. Physiol.* 167, 206 (1951).

⁹ M. G. MACFARLANE und A. G. SPENCER, *Biochem. J.* 54, 569 (1953).

¹⁰ W. BARTLEY und R. E. DAVIES, *Biochem. J.* 57, 37 (1954).

¹¹ W. BARTLEY, R. E. DAVIES und H. A. KREBS, *Proc. R. Soc., London, ser. B*, 142, 187 (1954).

¹² C. A. PRICE, A. FONNESU und R. E. DAVIES, *Biochem. J.* 64, 754 (1956).

¹³ W. C. HOLLAND und C. E. DUNN, *Am. J. Physiol.* 179, 486 (1954).

¹⁴ F. ULRICH, *Am. J. Physiol.* 198, 847 (1960).

¹⁵ S. S. SCHREIBER, M. ORATZ und M. A. ROTHSCHILD, *Am. J. Physiol.* 198, 89 (1960).

Oxydative Phosphorylierung (P:O) und K-Gehalt in den Mitochondrien des Herzmuskels des Kaninchens unter Einfluss der Dehydrochinidin-salzsäure (DHC). Gasraum: Luft. Substrat: α -Ketoglutarat. Arbeitstemperatur: 37,5°C. Mitochondrialer Stickstoff pro Gefäss: ca. 0,25 mg (°) (mg K/ml intramitochondriales Wasser)/(mg K/ml Inkubationsmedium)

System	μ M P verestert per mg Mitoch.-N	μ Atom O ₂ verbraucht per mg Mitoch.-N	P:O	K-Gehalt mg per mg Mitoch.-N	Verteilungs- Quotient (°)
Mitochondrien allein nach 35 min Inkubation	63,3	24,0	2,63	1,013	3,00
Mitochondrien + 10 ⁻⁴ M DHC nach 35 min Inkubation	62,5	24,2	2,58	1,288	3,84
Mitochondrien + 10 ⁻³ M DHC nach 35 min Inkubation	30,4	11,9	2,55	1,288	3,84

Bestimmtheit eine Funktion im Ionentransport zuschreiben kann, und betonen die Abhängigkeit der Ergebnisse teilweise von den angewandten Techniken und den äusserst veränderlichen experimentellen Bedingungen.

Gestützt auf Ergebnisse von GRISOLIA¹⁶ und eigene Experimente über die Wirkung des Chinidins auf die oxydative Phosphorylierung in den Mitochondrien des Herzmuskels von Säugetieren war festzustellen, ob diese Substanz in Gegenwart von ATP, Glukose, Hexokinase und eines oxydierbaren Substrats auch auf den K-Gehalt in den Mitochondrien wirkt.

Material und Methodik. Mitochondrien von der Herzkammer des Kaninchens wurden nach Angabe von SCHNEIDER und HOGEBOM¹⁷ bei +4°C durch fraktionierte Zentrifugation isoliert. Der pH des Aussenmediums (0,3 M Saccharose und 0,01 M Äthylendiamintetraacetat) war 6,8. Die Werte der oxydativen Phosphorylierung (P:O Quotienten) erhielten wir nach der Methode von ALDRIDGE¹⁸, indem wir die Mitochondrien in dem vom Autoren angegebenen Medium inkubierten und als Substrat α -Ketoglutarat in einer 10⁻² M Endkonzentration verwendeten. Der totale Kaliumgehalt des Mediums war 6,12 mg/ml. In einigen Inkubationsgefässen wurde Chinidin in Form von Dehydrochinidin-salzsäure (DHC, Houdé Laboratories, Paris) in 10⁻⁴ M und 10⁻³ M Endkonzentration beigelegt (Tabelle). Der Mitochondrienstickstoff wurde durch Nesslerisation¹⁹, das anorganische Phosphat nach der Methode von FISKE und SUBBAROW²⁰ bestimmt. Die Mitochondrien wurden den Warburggefässen nach einer kompressiven Inkubationszeit von 35 min entnommen (15 min für den Wärmeausgleich auf 37,5°C, Zugabe der Glukose und Hexokinase und 20 min Inkubation). Das Kalium, welches die Mitochondrien am Ende der Inkubation enthalten, wurde nach den Angaben von HOLLAND und DUNN¹³ bestimmt. Die Ionendosierung wurde mit dem Flammenphotometer Lange M 6a ausgeführt. Vor und nach jeder Messung wurde eine Standardlösung gemessen. Im ganzen wurden 12 Experimente durchgeführt, und die Resultate eines typischen Experimentes sind in der Tabelle zusammengestellt.

Ergebnisse. Die Tabelle zeigt, dass der Sauerstoffverbrauch und die Veresterung des anorganischen Phosphates, welche bei der Zugabe von 10⁻⁴ M Chinidin unverändert bleiben, bei der 10⁻³ M Endkonzentration vermindert, aber nicht entkoppelt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen von GRISOLIA¹⁶ überein, welche er unter analogen Bedingungen erhielt. Das Vorhandensein von 10⁻⁴ M-DHC im Inkubationsmedium erhöht den intramitochondrialen K-Gehalt, dessen Konzentration im Vergleich zur Kontrolle ohne Chinidin um ungefähr 21% zunimmt. Die Zugabe von 10⁻³ M-DHC beeinflusst die intramitochondriale K-Konzentration nicht weiter. In der Tabelle wurden auch die Quotienten zwischen dem

intra- und extramitochondrialen K-Gehalte, mit und ohne Chinidin, angegeben.

Diskussion. Die Zunahme des intramitochondrialen K-Gehaltes zeigt sich sowohl mit 10⁻⁴ M-DHC, welches die oxydative Phosphorylierung nicht verändert, als auch mit 10⁻³ M-DHC, welches den Sauerstoffverbrauch und die Phosphorveresterung vermindert, ohne sie zu entkoppeln. Diese Ergebnisse sind erklärlich, wenn man bedenkt, dass die Energie, einbegriffen diejenige, welche für den Ionentransport nötig ist, in grossem Übermass produziert wird; folglich kann die Zunahme des intramitochondrialen K auch in einem System erfolgen, in welchem die oxydative \sim P-Zuführung nicht normal wirkt.

Obwohl diese Ergebnisse, im Hinblick auf die verschiedenen angewandten Methoden, nicht direkt miteinander verglichen werden können, stimmen sie doch mit denjenigen der Autoren überein, die behaupten, dass das Chinidin den Ionenabfluss aus den Zellen verhindern kann, und annehmen, dass die intrazelluläre K-Retention wenigstens teilweise auf eine DHC-abhängige, mitochondriale Tätigkeit bezogen werden könnte. Der Mechanismus selber, durch welchen das Chinidin wirkt, ist noch unbekannt.

Riassunto. L'azione della diidrochinidina sulle fosforilazioni ossidative e sul contenuto di potassio nei mitocondri di cuore di coniglio è stata studiata con tecnica manometrica. Si osserva che tale sostanza deprime ma non dissocia la fornitura ossidativa del fosforo inorganico e che determina un aumento del contenuto di potassio nei mitocondri. Tale dato concorda con i risultati degli studi sul meccanismo d'azione della chinidina e suggerisce che questa sostanza provochi una ritenzione di potassio anche nei mitocondri oltre che nella cellula integra.

W. PIERPAOLI,
G. PACE und R. GRISLER

*Istituto di Patologia Generale, Università di Milano,
Centro di Studio per la Patologia Cellulare del Consiglio
Nazionale delle Ricerche und Clinica del Lavoro
«L. Devoto», Milano (Italia), 18. Januar 1965.*

¹⁶ S. GRISOLIA, *Biochim. biophys. Acta* 18, 437 (1955).
¹⁷ W. C. SCHNEIDER und G. H. HOGEBOM, *J. biol. Chem.* 183, 123 (1950).
¹⁸ W. N. ALDRIDGE, *Biochem. J.* 67, 423 (1957).
¹⁹ W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS und J. F. STAUFFER, *Manometric Techniques* (Burgess Publishing Co., Minneapolis 1959), p. 268.
²⁰ C. H. FISKE und Y. SUBBAROW, *J. biol. Chem.* 66, 375 (1925).