

and its non-collagen protein content was determined³ after extraction with alkali⁴.

Assays for M and H LDH, for each specimen, were run in two reagents containing either 1.0 or 20.0 mM pyruvate. Both reagents contained 2.0 mM reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) in 0.1 M Tris buffer, pH 7.5. The oxidized dinucleotide (NAD⁺) formed in the reaction was measured fluorometrically⁵. The activity of the M and H LDH was estimated from the ratio between the amounts of NAD⁺ formed in the low and the high pyruvate containing reagents².

The results obtained appear in the Table. When compared with the contralateral muscle, the denervated one shows a significant fall in the activity of both the H ($P < 0.01$) and M ($P < 0.05$) forms. However, when compared with the normal controls, no such fall for the M form is seen. In fact the value appears to be higher for the denervated than for the control muscle, although this difference is not significant at the 5% level. On the other hand, there is a significant increase ($P < 0.01$) in the M LDH activity of the contralateral muscle, when compared with the normal controls.

H and M forms of LDH in soleus muscle from the denervated hind leg of rabbit, from the contralateral leg, and from normal controls. Enzyme activity expressed as moles of pyruvate reduced per kg of soleus non-collagen protein per h of incubation

Soleus	LDH activity $\pm$ SEM	
	H	M
Denervated	38 $\pm$ 2.2	29 $\pm$ 3.1
Contralateral	81 $\pm$ 8.7	39 $\pm$ 2.8
Normal control	86 $\pm$ 3.6	24 $\pm$ 2.2

From these results, it appears that rabbit soleus H LDH decreases as a result of denervation, whereas M LDH does not. On the other hand, M LDH increases in the contralateral muscle, possibly due to increased use of the intact extremity. A centrally mediated mechanism, through the trophic influence of the uninterrupted nerve, cannot be discarded. Our findings indicate the necessity of using unoperated animals as controls for denervation studies. If contralateral muscles from the operated animals are used instead, some of the changes detected may be falsely attributed to the effects of denervation⁶.

Riassunto. Sono state studiate le due forme principali (M e H) della deidrogenasi lattica nel muscolo soleo della gamba enervata e di quella del lato opposto, nel coniglio. Animali non operati servirono come controlli. La forma H, che predomina nel soleo normale, sperimentò una notevole diminuzione dopo enervazione. La forma M non sperimentò modificazione nel soleo enervato, ma aumentò in quello del lato opposto.

L. GARCIA-BUÑUEL,
VIRGINIA M. GARCIA-BUÑUEL, and L. GREEN

Department of Neurology, Jefferson Medical College,
Philadelphia (Pennsylvania USA), October 25, 1965.

³ O. H. LOWRY, N. J. ROSENBROUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL, *J. biol. Chem.* 193, 265 (1951).

⁴ J. L. LILIENTHAL, K. L. ZIERLER, B. P. FOLK, R. BUKA, and M. J. RILEY, *J. biol. Chem.* 182, 501 (1950).

⁵ O. H. LOWRY, N. R. ROBERTS, and J. I. KAPPAHAN, *J. biol. Chem.* 224, 1047 (1957).

⁶ This study was aided by a grant from the National Foundation for Neuromuscular Diseases, Inc.

Über einige vegetative Reaktionen nach Geruchsreizen beim Menschen¹

Im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen über vegetative Reaktionen nach olfaktorischen Reizen² prüften wir auch die Änderungen des elektrischen Hautwiderstandes beim Menschen gleichzeitig mit dem Carotispuls und der Atmung. Die bisherigen Ergebnisse auf diesem Gebiet zeigen, dass Reize verschiedener Modalität zu Reaktionen führen, doch ist, insbesondere nach olfaktorischen Reizen, der Zusammenhang zwischen Reiz und Reaktion in zeitlicher und quantitativer Hinsicht nicht hinreichend geklärt³.

Wir registrierten den Hautwiderstand (Gerät der Fa. Stoelting, Chicago) einerseits in seiner absoluten Grösse, andererseits allein die Änderungen aus einer relativen Ruhehöhe, weiter den Carotispuls und die Atmung pneumatisch-elektrisch mit einem selbstentwickelten Aufnahmegerät, dessen Ströme verstärkt und mit einem Oscilloscript (Philips) aufgezeichnet wurden. Die Duftreize wurden aus einem Strömungsolfaktometer (NEUHAUS⁴) gegeben, was genaue Konzentrationsangaben ermöglichte. Die Versuchsperson (VP) ruhte entspannt mit

verbundenen Augen auf einer Liege. Als Duftstoffe wurden Buttersäure, Skatol und Muskinon verwendet.

Für die absolute Höhe des Hautwiderstandes sei folgendes Beispiel angeführt: Nach einem Reiz von 8 sec Dauer in einer Stärke von $7,7 \cdot 10^{13}$ Molekülen Buttersäure/cm³ Luft verändert er sich zunächst kaum und sinkt erst 6 sec nach Reizbeginn in 1 sec von etwa 20 000 Ω um 5800 Ω ; danach nimmt er langsam wieder zu. Erst nach etwa 3½ min ist die Ausgangshöhe wieder erreicht. In manchen Fällen steigt der Widerstand danach weiter und

¹ Die Untersuchungen wurden teilweise durch das «European Research Office» des «Office, Chief of Research and Development, US Department of the Army», unterstützt.

² W. NEUHAUS, *Münch. Med. Wschr.* 97, 1752 (1961).

³ ST. J. BORSANYI und C. L. BLANCHARD, *Ann. Otol., Rhinol., Laryngol.* 71, 1 (1962). – ST. J. BORSANYI und F. J. BAKER, *Bull. Univ. Maryland* 47, 1 (1962). – U. EBBEKE, *Pflüger's Arch. ges. Physiol.* 190, 230 (1921). – C. P. RICHTER, *Brain* 53, 178 (1930). – J. TARCHANOFF, *Pflüger's Arch. ges. Physiol.* 46, 46 (1890). – O. VERAGUTH, *Das psychogalvanische Reflexphänomen* (Karger, Berlin 1909).

⁴ W. NEUHAUS, *Z. vgl. Physiol.* 38, 238 (1956).

kehrt erst spät in die Anfangslage zurück. Kurven solcher Art sind nicht leicht zu deuten, da die absoluten Widerstandswerte bei ein und derselben VP nicht gleichmässig bleiben. Figur 1 zeigt bei automatisch eingestellter Nulllage die Änderungen des Widerstandes in jeweils 1,5 sec. Sehr langsame Änderungen werden kompensiert. Charakteristisch für Reize, die mindestens eine mittlere Stärke erreichen ist (1) eine verhältnismässig schwache Verkleinerung des Widerstandes kurz nach Reizbeginn und (2) eine erheblich stärkere nach 20–40 sec, was der oben erwähnten schnellen Widerstandserniedrigung entspricht. Setzt man die Widerstandsänderung in Beziehung zur Reizhöhe, so zeigt sich im Bereich des minimum perceptibile (Buttersäure $2-9 \cdot 10^9$) überhaupt keine Änderung, auch bei einer Reizdauer von 1,5 min. Erst bei etwa 100-facher Schwellenkonzentration ändert sich der Widerstand, allerdings meist verhältnismässig schwach, bei der gleichen VP in günstiger Sensibilitätslage schon bis

– 2000 Ω . Mit der Duftkonzentration steigt auch das Ausmass der schnellen Widerstandsänderung; gleichzeitig ist die Latenz meist verkürzt. Figur 1a: Bei einer Konzentration von $4 \cdot 10^{12}$ tritt nur eine Änderung von etwa – 800 Ω auf. Figur 1b: $4\frac{1}{2}$ min später bei einer Konzentration von $8 \cdot 10^{12}$ beträgt diese dagegen fast – 3800 Ω . Figur 1c: Die Konzentration von $2,4 \cdot 10^{13}$ ruft unmittelbar nach Reizbeginn (VP in Inspiration) schon eine kleine Änderung hervor, der nach 5 sec ein steiler Abfall mit einem ersten Minimum bei – 4200 Ω und kurz darauf einem zweiten bei – 3000 Ω folgt. Diese doppelten Ausschläge treten nur bei starken Duftreizen auf und bedeuten einen Abfall in zwei Stufen, in unserem Fall um insgesamt über 7000 Ω , der durch die automatische Kompensation getrennt wird. Mit Skatol und Muskinon erhält man ähnliche Ergebnisse.

Die Änderungen des Atemrhythmus und des Carotispulses sind weniger auffällig und regelmässig. Die zum

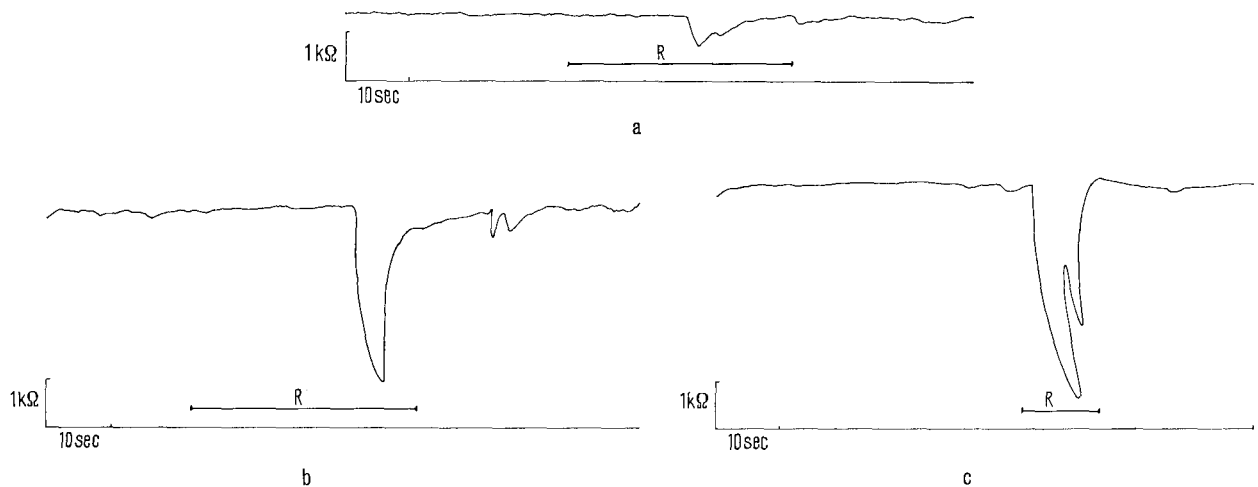


Fig. 1. Änderungen des Hautwiderstandes aus relativer Nulllage nach Buttersäurereizen verschiedener Konzentration.

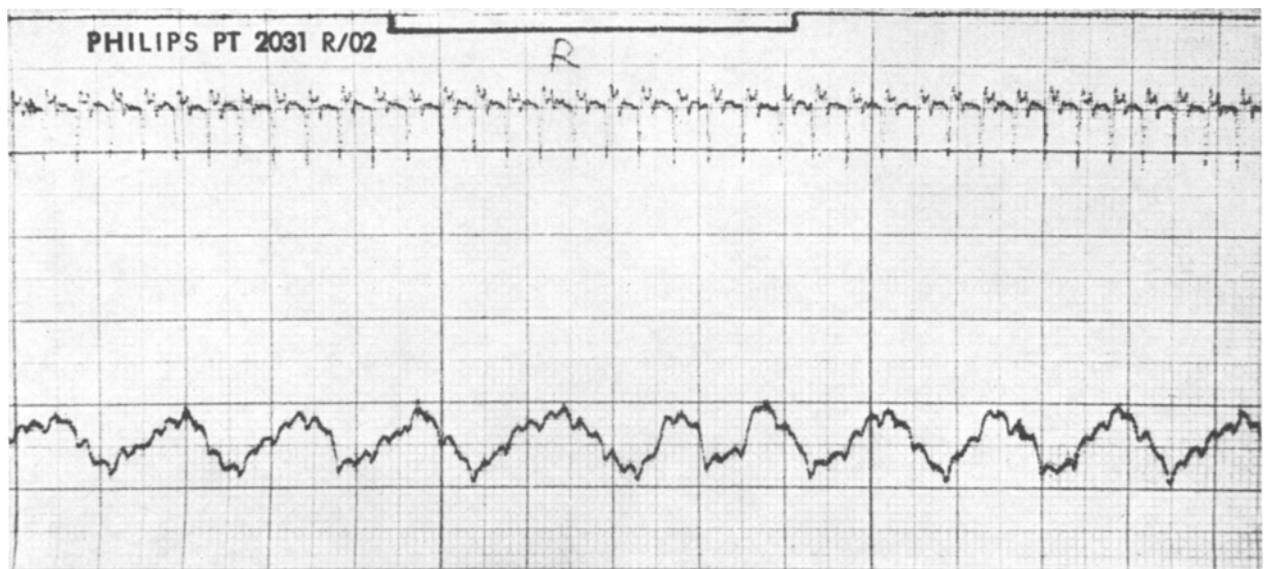


Fig. 2. Atemrhythmus (unten) und Carotispuls (oben) bei Buttersäurereiz.

gleichen Reiz wie in Figur 1c gehörende Aufzeichnungen (Figur 2) zeigt deutlich die nach Reizbeginn veränderte Atmung in einem verlängerten und danach zwei verkürzten Atemzügen. Im Carotispuls sind in diesem Fall keine sicheren Änderungen nachzuweisen. In anderen stiegen Blutdruck und Pulsfrequenz kurz an um wenige Prozent.

Misst man mit unpolarisierbaren Zn-ZnSO₄-Elektroden statt des Hautwiderstandes die zwischen der Innenseite des zweiten und dritten Fingers auftretenden elektrischen Potentialänderungen, so erhält man durchaus entsprechende Befunde. Nach Duftreizen steigt das Potential an um etwa $1 \cdot 10^{-5}$ V und kehrt nach 10–20 sec in die Ruhelage zurück, auch wenn der Reiz länger anhält.

Alle mitgeteilten Erscheinungen sind von äusseren Umständen, z.B. Beunruhigung durch Geräusche, sowie durch Innenfaktoren, z.B. psychischer Erregung und innerer Spannung nach längerer Versuchsdauer, abhängig. In schematischer Deutlichkeit zeigen sie sich nur, wenn die erwähnten Störungen fehlen.

Wie schon frühere Versuche an Gänsen (NEUHAUS⁵), zeigen sich auch beim Menschen die engen Beziehungen

zwischen olfaktorischer Perzeption und vegetativem System, was den neuromorphologischen Verhältnissen entspricht. Eine ausführliche Darstellung und Diskussion folgt an anderer Stelle.

Summary. The galvanic skin response in man has been found to be altered by olfactory stimuli. A reduction in skin resistance, which is dependent upon the strength of the stimulus, can be seen after a few seconds, returning to the original level after several minutes. Respiratory rate, blood pressure, and pulse rate are likewise influenced.

W. NEUHAUS und D. M. GOLDENBERG

Zoologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Deutschland), 23. Juli 1965.

⁵ W. NEUHAUS, *Olfaction and Taste* (Pergamon Press, 1963), p. 111.

Cytotoxicity of Pederin and Some of its Derivatives on Cultured Mammalian Cells

Pederin is a compound obtained in small amounts from *Coleoptera staphylinidae* of the genus *Paederus* (PAVAN and BO^{1,2}), whose chemical structure, recently identified by CARDANI et al.³, is given in Figure 1.

Besides a strong vesicatory action, pederin has some interesting biological properties: very low doses of this compound slow down the growth of tumours induced by chemical agents in *Lupinus albus*, as well as of Sarcoma 180 in the mouse, and cause peculiar chromosomal alterations in the meristem of *Allium coepta* radical apex where the metaphases are arrested before the formation of the spindle (PAVAN⁴).

Pederin and some of its derivatives – pseudopederin, dihydropederin, and dihydropseudopederin³ (Figure 1) – have been studied on normal cell cultures (mouse embryo and dog kidney cells) and tumoural ones (HeLa and KB strains). These compounds have been employed at different concentrations (from 50 to 0.0001 µg/ml) and for different periods of time (from 1–48 h).

The results obtained on HeLa cells are reported in the Table. Cell cultures treated with these compounds at concentrations of 0.001 µg/ml for 1 or 2 h show an almost complete disappearance of mitosis and particularly the absence of prophase. After 24–48 h of treatment with pederin and its derivatives, a decrease of the growth rate of all the cell cultures tested, inhibition of mitosis, fragmentation of nuclear chromatin in more or less tiny granulations and cytoplasmic alterations (burst, vacuolization) were observed. Nevertheless, near to these cells so severely affected by these agents, a few normal cells can be detected.

Pseudopederin and dihydropseudopederin show an activity and toxicity lower than pederin, being active at doses 10 and 100 times higher (0.01–0.1 µg/ml respectively). The dihydropederin inhibits the mitosis as the pederin does (Figures 4–6) but it is less toxic, determining cytological alterations partially reversible and not as severe as those produced by the same amounts of pederin. The different cellular types have a different sensitivity to

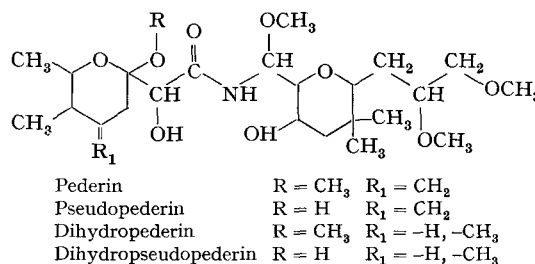


Fig. 1. Chemical structure of pederin.

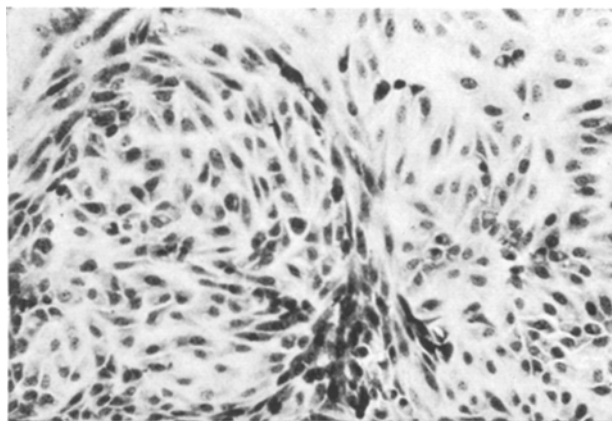


Fig. 2. Dog kidney cell cultures. Control. May-Grünwald-Giemsa. $\times 100$.

¹ M. PAVAN and G. BO, *Physiologia comp. Oecol.* 3, 307 (1953).

² M. PAVAN and G. BO, *Memorie Soc. ent. ital.* 31, 67 (1952).

³ C. CARDANI, D. GHIRINGHELLI, R. MONDELLI, and A. QUILICO, *Tetrahedron Lett.* 29, 2537 (1965).

⁴ M. PAVAN, *Ricerche biologiche e mediche su Pederina e su estratti purificati di Paederus fuscipes Curt.* (Coleoptera staphylinidae) (Industrie lito-tipografiche Mario Ponzio, Pavia 1963).