

Summary

The authors discovered the sensitivity of the gold hamster to tubercle bacillus B.C.G. in 1951. Continuing their experiments with different rodents which are not usually employed in the laboratory, they have shown that *Spermophilus citellus* is also sensitive not only to the human and bovine type of tubercle bacillus but also to B.C.G. bacillus.

Der Einfluss von Myleran auf die Keimdrüsen von Ratten

Myleran ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_2\text{CH}_3$) wurde kürzlich von HADDOW und TIMMIS¹ als Zytostatikum beschrieben. Dank seinem besonders stark hemmenden Effekt auf die Granulopoese erwies sich Myleran bei chronisch-myeloischen Leukämien als ein wirksames Medikament (GALTON², BOLLAG³). Wir möchten hier auf eine Nebenwirkung von Myleran aufmerksam machen. Unsere erste mit Myleran behandelte 42jährige Patientin mit chronischer myeloischer Leukämie wurde nach 8wöchiger Medikation amenorrhöisch und blieb es seither (1½ Jahre Beobachtungszeit). Wir haben deshalb Tierversuche vorgenommen, um die Frage der Schädigung der Keimdrüsen durch Myleran abzuklären.

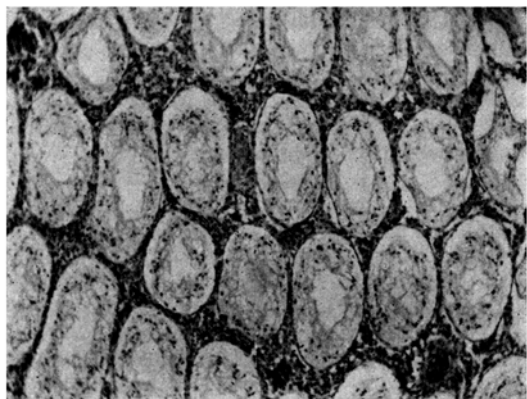


Abb. 1. Testis von Ratte, 2 × 2 mg Myleran injiziert. Nach 150 Tagen Keimepithel völlig zerstört. Hämalaun-Eosin. Vergrößerung 90:1.

A. Wirkung von Myleran auf die männlichen Keimdrüsen. 6 männliche weisse Ratten von 180 g Gewicht erhielten eine einmalige intraperitoneale Injektion von 2 mg in Arachidöl gelöstem Myleran. Die Tiere wurden nach 2 bzw. 4 Wochen getötet. Die histologische Untersuchung des Testes ergab noch eine normale Spermiogenese. Weiteren 10, 180 g schweren männlichen Ratten injizierten wir im Abstand von 2 Wochen je 2 mg Myleran intraperitoneal. Je 2 Tiere wurden nach 30, 60, 90, 120 bzw. 150 Tagen getötet und histologisch untersucht. 30 Tage nach der ersten Injektion war bereits eine Verringerung der Anzahl der Zellschichten in den Tubuli contorti zu verzeichnen. Nach 60 Tagen waren keine Spermatozoen mehr vorhanden. An die Membrana propria schlossen sich nur noch 2–3 Schichten von Spermatogonien und Spermatozyten an. Im Zentrum fanden sich vereinzelte multinukleäre Riesenzellen. Nach 90 Tagen war das Keimdrüsengewebe

auf eine einzige Schicht von Zellen mit pyknotischen Kernen reduziert. 120 und 150 Tage nach der ersten Injektion von Myleran waren die Testes auf die Hälfte ihrer üblichen Grösse zusammengeschrumpft. Das Keimepithel war völlig zerstört. Die Tubuli contorti waren von einem Schwammgerüst mit einzelnen Bindegewebszellen ausgefüllt. Das interstitielle Gewebe zeigte eine mässige Zellvermehrung (Abb. 1).

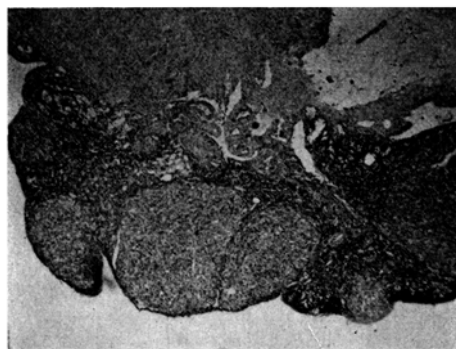


Abb. 2. Ovar von Ratte, 3 × 2 mg Myleran injiziert. Nach 100 Tagen keine Follikel mehr. Hämalaun-Eosin. Vergrößerung 40:1.

B. Wirkung von Myleran auf die weiblichen Keimdrüsen. Je 5 weibliche, 180 g schwere weisse Ratten erhielten 1 bzw. im Abstand von 2 Wochen 2 intraperitoneale Injektionen von 2 mg Myleran. Weder nach 2 noch nach 4 Wochen konnten in den Ovarien histologische Veränderungen festgestellt werden. 9 weitere gleich schwere weibliche Tiere wurden innert 4 Wochen 3mal mit je 2 mg Myleran injiziert. Je 3 Ratten wurden 60, 80 bzw. 100 Tage nach der ersten Injektion getötet und histologisch untersucht. In den Ovarien konnte man nach 60 Tagen noch einzelne Oozyten bzw. Follikel sehen. Nach 80 bzw. 100 Tagen waren jedoch keine Follikel mehr vorhanden. Corpora lutea waren noch erhalten (Abb. 2).

Myleran schädigt, wie das schon von anderen Mitosegiften, wie Nitrogen Mustard und Triäthylenmelamin, bekannt ist, ausser der Hämatopoese auch die sich in intensiver Proliferation befindenden Keimdrüsen.

W. BOLLAG

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 9. März 1953.

Summary

Male and female albino rats were treated with Myleran ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_2\text{CH}_3$). Particular attention was paid to the histological examinations of the gonads of these animals. The testes as well as the ovaries were badly damaged. The male germinal epithelium was completely destroyed. Oocytes and follicles were no longer present in the ovaries.

Tests Used in the Localization of Cerebral Function in Trained Monkeys

Introduction.—A decisive advance in the study of cerebral localisation was made in the important pioneer work done by FRITSCH and HITZIG¹ (Fig. 1) and by

¹ A. HADDOW und G. M. TIMMIS, Lancet I, 207 (1953).

² D. A. G. GALTON, Lancet I, 208 (1953).

³ W. BOLLAG (1953, im Druck).

¹ G. FRITSCH und E. HITZIG, Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. 37, 300 (1870).

FERRIER¹. Until that time it had been assumed that the cerebral cortex could not be electrically stimulated and that its functions were purely mental. Even eminent men working on brain research, such as FLOURENS², had regarded the hemispheres as the seat of the will and of the emotions, not directly concerned in originating muscle movements. After cerebral ablations FLOURENS found that the animals had no urge to move and were apparently asleep, but when he threw a bird in the air it was still able to fly. He reached his conclusions mainly in the course of experiments on the dove brain, which was natural enough, since the organisation of the bird brain differs vastly from that of mammals.

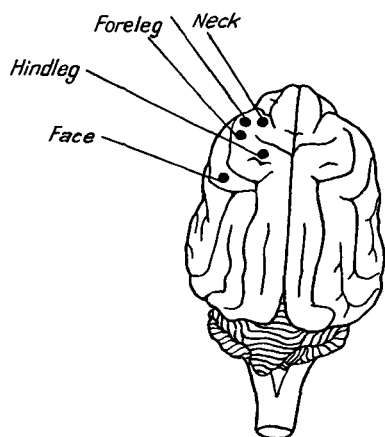


Fig. 1.—Illustration of the first cortical motor foci found after electrical stimulation. (Tracing of an original drawing in the paper by FRITSCH and HITZIG, 1870.)

The classical studies of FRITSCH, HITZIG, and FERRIER marked the beginning of modern brain research, and terms such as "brain centres" were introduced by the first two workers. There are still differing opinions about whether motor and sensory functions are focal, that is whether they can be accurately localized, or whether they overlap to any extent. There can be no doubt that since the time of FRITSCH, HITZIG, and FERRIER the use of the term "motor cortex" has proved justified. However, we do not yet know whether this motor cortex, by some mosaic-like arrangement, initiates individual muscle contractions or whole movement patterns, leaving the detailed execution of the movements to lower levels such as the spinal cord.

We found in our monkey experiments (GLEES and COLE³) that there is little probability of a very rigid localisation within the motor cortex, for our study of the recovery of motor function showed that motor power and skill were regained even after relatively severe damage to the motor cortex.

Our more recent work on the sensory cortex has also shown that there is very considerable interrelation between the motor and sensory cortices. The sensory cortex, lying immediately posterior to the motor cortex, transmits to it the sensory signals required for any specific movement. We also observed that damage to the sensory cortex will produce motor defects and that

damage to the motor cortex will reduce the coordination of the musculature. The close interrelation between these two major convolutions was apparent from the results of our new tests for motor and sensory function, which we feel would interest a wider circle of readers through the pages of this journal.

Observations.—Although it is comparatively easy to recognize evidence of sensory impairment in man, in animals this is possible only after a long period of careful training before operation. A human being can describe his symptoms to the doctor, whereas an animal's defects are not evident except through tests.



Fig. 2.—Monkey (*M. nemestrina*) doing the match box drawer test. Index finger and thumb are mostly used for this test. Note the weights fastened to the drawer.

With our match box drawer test (GLEES and COLE¹) it is possible to make a quantitative assessment of motor power in the hand (Fig. 2). We found that motor lesions cause a certain clumsiness in the movement of the fingers which still remains after full recovery of motor power. To measure the extent of this clumsiness we constructed a simple apparatus (the dexterity board) and tests with this produced clear and constant results. However, only the simplest tests will give good results, for the more complicated ones confuse the monkey, and overstraining sometimes gives rise to frustration and other neurotic signs which many last for a considerable time.

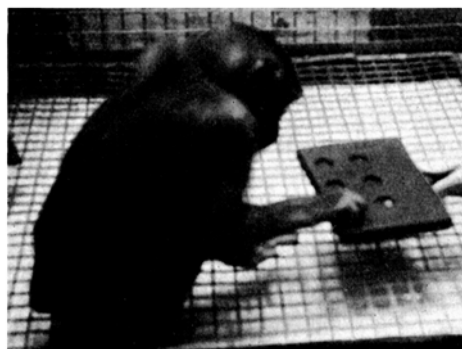


Fig. 3.—Monkey (*M. nemestrina*) being tested for dexterity.

The apparatus for measuring dexterity consists of a board with a handle. On one side are six round hollows and on the other twelve (Fig. 3). In each hollow is placed an equally large piece of apple or carrot which the monkey has to pick up with thumb and fingers; the test is made either with the side containing six hollows or

¹ D. FERRIER, *The Functions of the Brain* (Smith Elder, London, 1876).

² P. FLOURENS, *Recherches expérimentales sur les Propriétés et les Fonctions du Système nerveux dans les Animaux vertébrés* (Crevot, Paris, 1842).

³ P. GLEES and J. COLE, *J. Neurophysiol.* 13, 137 (1950); *Die Umschau* 3, 83 (1952).

¹ P. GLEES and J. COLE, *Arch. Psychiat. Z. Neurol.* 188, 440 (1952).

with that containing twelve. The time the monkey takes to pick up either six or twelve pieces of apple or carrot is recorded.

A complete test consists of ten runs, two given each day for five consecutive days. The times recorded are then added up and divided by 10 to give an average. Tests with the dexterity board have proved to be not only a very accurate method of measuring handedness and skill (both before and after brain operations), they also show up individual differences in normal monkeys of the same age and of the same or different species. Our Table shows the results obtained from four intact and one operated monkey. We found that the average time taken by the intact monkeys in 10 complete tests varied by 0·7 seconds; the operated monkey was tested 7 months after a brain operation and 5 months after motor power had reached pre-operative level.

Table
The average time in seconds taken in 10 complete tests

Animal	6 baits	12 baits
Monkey 1 . . .	4·3	9·5
Baboon 1 . . .	4·6	10·1
Monkey 2 . . .	4·8	10·6
Baboon 2 . . .	5·0	12·3
Operated monkey	9·1	19·0

Our tests gave evidence of a decrease in dexterity and skill in the use of the fingers and the thumb and showed that the result of lesions in the motor cortex is not confined to motor power but also influences handedness and the coordination of the fingers¹.

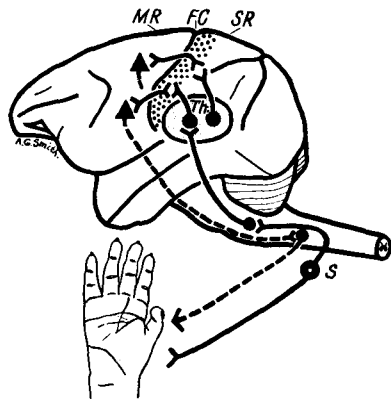


Fig. 4.—Diagrammatic representation of the connections between the receptive sense organs in the hand and the sensory cortex. Fibres from the sensory cortex pass to the motor cortex and from there the descending pyramidal tract, after relaying, leads to the anterior horn cells which innervate the muscles of the arm and hand. *Th* = thalamus; *S* = spinal ganglion; *SR* = sensory cortex; *MR* = motor cortex; *FC* = central fissure.

Recently we have extended the scope of our work to include the neighbouring sensory cortex (COLE and GLEES²). The diagram shown in Figure 4 illustrates how sensory stimuli of the hand reach the sensory cortex via the spinal ganglion cells after relaying through the

medulla into the thalamus. From there the sensory stimuli reach the sensory cortex (dotted in the diagram). The connections between the sensory and the motor cortex are the means by which the motor cortex receives information from superficial (cutaneous) and deeply situated receptors, whereupon it sends motor signals along descending fibre tracts to direct the musculature of the arm and hand.

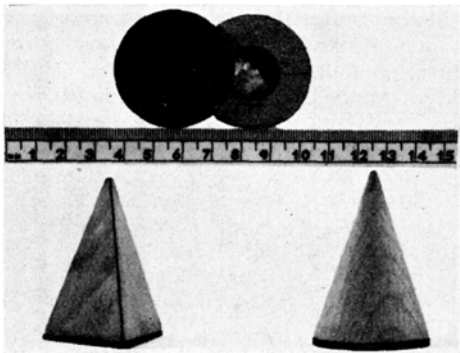


Fig. 5.—The pyramid and cone used in the test for stereognosis.

The dexterity board proved very useful in this work, although a new test had to be evolved in which visual attention played no part. We had found in previous tests that certain defects were masked by visual attention, that is that the use of the eyes can compensate for loss of sensory coordination.

In the new test the monkey had to pick out an object from a leather bag. The objects were a pyramid and a cone, each having a hollow in the base covered by a metallid, and a wedge. The bait was enclosed in the hollow (Fig. 5). The animal was first trained to discriminate between the objects visually, then two of them, usually the pyramid and the cone, were placed in the leather bag, one only being baited. The monkey extended his arm into the bag and had to discriminate between the two objects by touch (Fig. 6). This we termed the test for stereognosis or discrimination of 3-dimensional objects by touch.

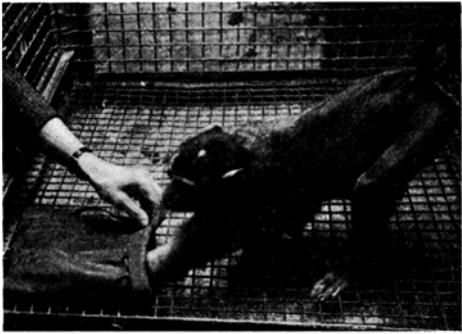


Fig. 6.—Monkey (*M. nemestrina*) discriminating by touch between the pyramid and cone in the leather bag.

After lesions in the sensory cortex monkeys lose the ability to discriminate between the cone and the pyramid, but recovery of this function usually begins after 14 days have elapsed.

So far we have found that only one particular type of Macaque (*Macaca nemestrina*) can be trained to do this test and even young animals below 3·5 kg in weight are not suitable subjects, while those who are over 7 kg

¹ See an article in *Handedness in Monkeys* by COLE and GLEES, *Exper.* 7, 224 (1951).

² J. COLE and P. GLEES, *J. Physiol.* 115, 15 P (1951).

are much more difficult to train. However, the other tests, such as the match box drawer test, were learned without any difficulty by *Macaca nemestrina*, *Macaca mulatta*, as well as by *Erythrocebus patas* and, of the baboons, by *Papio papio* and *Papio strepitus*.

These tests have been fully described by COLE¹. They have also been filmed by Professor LIDDELL and our thanks are due to him for this permanent record of the testing process.

Discussion.—This work has some connection with clinical neurology and the information gathered by PENFIELD and RASMUSSEN² in their important book *The Cerebral Cortex of Man* was of great interest to us. Having electrically stimulated the motor and sensory cortices of unanaesthetised man, these authors came to the conclusion that the motor cortex and the sensory cortex partly overlap and that the functions of the two cortices are not as independent as has been maintained in the classical brain physiology.

The interrelation between sensory and motor cortex was already recognized by FLECHSIG in his myelogenetic studies, but the fact attracted little attention at the time. Now, the existence of this interaction is more widely accepted and the term "sensorimotor cortex" introduced by DUSSER DE BARENNE and McCULLOCH³, is used to cover the functions of both cortices. Our experiments have given definite evidence of the intimate connection which must exist between motor and sensory function. We have found that lesions in the sensory cortex produce not only loss of sensory abilities but also motor defects as revealed by our tests.

J. COLE and P. GLEES

University Laboratory of Physiology, Oxford, February 28, 1953.

Zusammenfassung

In Testversuchen an Affen wird durch quantitative Feststellung der motorischen Kraft, durch den Geschicklichkeitstest und den Test für Stereognosis (für sensorische Funktion) gezeigt, dass weitgehendste Funktionswiederherstellung nach Läsionen in der motorischen oder sensorischen Rinde möglich ist. Daher lässt sich die Vorstellung einer Mosaikstruktur der motorischen oder sensorischen Rinde für die Funktionswiederherstellung nach Hirnläsion nicht anwenden. Intakte Unterabteilungen der motorischen oder sensorischen Rinde können die zuerst auftretenden Funktionsausfälle kompensieren. Weiterhin zeigen diese Versuche, dass die funktionelle und anatomische Verbindung zwischen motorischer und sensorischer Rinde sehr stark ist. Ohne Zweifel kommen der motorischen Rinde gewisse sensorische Funktionen zu (Geschicklichkeitstest). Sensorische Rindenläsionen ergeben eine zeitweilige Herabsetzung der motorischen Kraft. Die Auffassungen von DUSSER DE BARENNE, McCULLOCH (1936), PENFIELD und RASMUSSEN (1950), die von einer sensorimotorischen Rinde sprechen, werden durch die Versuche an trainierten Affen gestützt.

¹ J. COLE, J. comp. Physiol. Psychol. 45, 226 (1952).

² W. PENFIELD and T. RASMUSSEN, *The Cerebral Cortex of Man* (Macmillan Co., New York, 1950).

³ J. G. DUSSER DE BARENNE and W. S. McCULLOCH, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 35, 329 (1936).

PRO LABORATORIO

Die quantitative Bestimmung des Aminostickstoffs

Nachdem von BODE, HÜBENER, BRÜCKNER und HOERES¹ gezeigt wurde, dass bei der Überführung von ninhydringefärbten Aminosäuren in einen Metallfarbstoff dieser zur quantitativen Bestimmung besser geeignet ist als die Ninhydrinreaktion allein und dass bei dieser Methode die meisten Aminosäuren sowie das Tripeptid Glutathion die gleiche molare Extinktion besitzen, lag es nahe, das Verfahren auch zur Bestimmung des Amino-N zu benutzen.

Zu diesem Zweck wurden Aminosäuren in molarer Lösung bei pH 6,5 mit einer 1 %-Ninhydrinlösung in 50 % Äthanol gekocht und dann die blaue Ninhydrinfarbe mit Kupfernitrat in den roten Metallfarbstoff verwandelt. Die Kupferlösung wurde von KAWERAU und WIELAND² zur Konservierung von ninhydringefärbten Chromatogrammen angegeben. Die einzelnen Aminosäuren haben so meist gleiche molare Extinktion, ein Befund, den wir ja bereits bei der papierchromatographischen Untersuchung erhoben hatten¹.

Wenn wir Urin in der gleichen Weise behandelten, um den Aminostickstoff zu bestimmen, zeigte es sich jedoch, dass die Werte der einzelnen Urinproben sehr grosse Schwankungen aufweisen. Die Erklärung hierfür ist darin zu suchen, dass im Harn Substanzen vorhanden sind, die die Reaktion stören. Einer dieser Stoffe ist der Harnstoff. Bringt man nämlich Harnstoff in die molaren Aminosäurelösungen, so ergeben sich ungleichmässige Werte.

Es wäre nun möglich, durch geeignete Massnahmen den Harnstoff aus dem Urin zu entfernen, jedoch würde durch diese Manipulationen das Verfahren kompliziert. Es lag daher nahe, die papierchromatographische Trennung der Harnsubstanzen zu benutzen, um die störende Wirkung des Harnstoffs und eventuell anderer Substanzen auszuschalten. Diese Überlegung führte zum Ziel.

Bei Personen, die ähnlichen Ernährungsbedingungen unterworfen sind und keinerlei diuretisch wirksame Stoffe, wie zum Beispiel Koffein, zu sich nehmen, bewegt sich der Aminostickstoffgehalt des Harnes in engen Grenzen, wenn man den Urin nach dem Frühstück untersucht. Dazu verfahren wir folgendermassen:

Auf Chromatographiepapier (etwa Schleicher und Schüll Nr. 2043 b) tragen wir 30 mm³ Harn auf und entwickeln das Chromatogramm in einem Gemisch von Butanol, Wasser und Eisessig. Nach gründlichem Trocknen besprühen wir von beiden Seiten mit einer 0,5prozentigen Lösung von Ninhydrin in mit Wasser gesättigtem Butanol und lassen die Ninhydrinreaktion bei 80–100°C im Thermostaten während 20 min zustande kommen. Danach besprühen wir das Chromatogramm mit der Kupfernitratlösung (1 cm³ einer gesättigten Kupfernitratlösung wird mit 0,2 cm³ 10prozentiger Salpetersäure versetzt und mit 95prozentigem Äthanol auf 100 aufgefüllt). Dann wird bei Zimmertemperatur getrocknet. Die unterschiedlichen Farbtöne der Ninhydrinfärbung sind dabei in ein gleichmässiges Rot umgeschlagen.

Nun zerschneidet man einfach den ganzen Chromatographiestreifen und schüttelt den Farbstoff mit Methanol aus. Das Eluat wird gegen dasjenige eines Leer-

¹ F. BODE, H. J. HÜBENER, H. BRÜCKNER und K. HOERES, Naturwissenschaften 39, 524 (1952).

² E. KAWERAU und Th. WIELAND, Nature 168, 4263 (1951).